

ORVOSTUDOMÁNY ÉS ALKALMAZOTT TERMÉSZETTUDOMÁNY

LEKTORÁLTA: DR. FEKETE BÉLA

DR. FARKAS ANDRÁS

Tartalomjegyzék:

DR. BENCZE BÁLINT: GYÓGYNÖVÉNY-ALAPÚ SZÁJVÍZ ALKALMAZÁSI LEHETŐSÉGEI A FOGÁSZATI PREVENCIÓBAN - PTE ÁOK GYÓGYSZERTUDOMÁNYOK DOKTORI ISKOLA.....	228
MEGGYESHÁZI NÓRA: A MODULÁLT ELEKTROHIPERTERMIA (MEHT) TRAIL-R2-ON KÖZVETÍTETT PROGRAMOZOTT SEJTHALÁLT OKOZ HT29 VASTAGBÉLRÁK XENOGRAFTBAN - SEMMELWEIS EGYETEM PATOLÓGIAI TUDOMÁNYOK DOKTORI ISKOLA	239
DR. TRÁJER ATTILA JÁNOS – BEDE-FAZEKAS ÁKOS: EURÓPAI LEPKESZÚNYOG FAJOK POTENCIÁLIS ELTERJEDÉSE A 21. SZÁZADBAN - SEMMELWEIS EGYETEM, PATOLÓGIAI TUDOMÁNYOK DOKTORI ISKOLA - BUDAPESTI CORVINUS EGYETEM, TÁJÉPÍTÉSZETI ÉS TÁJÖKOLÓGIAI DOKTORI ISKOLA	243
DR. KORMOS TIMEA: ÁLDOZATOK ÉS TETTESEK AZONOSÍTÁSA FOGAZATUK ALAPJÁN - PTE - EGÉSZSÉGTUDOMÁNYI DOKTORI ISKOLA.....	250
BODNÁR ISTVÁN: VEGYIPARI HULLADÉKOK TERMIKUS ÁRTALMATLANÍTÁSÁNAK VIZSGÁLATA ÉS AZ OPTIMÁLIS TECHNOLÓGIA KIVÁLASZTÁSÁT ELŐSEGÍTŐ MÓDSZER BEMUTATÁSA - MISKOLCI EGYETEM, SÁLYI ISTVÁN GÉPÉSZETI TUDOMÁNYOK DOKTORI ISKOLA	255
MAGDA BALÁZS: A SZEMÉLYRE SZABOTT GYÓGYSZERES TERÁPIA KIALAKÍTÁSÁT SEGÍTŐ TANDEM TÖMEGSPEKTROMETRIÁS ALKALMAZÁSOK - ELTE-TTK KÉMIA DOKTORI ISKOLA/MTA-TTK, SZKI, LC-MS LABORATÓRIUM	264

1. BEVEZETÉS, CÉLKITŰZÉS

Felismerve a természetesség egyre növekvő és reneszánszát élő társadalmi elvárását, és látva a fogászati területen a piaci hiányt, egy fogászati prevenció termék készítésébe kezdtünk, melynek irodalmi múltja, megtervezése, összeállítása és hatásosságának bizonyítása jelen munka témája és célja. Egy természetes alapú szájvíz készítése volt a kíváncsi, mely mindenféle kémiai ágenstől mentes, és amelyet a mindennapos fogászati prevencióban használni lehet, alternatívát adva a fogyasztóknak a szintetikus alapú termékekkel szemben, ezzel is csökkentve a szervezetünket érő mindennapos vegyszerezexpozíciót. Ezekkel a célokkal munkánk a természetességre irányuló törekvések mögé sorakozik, a fogászatban talán egyedülálló, de legalábbis újító módon.

Bevezető kutatásaink során felmértük a hazai szájvízpiacot, mely palettából 19 szájöblítő szert választottunk ki. Ezek közül mindegyikben találtunk adalék-, vivő-, segéd-, és festőanyagokat. A gyógynövényes (legalábbis annak reklámozott) szájvizekben is az utolsó helyeken szerepelnek (tehát legkisebb mennyiségben találhatók) a növényi kivonatok. Mindez valóban szükségessé tette egy teljesen természetes szájápolási alternatíva létrehozását.

2. MÓDSZERTAN

2.1 A drogkeverék összeállításáról

Az irodalmi bevezető kutatásainkat egészen a középkori szerzőkig vezettük vissza. Mind az évszázados népgyógyászati tapasztalatokat, mind a modern monográfiákat, publikációkat figyelembe vettük. (Csapó József: Új füves és virágos magyar kert; Debrecen, 1775; Prabuseenivasan et al, 2006, *In vitro antibacterial activity of some plant essential oils*; további források az irodalomjegyzékben.)

Az irodalmi adatok és saját felhasználási tapasztalatok alapján a következő drogkeverékeket állítottuk össze (az összetevők mennyiségi sorrendben állnak, a legnagyobb tömegarányúval kezdve):

Rp.

Bodzavirág	Sambuci flos
Fehér mályva levél	Althaeae officinalis folium
Körömvirág szirmolevél	Calendulae officinalis flos
Diólevél	Juglandis regia folium
Hársfa virág	Tiliae flos
Anizs mag	Anisi fructus

Adjuvált illóolajok:

1000x hígításban, a szűrt tinktúrába oltva:

Fahéj (Aetheroleum cinnamomi):	4 rész
Szegfűszeg (Ae. caryophylli):	4r.
Indiai citromfű (Ae. cymbopogon citrati):	1r.

A drogok a Herbária termékcsaládból származtak, igazolt hatóanyagtartalommal, az illóolajok AROMAX® termékek voltak: 99% tisztaságú, természetes eredetű illóolaj tartalommal.

A kivonat elkészítése során a kiválogatott drogokat adott arányban összekevertük, a keverékből kimértünk 40gr-ot, 1 liter 40%-os etanolt öntöttünk rá. Az extractumot átmozgattuk, hogy légtelenné váljék és átnedvesedjen. A sötét tartályt légmentesen zárva 3 napig szobahőmérsékleten tároltuk. Naponta 30 percig 40°C-os ultrahangos vízfürdőben ráztattuk. A 3. napon a felülúszót dekantáltuk, a drogot enyhén kipréseltük. A még növényi maradványoktól nem mentes oldatot vákuumszűrés után centrifugáltuk: 30 percen keresztül 3000-es fordulatszámon. A felülúszót dekantáltuk. Ezután az illóolajokat adjuváltuk a megtisztított extractumhoz, a megadott arány szerint.

Az így elkészült szájvíz minden további vizsgálat alapja.

2.2 A szárazanyag tartalom meghatározása

A szájvíz szárazanyag-tartalmát vákuumbepárlással határoztuk meg Laborota 4000 készülékkel. A bepárlást 50ml kiindulási oldattal kezdtük, melyet 30rpm fordulaton, 49°C-on végeztünk, addig, amíg

teljesen száraz párlatot nem kaptunk. Ekkor a bepárló lombik kiindulási tömegét levonva a bepárlás utáni tömegből, megkaptuk az 50ml-re vonatkozó szárazanyag-tartalmat.

2.3 A szájvíz pH-jának mérése

A pH mérés célja annak eldöntése, hogy alkalmasak-e a szájvíz mindennapos használatra; meghaladja-e a fogzománc kritikus oldódási pH-ját (kb. 5,2-5,4).

A pH mérés kombinált indikátor papírral történt, melynek felbontása 0,5 pH egység volt. Kontrollként az oldószert (40%-os etanol) és kereskedelmi forgalomban lévő szájvizeket használtunk, melyek a következők voltak: Cserszömörccs szájvíz®, Corsodyl®, Elmex®, Elmex erosio ellen®, Listerine®, Meridol®, Parodontax®, Sensodyne®.

2.4 A sterilitási leoltásokról

A felhasználás szempontjából elengedhetetlen az oldat sterilitása, ezért kéthavonta, összesen már hatszor a következő táptalajokra végeztünk leoltást: agar, véres agar, csokoládé agar, vancomycines csokoládé agar, EMB - eozin metilénkék agar, Sabouraud-féle gomba agar.

Mindegyik fajta táptalajra egy alkalommal 3-3 leoltás készült (18/alkalom, összesen 98). A szájvíz 100μl-ét cseppentettük a steril táptalajokra, egyenletesen szélesztve 30°C-on inkubáltuk ezeket négy napon keresztül, napi kontroll mellett.

2.5 A korongdiffúziós módszer

A vizsgálat célja a szájvíz szaporodásgátló hatásának megismerése volt *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus sanguis*, *Escherichia coli* baktériumokon.

A Mueller-Hinton levesből készülő táptalajokra a nevezett baktériumokat oltottuk, egységesen 20μl-t, 10⁵ cfu/ml (colony forming unit/ml) csíraszám sűrűségben. A leoltott táptalajokra papírkorongokat helyeztünk, ezekre vittük fel a szájvizet és annak hígítási sorát (2x, 4x, 8x-os hígítások 40%-os etanollal) 50μl mennyiségben. Kontrollként ugyanekkora mennyiségben hígítatlan Corsodyl® (0,2% klórhexidin tartalommal), Cserszömörccs szájvizet és 40%-os alkoholt használtam, utóbbi a szájvíz oldószereinek felel meg. Az illóolajok párolgását figyelembe véve a petricsészéket parafilmmel leragasztottuk. Az előkészítés után 30°C-on 48 óráig inkubáltam a tenyészeteket.

2.6 A csőhígításos módszer

Csőhígításos módszer során egy folyékony közegben való bakteriális szaporodást vizsgáltunk, amivel a szájmiliót jobban lehet modellezni. A kísérlet célja a baktériumtenyésztéssel beoltott, és a szájvíz hígítási sorával, valamint kontrollokkal kezelt bouillonok optikai denzitás változásának nyomonkövetése 5 napos követéses vizsgálat során.

A tesztbaktériumok *Staphylococcus aureus* és *Lactobacillus plantarum* törzsek voltak. Ezek 60μl-ét 7ml adekvát bouillonba oltottuk (*Staphylococcus aureus* - Mueller-Hinton leves; *Lactobacillus plantarum* - Rogosa táptalaj), amihez 1ml szájvizet, vagy annak hígítási sorát adtuk, illetve kontrollként 40%-os etanolt, és desztillált vizet használtunk.

Az optikai denzitás mérést Perkin-Elmer fotométerrel végeztük 600nm-en, 24 órás intervallumokban. A denzitásmérés viszonyítási alapja a mérések során egy beoltatlan táptalaj (bouillon): Az értékelés során az első, nulla időpontban mért értékhez viszonyítottuk a kapott eredményeket (mivel a szájvíz optikai denzitása nem nulla) így a szaporodási hányadost kaptuk a kiindulási értékhez képest, amit grafikusan ábrázoltunk.

2.7 Az antifungális kísérletek

A kísérlet során a száj legáltalánosabb gombás fertőzőjét, a *Candida albicans*-t vizsgáltam csőhígításos méréssel, a cél a szaporodásának megfigyelése volt a szájvíz jelenlétében. A *Candida* glükóz jelenlétében „gombamód” szaporodik, ezért a gomba táptalajom cukrot tartalmazó Sabouraud-féle gomba agar volt, valamint cukor nélküli kontroll.

A vizsgálati anyagokat így állítottuk össze:

1. 6ml cukrot tartalmazó Sabouraud-féle gomba agar
2. 6ml cukor nélküli Sabouraud-féle gomba agar
3. 6ml cukor nélküli Sabouraud-féle gomba agar + 1ml szájvíz
4. 6ml cukrot tartalmazó Sabouraud-féle gomba agar + 1ml szájvíz + 60μl *Candida albicans* (OD=0,4) mindegyik bouillonhoz.

A 32 órás vizsgálati periódus alatt öt mérést végeztünk denzitométeren.

Az antibakteriális és antifungális mérések után Sabouraud-féle gomba agar való kioltással győződünk meg a kísérletek kontamináció mentességéről.

2.8 A baktericid hatásról

Jelen vizsgálat célja az azonnali baktériumölő hatás kimutatása volt, ez a Viabilitás teszt. A szájvíz hígítási sorát adtuk hozzá a három vizsgált baktérium törzshöz: *Staphylococcus aureus*, *Lactobacillus plantarum*, *Streptococcus sanguis*.

A baktérium tenyészeteket PBS-el empirikus úton a következő arányban hígítottuk:

- ❖ *Staphylococcus aureus*: 100X, 10 µl baktérium + 1 ml PBS.
- ❖ *Lactobacillus plantarum*: 100X, 10 µl baktérium + 1 ml PBS.
- ❖ *Streptococcus sanguis*: 2X, 100 µl baktérium + 100 µl PBS.

Ezekből a tenyészetekből 100 µl-t kimérve, az oldatok hígítási sorának, az etanol kontrollnak 30 µl-ét és PBS-ből ugyanennyit adtunk hozzá. Összesen 160 µl ilyen keverékhez adjuváltunk 10 µl propidium-jodidot 0,2 mg/ml koncentrációban. 5 perc inkubációs idő után tárgylemezre cseppentve a keverékből vizsgálható a baktericid hatás. Ezt invert fluoreszcens mikroszkóppal (Opton Axiovert 35, 40X-es objektívvel) vizsgáltuk: A propidium-jodid festékanyag az elhalt baktérium DNS-hez kötődve pirosan világít UV fényben, ez az értékelés szempontja. A dokumentáció Olympus digitális kamerával és képelemző szoftverrel történt.

2.9 A nyálfehérjékre való hatásokról

A kísérlet célja annak kiderítése, hogy a szájvíz a nyálfehérjékben okoz-e valamilyen elváltozást.

A nyálminta-vétel standard körülmények között történt: Reggel, éhgyomorra desztillált vízzel kellett öblögetni háromszor, alaposan. Ezután 15 perc múlva kezdődött a nyálgyűjtés steril tartályokba, 10 ml mennyiségig. A nyálmintát 1500 g-vel 10 percig centrifugáltuk és a felülúszóból 1 mol/l NaOH-val hígításokat készítettünk, majd Bradford szerinti (**Bradford MM.**, 1976) festékkötési reakcióval fehérje meghatározást végeztünk. Standardként bovin szérum albumint használtunk, melyet szintén 1 mol/l NaOH oldatban készítettünk el (20 – 100 mg/l tartományban). Azt a nyálhígítást használtuk a méréshez, melynek abszorbanciája a kalibrációs egyenes lineáris szakaszára esett. A centrifugált nyálat a tinktúrák hígítási sorával kezeltük, valamint kontrollokkal: cserszőmörccs szájvízzel, 40%-os etanollal, PBS sóoldattal. Az arány 1:3 = vizsgálandó minta:előkezelt nyál volt. Inkubáció és előkészítés után SDS-poliakrilamid gélelektroforézist végeztünk Laemmli módszerével (**Laemmli UK.**, 1970), ennek eredményét pedig egy kombinált ezüst festéssel tettük láthatóvá (**Willoughby EW, Lambert A.** 1983).

2.10 A flavonoid tartalom vizsgálatáról (Bor és mtsai, 1995)

A vizsgálat célja a citoprotektív flavonoidtartalom relatíve meghatározása, a flavonoidok lehetséges azonosítása, számuk meghatározása volt vékonyréteg-kromatográfiás vizsgálattal (TLC – Thin Layer Chromatography).

A vizsgálathoz szilikagél (Merck 60F₂₅₄) lemezen kijelöltük a felcseppentési helyeket, és a kifejlesztés tervezett távolságát (80 mm).

A felcseppentések megkezdése előtt a kromatografáló kamrába (12×4×12 cm belső átmérőjű) etil-acetát:hangyasav:jégecet:víz 100:11:11:27 arányú elegyből 20 ml-t öntöttünk. A kamrát a réteg-kifejlesztés előtt 20 percen át telítettük az oldószergőzzel. A vizsgálandó mintákat (gyári standard flavonoid keverék és szájvíz) 20×10 cm-es szilikagél abszorbensű vékonyréteg-kromatografáló lapra osztott jelű üvegkapillárisal cseppentettük fel. Az extraktumot két mennyiségben vizsgáltuk: 10 µl és 5 µl volt a felviteli térfogat. A felcseppentés során a megadott mintatérfogatokat több kicsi részletben juttattuk az abszorbens felületére. A mintafelvételt időközönként megszakítva, levegő fúvatásával (szárítás) végeztük.

A mintafelvitelt követően a réteglapot a kromatografáló kamrába tettük. Amikor az oldószerelegy elérte az előzetesen kijelölt távolságot, akkor a réteglapot a kamrából kiemeltük, utána szobahőmérsékleten megszárazítottuk.

Az így megszáradt réteglapot Naturstoff-polietilénlikol-előhívó oldattal, elszívófülke alatt egyenletesen bepermeteztük. Ezt követően a réteglapot újra szobahőmérsékleten szárítottuk, majd 105°C-os szárítószekrénybe téve 5 percig hevítettük.

Értékelés:

1) *Vizuális értékelés és/vagy azonosítás*

A vizsgálandó oldat kromatogramjának foltjait egyenként – szín, méret és retenciós faktor (*R_f*) alapján – vizuálisan összehasonlítottuk a standardot tartalmazó kromatogram megfelelő foltjával (hiperozid, klorogénsav, rutin).

2) *UV fény alatti értékelés:*

A kromatogramot 365nm hullámhosszúságú UV-fényben elemeztük. A kromatogram kiértékelése az elválasztott foltok fluoreszcenciája alapján történt KODAK Image Station 2000R denzitometriás rendszerrel. A fényképezést UV fényben digitális kamerával végeztük.

2.11 Bioautográfia

Bioautográfia vizsgálataink során a vizsgálandó mintákat 5×10 cm-es Merck 60F₂₅₄ szilikagélre cseppentettük fel, üvekapillárisal és Hamilton tűvel. A felcseppentés során a megadott mintatérfogatokat több kicsi részletben juttattuk az abszorbens felületére. A mintafelvételt időközönként megszakítva, levegő fúvatásával (szárítás) végeztük. A felviteli térfogatok a szájvizünk esetén 10-15-20-25µl, a kontrollok esetén 1-3-5-10µl voltak. Baktériumok vizsgálata esetén vancomycint, gombák vizsgálata során amphotericin B-t használtunk kontrollnak. A lemezeket ezután baktérium/gombaszuszpenzióba merítettük. A baktériumsuszpenziók optikai denzitását OD=0,5, a gombaszuszpenziók OD=0,4 (600nm-en, Perkin-Elmers fotométerrel) értékre állítottuk be. A merítés 10s-ig zajlott, a lemezeket légfúvatással enyhén megszáritottuk, majd 12 órán keresztül páraaknában törzstől függően 30/37°C-on inkubáltuk őket. Az MTT (3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide, egy sárga tetrazolid) festéket 0,05g/80ml desztillált víz koncentrációban készítettük el, ebbe az oldatba 10s-ig merítettük az inkubált lemezeket, majd újra enyhén megszáritottuk. A megfestett lemezeket 30/37°C-on tovább inkubáltuk 4 órán keresztül, majd a gátlási zónákat tolómérővel lemértük.

A szájvíz összes szárazanyag-tartalma 19,1 mg/ml, ez 25µl-es felvitelnél 0,4775mg, 20µl-es felvitelnél 0,382mg, 15µl-es felvitelnél 0,2865mg, 10µl-es felvitelnél 0,191mg, 5µl-es felvitelnél 0,0955mg. A vancomycin és az amphotericin B 1mg/ml töménységűre lett beállítva. Ez 1µl-es felvitelnél 0,001mg, 3µl-es felvitelnél 0,003mg, 5µl-es felvitelnél 0,005mg tiszta hatóanyag-tartalom. A szájvíz szárazanyag-tartalma nem egyenlő annak antibakteriális hatóanyag-tartalmával!

2.11.1 Először a gyógynövény-alapú szájvizünk antibakteriális hatását hasonlítottuk össze egyéb, szintetikus hatóanyagú, kereskedelmi forgalomban kapható szájvizek hasonló hatásaival. Ezek a következők voltak: Corsodyl®, Elmex®, Elmex erosio ellen®, Elmex Sensitive®, Meridol®, Parodontax®, Sensodyne®. A mintafelvétel a leírt módon, 10-10µl mennyiségben történt. A kereskedelmi szájvizeket a használati utasítás szerint, hígítatlanul használtuk fel. A felcseppentett mintákat *Staphylococcus aureus* szuszpenzióba (OD=0,5) merítettük, az inkubáció 30°C-on, a festés és az értékelés a leírtak szerint zajlott.

2.11.2 Gyógynövényes szájvizünk szélesebb spektrumú antibakteriális vizsgálata során *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus sanguis*, *Lactobacillus plantarum* törzseket használtunk vancomycin (1mg/ml) kontrollhoz viszonyítva. A felviteli mennyiségek a szájvíznél 5-10-15µl, a vancomycin kontrollnál 1-3-5µl. Az inkubáció 37°C-on történt *Staphylococcus aureus* és *Streptococcus sanguis* esetén, a *Lactobacillus plantarum* törzset 30°C-on inkubáltuk. Merítéskor a szuszpenziók optikai denzitása OD=0,5 értékű volt. A festés és értékelés a leírtak szerint történt.

2.11.3 A természetes szájvíz fungicid hatását orálpatógén *Candida* fajokon vizsgáltuk, Amphotericin B kontroll (1mg/ml) mellett. A vizsgált fajok *Candida albicans*, *C. glabrata*, *C. Krusei*, *C. parapsylosis* voltak. A felviteli mennyiségek a szájvíznél 15-20-25µl, az amphotericin B kontroll 1-3-5µl. A szuszpenziók optikai denzitása OD=0,4 értékre lett beállítva. A merítés, az azt követő inkubáció és a festés a leírtak szerint zajlott, a festés utáni inkubációt viszont 24 órán keresztül végeztük. Az inkubáció mindvégig 30°C-on történt. A gátlási zónákat szintén tolómérővel mértük le.

3. EREDMÉNYEK

3.1 A szájvíz szárazanyag-tartalmának meghatározása

Az 50ml szájvíz vákuumbepárlása után kapott tömegkülönbség 0,955g. Ebből meghatározva az összes szárazanyag -tartalom 19,1 mg/ml.

3.2 A pH mérés eredménye

A szájvíz és kontrolljaim pH-jára a következő értékeket mértem kombinált indikátor papírral, melyeket az **1. táblázatban** foglaltam össze:

Szájvíz és kontrollok	pH
Saját gyógynövényes szájvíz	5,5
40%-os etanol	6
Cserszőmörccés szájvíz®	4
Corsodyl®	6,5
Elmex®	6,5
Elmex erosio ellen®	5,5
Listerine®	4,5
Meridol®	6
Parodontax®	6
Sensodyne®	6,5

1. táblázat

A szájvíz és a kontrollok pH értékeinek összehasonlítása

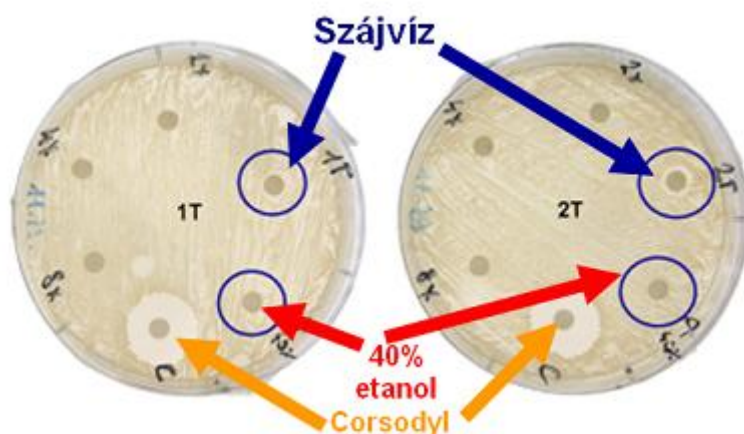
Ez az eredmény meghaladja a fogzománc kritikus oldékonysági határát (pH=5,2-5,4), ezért a készítményünk e tekintetben (is) biztonsággal alkalmazható a mindennapokban. A kontrollok közül a Cserszőmörccés szájvíz® és meglepően a Listerine® nem érte el a kritikus pH= 5,2-5,4 értéket.

3.3 A sterilítási leoltások eredményei

A táptalajok értékelése a négy inkubálási nap alatt naponta történt. A szájvíz az elkészülte óta eltelt közel egy év alatt, hűtőben, 4°C-on tartva megtartotta sterilitását, a leoltásokban semmilyen bakteriális vagy gombás szaporulat nem jelent meg, élő mikroorganizmust nem tudtunk kitenyészteni. Habár az eltelt év folyamán a tárolóedénybe többször belenyúltunk, mintát vettünk, kontaminálódás mégsem figyelhető meg.

3.4 A korongdiffúziós módszer

Az **1. ábrán** *Staphylococcus aureussal* leoltott petricsészéken a hígítási adatok és a kontrollok jelzései láthatók. Utólag kiemelve a törzsoldat körüli gátlási zónát, mely 11mm átmérőjű, a 40% etanol kontrollt mely körül nincs gátlási zóna, és a Corsodyl gátlási zónáját, mely 23 mm átmérőjű. A kísérlet legfőbb eredménye, hogy a tinktúra oldószere, a 40% etanol nem okoz gátlást, míg a szájvíz igen; ezzel bizonyítottuk, hogy a tinktúrában nem az alkohol okoz gátlást.



1. ábra

A szájvíz és a kontrollok gátlási zónái

3.5 Az optikai denzitás mérés eredményei csőhígításban

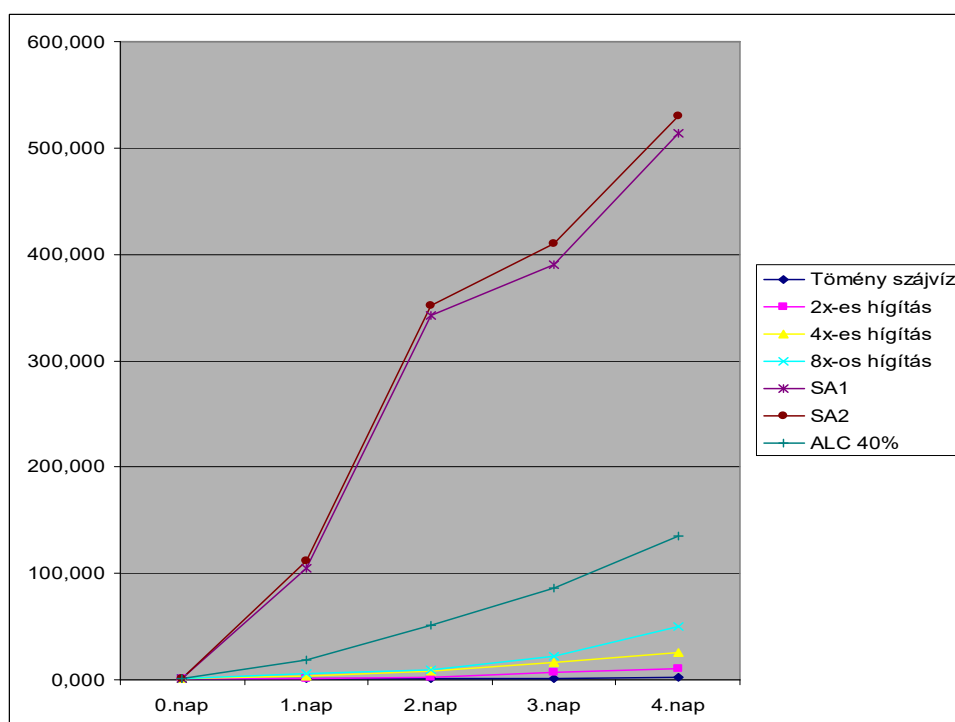
A **2. táblázat** első értékeit 1-nek vettük, melyhez a többi értéket viszonyítottuk. Így a kiindulási értékhez viszonyított folyamatos növekedést, a vizsgált *Staphylococcus aureus* törzs növekedési hányadosát tudtuk vizsgálni.

	Szájvíz	2x-es hígítás	4x-es hígítás	8x-s hígítás	Alk. 40%	Sta. aur. 1	Sta. aur. 2
0.nap	1	1	1	1	1	1	1
1.nap	1,42	1,61	3,50	6,20	19,00	105,00	112,00
2.nap	1,49	2,22	7,66	9,80	51,60	342,00	352,00
3.nap	1,71	6,68	16,06	22,20	86,60	390,00	410,00
4.nap	1,82	10,82	26,16	50,50	135,00	514,00	530,00

2. táblázat

A szájvíz és hígításainak, és a kontrollok növekedési hányadosai

A **2. táblázat** és **2. ábra** értékeiből az látszik, hogy a hígítás növekedésével a denzitás is egyre jobban nő minden mérésnél. Míg a végső érték a 4. napon a törzsoldat denzitásában 1,82x magasabb a kezdetihez képest, addig a nyolcszoros hígításnál már több mint 50x nagyobb a denzitás. Az alkohol értéke 135x-re nő, míg a kezeletlen kontrollok kezdeti értékeik 500-szorosára nőnek.

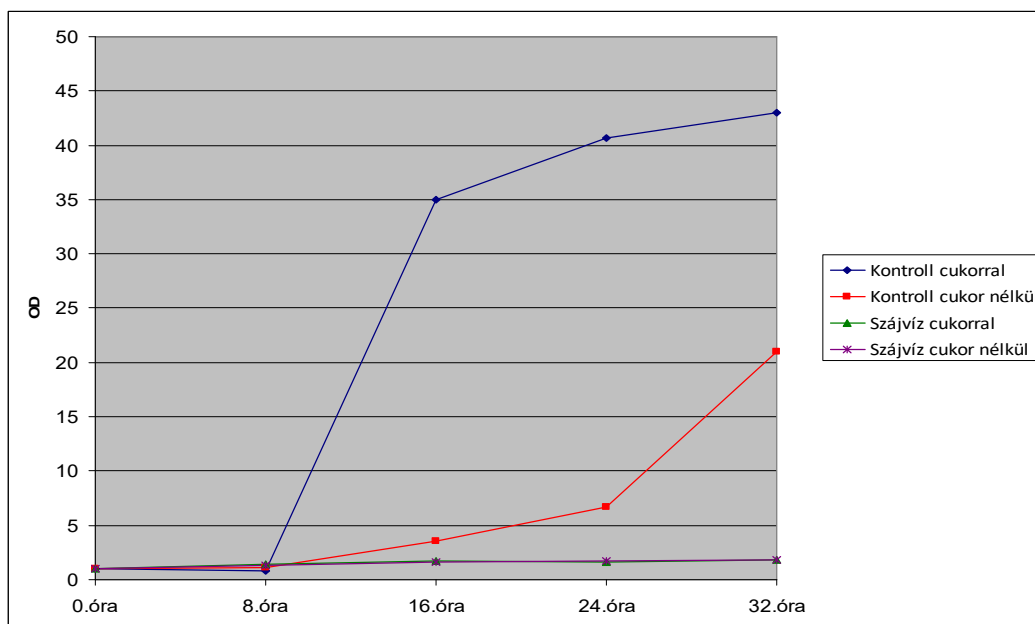


2. ábra

Staphylococcus aureus törzsön vizsgált optikai denzitásváltozások a 2. táblázat alapján

3.6 Az antifungális vizsgálatok eredménye

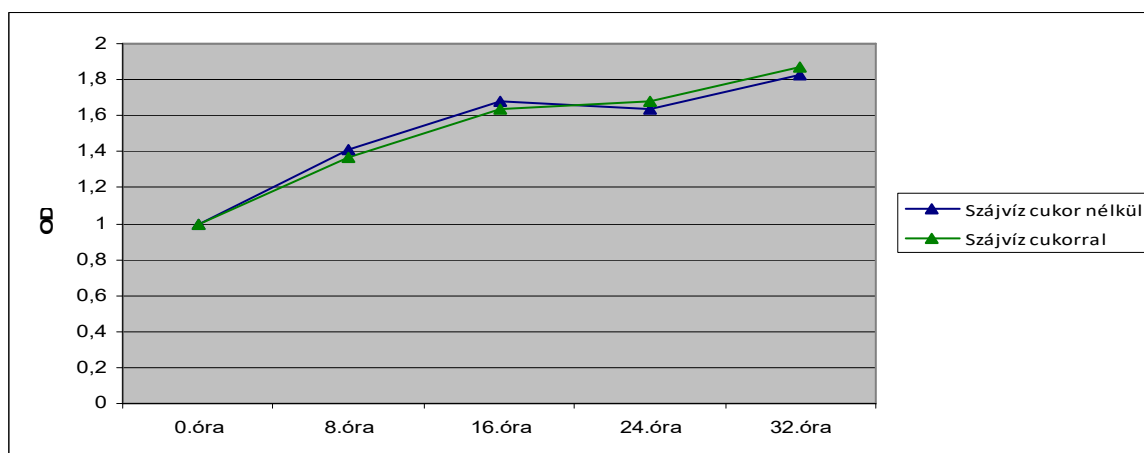
A **3. ábrán** ismertetett kísérlet eredménye szerint a tinktúra jelenlétében a *Candida albicans* gyakorlatilag nem képes szaporodni, még akkor sem, ha cukros táptalajon végezzük a kísérletet. A kontrollok denzitása a 36. órában 44-szeres illetve 21-szeres a kiindulási értékhez képest, míg a szájvízzel kezelt minták denzitása 1,8-szoros. Mivel a denzitás itt is nőtt, ezért ebből a szájvíznek gyenge fungicid, és igen erős fungisztikus hatására következtethetünk. Ezt alátámasztják a kísérlet utáni kioltások is, ahol alacsony csíraszámban sikerült élő telepeket kioltani a mintákból.



3. ábra

A *Candida albicans* törzsön vizsgált antifungális hatás

A **4. ábrán** jobban kivehetők a tinktúrával kezelt minták növekedési hányadosai, mivel az egy nagyságrenddel nagyobb értékű szájvízes kezelés nélküli kontrollokat nem ábrázoltuk.



4. ábra

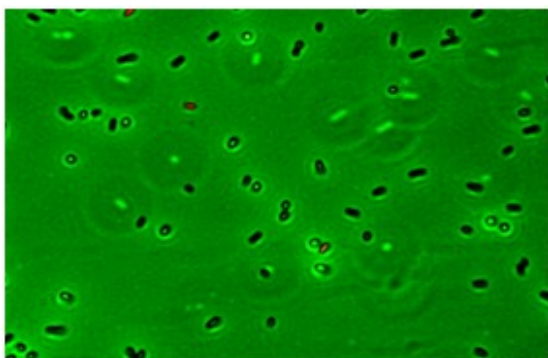
A 3. ábra kinagyított részlete. A *Candida albicans* törzsön vizsgált antifungális hatás kontrollok nélkül

3.7 A baktericid hatás bizonyítása

A Viabilitás teszt értékelése Olympus digitális kamerával és képelemző szoftverrel történt. A vizsgált három baktériumtörzs *Staphylococcus aureus*, *Lactobacillus plantarum* és *Streptococcus sanguis* voltak..

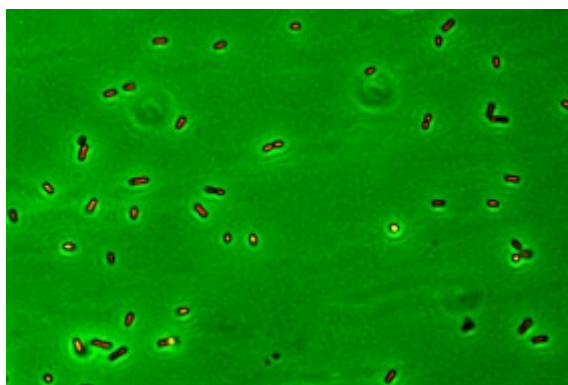
Az **5. ábrán** 40X-es nagyításon UV fényben Lactobacillusok láthatók, melyeket 40%-os etanol kontrollal inkubáltunk 1:3 arányban. Az elhalt sejtek **pirosan** világítanak a DNS-ükhöz kötődő propidium-jodid miatt, az élő sejtek nem festődnek, a fókuszról függően sötétebbnek vagy világosabbnak látjuk őket.

A **6. ábrán** ugyanilyen nagyításon szintén Lactobacillusok láthatók, melyeket a szájvízzel kezeltünk.



5. ábra

Lactobacillusok UV fény alatt 40% etanollal kezelve és propidium-jodiddal festve



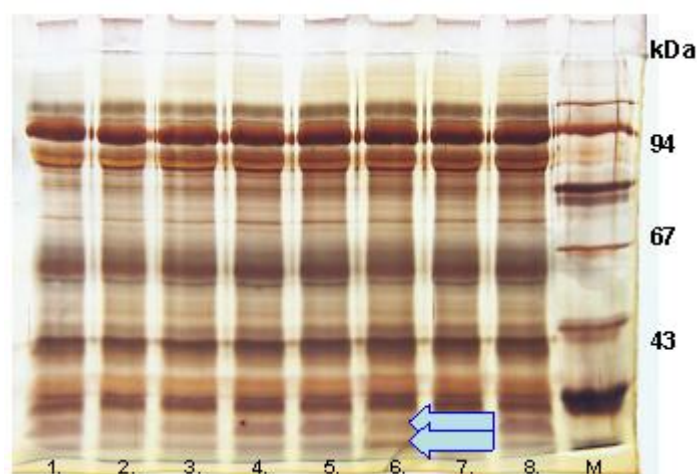
6. ábra

Lactobacillusok UV fény alatt a szájvízzel kezelve és propidium-jodiddal festve

A **5. ábrát** és a **6. ábrát** összevetve látható, hogy előbbin a 40%-os etanolnak (a szájvíz oldószerének) alig, míg magának a szájvíznek igen jelentős baktericid hatása van, Lactobacillusra nézve 94%-os redukciót értünk vele el. *Staphylococcus aureus* törzsön 96%-os, míg *Streptococcus sanguis* törzsön 89%-os redukciót értünk el.

3.8 A nyálfehérjékre való hatásvizsgálatok tapasztalatai

Bár az előkezelés, centrifugálás során a nyál több mint ezer fehérjéje közül számos elveszik, a vizsgálat alapján mégis kijelenthető, hogy egyik tinktúra sem károsítja a nyálfehérjéket (**7. ábra**).



7. ábra

A nyálminták szájvízzel és kontrollokkal kezelt elektroforézis vizsgálata

Az elektroforetikus rajzolatot szinte mindegyik oszlopban a natív nyáléval megegyezőnek találtuk. Eltérés látható a cserszömörccés szájvíznél az alacsony molekulásúlyú tartományban, a **kék nyilakkal** jelölt helyeken. A 40%-os etanol kontroll meglepően nem okozott eltérést a fehérjemintázatban.

Jelmagyarázat:

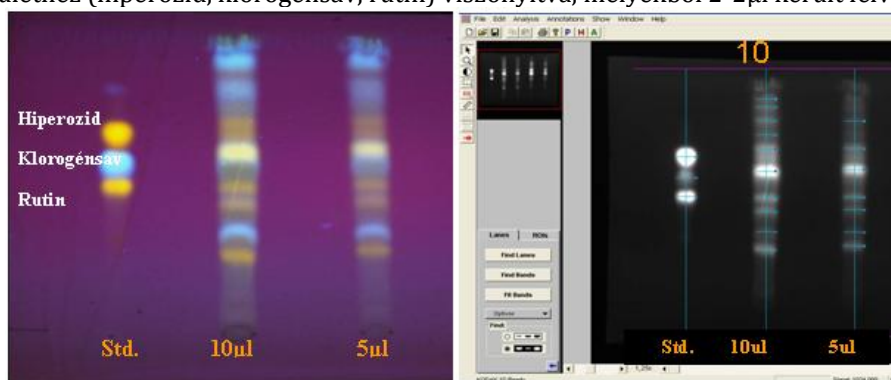
1. Natív nyál
2. hígítatlan szájvíz
3. 4X hígítás
4. 8X hígítás
5. 16X hígítás

Kontrollok:

6. Cserszömörccés szájvíz
7. Etanol 40%
8. PBS
- M Molekula markerek

3.9 A flavonoid vizsgálat bemutatása

A **8. ábrán** a szájvíz elválasztott flavonoidjait láthatjuk 10µl-es és 5µl-es felvitelben, három standard együlethez (hiperozid, klorogénsav, rutin) viszonyítva, melyekből 2-2µl került felvitelre.



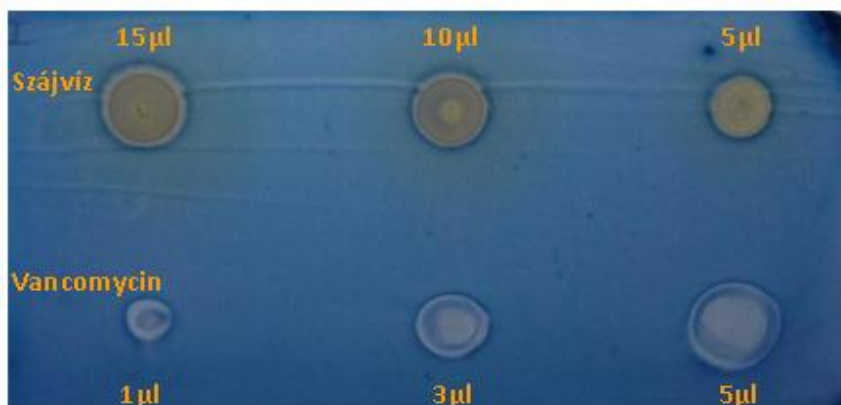
8. ábra

A flavonoid vizsgálat eredménye UV fényben és a digitális denzitometriás értékelés

Ezt az eredményt az említett Kodak készülék denzitometriás programjával értékeltük, mely alapján 10µl-es felvitelnél 10db különböző flavonoidot tudtunk biztonsággal elkülöníteni.

3.10 A Bioautográfia eredményei

3.10.1 A 9. ábrán a vizsgált szájvizünk antibakteriális hatását láthatjuk *Staphylococcus aureus* törzsön. Az átlagolt gátlási zónák átmérőit a **3. táblázat** foglalja össze. A táblázat átlagolt értékei azt mutatják, hogy a szájvíz 15µl-es felviteli mennyiségeihez hasonló méretű gátlási zónát adnak, mint az erős antibiotikum vancomycin 5µl-es felvitelére. A *Streptococcus sanguis* és *Lactobacillus plantarum* törzseken vizsgálva a tapasztalatok hasonlóak.



9. ábra

A szájvíz és vancomycin kontroll gátlási zónái *Staphylococcus aureus* törzsön

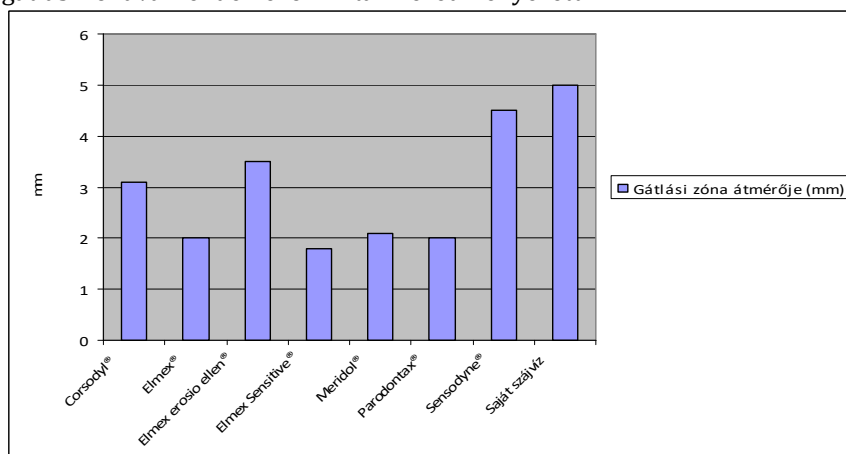
Vizsgált baktériumtörzs	Vizsgált minta	Felviteli mennyiség (µl)	Gátlási zóna átmérője (átlag, mm)	Szórás
<i>Staphylococcus aureus</i>	Saját szájvíz	5	6,3	0,15
		10	7,5	0,17
		15	9,1	0,95
	Vancomycin	1	4,8	0,29
		3	7,4	0,53
		5	8,9	0,35
<i>Streptococcus sanguis</i>	Saját szájvíz	5	6,0	0,06
		10	7,4	0,23
		15	8,7	0,26
	Vancomycin	1	3,9	0,17
		3	5,6	0,51
		5	7,1	0,85
<i>Lactobacillus plantarum</i>	Saját szájvíz	5	5,1	0,35
		10	5,6	0,55
		15	6,1	0,62
	Vancomycin	1	4,1	0,49
		3	6,6	0,17
		5	7,8	0,26

3.táblázat

A szájvíz és a Vancomycin kontroll gátlási zónáinak értékei különböző baktériumtörzseken

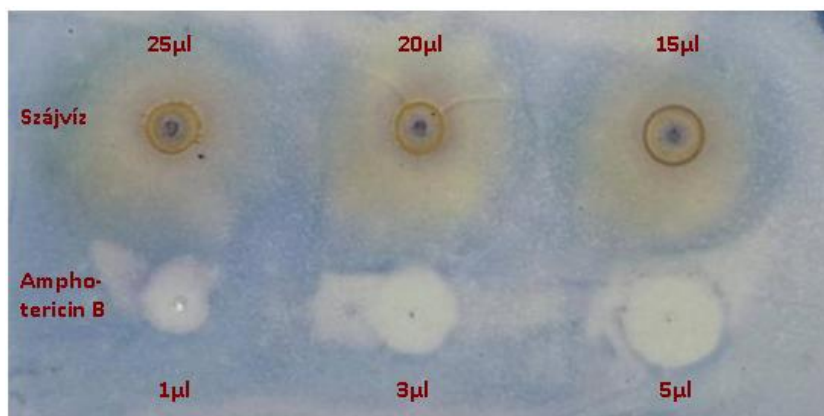
3.10.2 A 10. ábrán a Corsodyl®, Elmex®, Elmex erosio ellen®, Elmex Sensitive®, Meridol®, Parodontax®, Sensodyne® és a saját, gyógynövényalapú szájvizünk gátlási zónáinak nagyságát ábrázoltuk *Staphylococcus aureus* törzsre nézve. A természetes szájvíz 5,0mm-es gátlási zónát ad 10µl

mintafelvitelnél, ez 0,5mm-el több, mint amit a Sensodyne®, a szintetikus szájvizek közül legnagyobb gátlási zónával rendelkező mintánk eredményezett.



10. ábra Az összehasonlított szájvizek gátlási zónáinak átmérője

3.10.3 A 11. ábrán a természetes szájvizünk *Candida glabrata* törzsre kifejtett fungicid hatását mutatjuk be amphotericin B kontroll (1mg/ml) mellett. A további vizsgált fajok *Candida albicans*, *C. Krusei*, *C. parapsylosis* számszerű eredményeit a **4. táblázat** foglalja össze. A táblázatból kitűnik, hogy a szájvíz 15µl-es felviteli mennyiségeinek eredményei hasonló értékeket adtak, mint az erős fungicid amphotericin B 5µl-es felvitele.



11. ábra A szájvíz és az amphotericin B hatása *C. glabrata* törzsön

Vizsgált gombatörzs	Vizsgált minta	Felviteli mennyiség (µl)	Gátlási zóna átmérője (mm)
<i>Candida albicans</i>	Saját szájvíz	15	12,4
		20	13,9
		25	17,0
	Amphotericin B	1	2,8
		3	7,5
		5	12,1
<i>C. glabrata</i>	Saját szájvíz	15	9,8
		20	10,2
		25	11,1
	Amphotericin B	1	6,0
		3	8,1
		5	9,4
<i>C. Krusei</i>	Saját szájvíz	15	6,0
		20	6,5
		25	7,6
	Amphotericin B	1	4,8
		3	5,9
		5	9,7
<i>C. parapsylosis</i>	Saját szájvíz	15	11,0
		20	17,1
		25	19,4
	Amphotericin B	1	5,7
		3	8,2
		5	11,1

4. táblázat A szájvíz és az Amphotericin B kontroll gátlási zónáinak értékei *Candida* törzseken

4. ÁLTALÁNOS KÖVETKEZTETÉSEK

A kísérleteink eredményeiből az alábbi, általános érvényű következtetéseket vonhatjuk le:

- 1) Kizárólag természetes alapanyagokból készült el a szájvíz.

- 2) Megtartotta sterilitását a vizsgálati periódus alatt (1 év).
- 3) Antibakteriális sajátsgot mutatott a három legjelentősebb szájüregi baktériumon, bakteriosztatikusnak és baktericidnek bizonyult.
- 4) A kereskedelmi szájvizek között kimagasló antibakteriális hatással rendelkezik.
- 5) Jelentős antifungális hatással rendelkezik.
- 6) A nyál fehérjeösszetételében nem okozott elváltozást.
- 7) Flavonoidokban gazdagnak mondható.
- 8) pH-ja optimális a mindennapi használatra.
- 9) A legalacsonyabb etanol tartalommal rendelkezik az alkoholtartalmú szájvizek között (10% felhasználáskor).
- 10) A további vizsgálatok, klinikai tesztek a jövő feladatai.

Függelék

IRODALOMJEGYZÉK

1. **Bor L.- Majerné Bogdács M.-Szabó L.- Técsy L.**(1995). *Flavonoidok vizsgálata. Növényélettani gyakorlatok. Janus Pannónius Tudományegyetem TTK, Pécs*
2. **Bradford MM.** (1976) *A rapid sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Anal Biochem, 72: 248-254.*
3. **Csapó József:** Új füves és virágos magyar kert (Debrecen, 1775)
4. **ESCOP Monographs 2nd Edition, 2003.**
5. **Fitzgerald RJ, Keyes PH.** (1960) *Demonstration of the etiologic role of streptococci in experimental caries in the hamster. J Am Dent Assoc. 1960 Jul;61:9-19*
6. **Laemmli UK.** (1970) *Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of the bacteriophage T4. Nature, 227: 680-685.*
7. **Prabuseenivasan et al** (2006) *In vitro antibacterial activity of some plant essential oils. Seenivasan Prabuseenivasan, Manickam Jayakumar and Savarimuthu Ignacimuthu. Entomology Research Institute, Loyola College, Chennai – 600 034, India.)*
8. **Willoughby EW, Lambert A.** (1983) *A sensitive silver stain for proteins in agarose gels. Anal Biochem, 130: 353-358.*

BEVEZETÉS

A mEHT egyre inkább terjed, mint egy nem invazív a kemo- ill. radioterápia hatékonyságát kiegészítő lokális daganatkezelés [1-4]. A tumorszövet megnövekedett glükóz metabolizmusa és következményes laktát termelése (Wartburg hatás) miatt a daganat dielektromos tulajdonságai megváltoznak. A fokozott vezetőképesség eredményeként [5, 6] az elektromos tér feldúsul a tumorban a környező normál szövetekhez képest, így a következményes hőhatás is a tumorszövetre koncentrálódik, ezáltal lehetővé téve a tumor célzott károsítását [1]. Korábban igazoltuk, hogy a mEHT kezelés következtében kialakuló daganat pusztulásért elsősorban a az elektromos tér hőmérséklet független hatása felelős, mely háromszor hatékonyabb, mint az azonos hőmérsékletű hagyományos hipertermia ($T=41^{\circ}\text{C}$) [7]. Széleskörű klinikai alkalmazás ellenére [2-4, 8] a kezelés pontos hatásmechanizmusa még nem ismert. Vizsgálatunk célja az egyszeri mEHT kezelés következtében kialakuló daganatpusztulás molekuláris hátterének tanulmányozása HT29 kolorektális karcinóma xenograft modellben.

Anyag és módszer

Tumor modell

Sejtvonal

HT29 invazív kolorektális daganat sejtvonalat Dulbecco modified Egel's minimal essential medium (DMEM) + GlutaMax high glucose (4,5 g/l), 10% hő inaktivált feltális borjú szérum (FCS), 1% streptomycin- penicillin (5000 NE penicillin és 5mg streptomycin/ml) médiumban tenyésztettük. A monolayer-ben elhelyezkedő sejteket 0,25%-os trypsin ethylenediaminetetraacetic sav (EDTA, 0,22 ms/ml) segítségével szedtük fel szérummentes médiumba $10^7/\text{ml}$ sejt koncentrációban. Minden reagens a GIBCO-tól (Invitrogen, Carlsbad, USA) származott.

Állatmodell

Nőstény nude Balb/c (nu/nu) egereket (az Országos „Frédéric Joliot-Curie” Sugárbiológiai és Sugár egészségügyi Kutató Intézet Izotóp alkalmazási és Állatkísérletes osztály) steril környezetben steril táplálékon, vízen és 12 órás sötét és 12 órás világos ciklusokban tartottuk. A 6-8 hetes egerek mindkét oldali femorális régiójába 0,1ml $10^7/\text{ml}$ koncentrációjú HT29 sejtvonalat szubkután injektáltunk. 18 nappal az injektálást követően, amikor a daganat átmérője elérte a kb 1,5 cm-t, került sor a mEHT kezelésre.

mEHT kezelés

Minden esetben a jobb oldali tumort egy, az áramkör részét képező, kondenzátor két fegyverzete közé helyeztük. Az elektród elrendezése aszimmetrikus volt. Az állatok egy $72,0\text{ cm}^2$ területű földelt alumínium elektródon feküdtek, mely 37°C -os volt a kezelés során. Az aktív rugalmas textiltől készült (Lorix kft., Bajna, Magyarország) $2,5\text{ cm}^2$ területű kerek felső elektródot szorosan a tumorra rögzítettünk. A teljes felület egy nedves vattával hűtöttük. Az elektromágneses teret 13,56 MHz-en 1/f amplitúdó modulációval LabEHY készülékkel (Oncotherm kft., Páty, Magyarország) állítottuk elő. A kezelés során a kezelt oldalon a tumorban ($41-42^{\circ}\text{C}$) és a bőr alatt (40°C), az ellenoldali tumorban (36°C) és rektálisan (37°C) is másodpercenként mértük a hőmérsékletet (Luxtron FOT Lab Kit, LumaSense Technologies, Inc. CA).

A kezelt csoport 33 egeret tartalmazott, minden állat egyszeri 30 perces kezelésben részesült kb 4W átlagos kimenő teljesítménnyel. A kezelés során az állatokat 100 mg/kg Ketamine és 10mg/kg Xylazine anesztéziában részesítettük.

Mintavételezés a kezelést követően 0,1,4,8,14,24,48,72,120,168 és 216 órával történt, minden időpontban 3-3 állatot áldoztunk fel valamint 5 kezeletlen állatot a 24 és 72 órással együtt. Az eltávolított daganatokat félbevágtuk és az egyik felét 10%-os formalinfixálást követően parafinba ágyaztuk, míg a másik felét folyékony nitrogénben lefagyasztottuk és -80°C -on tároltuk további felhasználásig.

Szöveti multiblokk (TMA) immunhisztokémia és immunfluoreszcencia

A formalinfixált parafinba ágyazott mintákból teljes keresztmetszeti metszeteket és TMA-t készítettünk. A TMA minden mintából hematoxilin és eozin festés alapján kiválasztott területekről származó 3-3 2mm átmérőjű szövethengert tartalmazott (TMA Master, 3DHISTECH Ltd., Budapest, Magyarország).

Immunhisztokémiához a 4µm vastag metszeteket deparafináltuk, rehidráltuk, majd az endogén peroxidáz enzimeket 3%-os metanolban hígított hidrogénperoxid oldattal blokkoltuk 20 percig, kivéve a fluoreszcensen vizsgált mintáknál. Az antigén feltárást elektromos kuktával (Avair Ida YDB50-90D, Biatlon kft, Pécs, Magyarország) végeztük 105°C-on vagy 0,01M Na citrát-citrát sav (citrát, pH6 hasított caspase-3 esetében) vagy 0,1M Trisbázis és 0,01M EDTA (T-E, pH9, minden egyéb antitest esetében) oldatokkal. Ezt követte a fehérje blokkolás borjú szérum albumin (BSA)-Azide (1%, Sigma Aldrich, St Luis, MO) oldattal 20 percig. A metszeteket 16 órán keresztül szobahőmérsékleten párákamrában inkubáltuk a következő primer antitestekkel: polyclonal rabbit anti-human cleaved-caspase-3 (1:100, Cell Signaling Danvers, MA), poliklonális nyúl anti-human myeloperoxidase (MPO) (1:200, Sigma Aldrich), poliklonális nyúl anti-human AIF (1:50, Cell Signaling), poliklonális nyúl anti-human cytochrome c (1:50, Cell Signaling), poliklonális nyúl anti-human TRAIL-R2 (1:50, Cell Signaling), poliklonális nyúl anti-human CD3 (1:2, DAKO, Glostrup, Denmark). A reakció előhívásához az EnVision polymer peroxidase detektáló rendszert (DAKO) alkalmaztuk 30 percig, majd az enzimreakciót 3,3'-diaminobenzidine (DAB, brown) kit (RE7105, Leica-NovoCastr, Newcastle, UK) vagy aminoethylcarbazole (AEC, red) kit (Dako, K3461) kromogénnel hívtuk elő. Az immunfluoreszcens reakcióhoz a metszeteket Alexa546 (orange-red) anti-nyúl Ig-t 1:200 hígításban, 90 percig inkubáltuk, a sejtmagokat 4',6-diamidino-2-phenylindole (DAPI) használatával jelöltük meg. (minden reagens az Invitrogen-Molecular Probes-től származott).

Fehérje izolálás, apoptosis array és Western blott

Fehérjét a lefagyasztott mintákból izoláltunk lízispuffer (20mM Tris, 2 mM EDTA, 150 mM NaCl, 1% Triton-X100, 10 µl/ml phosphatase inhibitor és 5 µl/ml proteinase inhibitors) 30 perces használatával, majd 1500rpm-mel 4°C-on 15 percig centrifugáltuk. A fehérje koncentrációt Bradford esszével határoztuk meg. 35 apoptosissal összefüggő fehérje expresszióját egyidőben vizsgáltuk a 8,14,24 órás kezelt mintákon és a 24 órás kezeletlen kontroll mintán a nitrocellulóz membrán alapú Proteome Profiler™ Human Apoptosis Array Kit array (R&D, Minneapolis, MN) alkalmazásával. A membránokat 250 µl 1200 µg/ml koncentrációjú protein lizátummal éjszakán keresztül billegettük, majd 60 perces biotinilált anti humán IgG inkubálást követően 30 percig Streptavidin-tormaperoxidázt (HRP) alkalmaztunk, majd kemilumineszcenciával (ECL kit, SuperSignal® West Pico Chemiluminescent Kit; Thermo Sci., Rockford, IL) és Kodak Image Station 4000mm (Rochester, NY) segítségével láthatóvá tettük a reakciót. Az eredményeket ImageJ1.45s (szabadon felhasználható <http://rsbweb.nih.gov/ij/>) szoftverrel értékeltük ki. Western blotthoz az izolátumokat 5% 2-mercapthoethanol tartalmazó 5x Laemmli minta pufferrel elegyítettük és 5 percre 95°C-ra melegítettük. A 12% Na dodecylsulfate polyacrylamide gél (SDS-PAGE) minden zsebbe 30 µg fehérje elegyet mértünk és 150V-on 1 órán át electrophoresist végeztünk. A fehérjéket állandó 75mA áramerősséggel éjszakán keresztül polyvinylidene difluoride (PVDF) membránra blottoltuk. Az immunreakcióhoz először 60 percig 5%-os tejjpor oldattal blokkoltuk a fehérjéket, majd nyúl anti humán AIF antitesttel (1:1000; Cell Signaling, Danvers, MA) éjszakán keresztül 4°C-on inkubáltuk, ezt követően tormaperoxidáz konjugált kecske anti nyúl IgG-t (1:1000; Cell Signaling) alkalmaztunk. A peroxidáz reakciót kemilumineszcenciával (ECL) tettük láthatóvá. Precision Plus Protein standard létrát használtunk (250kDa, 150-, 100-, 75-, 50-, and 37kDa). A jeleket Kodak Image Station-nel detektáltuk.

TUNEL assay

TUNEL assay-t először a TMA-n, majd a TMA-n kiértékelt reakció alapján meghatározott időpontokban (24 és 48 óra) a teljes keresztmetszeti metszeteken is elvégeztük. A TUNEL assay alapja, hogy a DNS szabad végéket enzimatikusan fluorokrómmal megjelölt nukleotidokat köt hozzá. Az assayhez a Click it TUNEL Alexa Fluor 488 Imaging Assay –t (Invitrogen) használtuk, és a használati utasítást követtük. Röviden, deparafinálást követően a mintákat citrát alapú pH 6,0-os antigén feltáró oldattal (H-3300, Vector Lab, Burlingame, CA) elektromos kuktában (Avair Ida) feltártuk. 37°C-on 60 percig dUTP TdT koktéllal inkubáltuk, majd szoba hőmérsékleten 30 percig réz (I) reakcióval a fluorochromot a bekötődött nukleotidokhoz kötötte.

Kvantitatív morfológia és statisztikai elemzés

A kezelt oldalon 24 órás mintákban hematoxin-eozin (HE) festett teljes daganat keresztmetszetek centrális régióiban szignifikáns szövetpusztulást figyeltünk meg piknotikus sejtmagokkal. A TUNEL „assay” szignifikáns DNS fragmentációt mutatott a 24 és 48 órás kezelt mintákon. Ezzel összhangban nagyszámú apoptotikus testet figyeltünk meg 48 és 72 órával a kezelés után. Az apoptózis „array” a TRAIL-R2 halálreceptor kezeléssel összefüggő fokozott expresszáldását mutatta 8 órás kezelést mintákban, amit *in situ* immunhisztokémiai vizsgálataink is igazoltak. A 8-14 órás mintákban immunhisztokémiával jelentős, ugyancsak kezeléssel összefüggő citokróm c kiáramlást tapasztaltuk a mitokondriumból a sejtplazmába. 14-24 órás mintákban a TRAIL-R2 út aktivációval összefüggésben az apoptózis indukáló faktor (AIF) mitokondriumból a sejtmagba vándorlását észleltük. Ugyanakkor 4-8-14

órával a kezelést követően hasított (aktív) kaszpáz-3 pozitív sejtek csak mérsékelt számban és csak a tumor perifériáján, elsősorban immunsejtekben voltak kimutathatóak. A 72-216 órával a kezelés után masszív myeloperoxidáz pozitív neutrofil granulociták/monociták, majd 120-216 órás mintákban CD3 pozitív éretlen T sejtek daganatinvázója volt megfigyelhető.

Eredmények

A kezelt oldalon 24 órás mintákban hematoxin-eozin (HE) festett teljes daganat keresztmetszetek centrális régióiban szignifikáns szövetpusztulást figyeltünk meg piknotikus sejtmagokkal. A TUNEL „assay” szignifikáns DNS fragmentációt mutatott a 24 és 48 órás kezelt mintákon. Ezzel összhangban nagyszámú apoptotikus testet figyeltünk meg 48 és 72 órával a kezelés után. Az apoptózis „array” a TRAIL-R2 halálreceptor kezeléssel összefüggő fokozott expresszáldását mutatta 8 órás kezelést mintákban, amit *in situ* immunhisztokémiai vizsgálataink is igazoltak. A 8-14 órás mintákban immunhisztokémiával jelentős, ugyancsak kezeléssel összefüggő citokróm c kiáramlást tapasztaltuk a mitokondriumból a sejtplazmába. 14-24 órás mintákban a TRAIL-R2 út aktivációval összefüggésben az apoptózis indukáló faktor (AIF) mitokondriumból a sejtmagba vándorlását észleltük. Ugyanakkor 4-8-14 órával a kezelést követően hasított (aktív) kaszpáz-3 pozitív sejtek csak mérsékelt számban és csak a tumor perifériáján, elsősorban immunsejtekben voltak kimutathatóak. A 72-216 órával a kezelés után masszív myeloperoxidáz pozitív neutrofil granulociták/monociták, majd 120-216 órás mintákban CD3 pozitív éretlen T sejtek daganatinvázója volt megfigyelhető.

Következtetések

A modulált elektrohipertermia (mEHT) elméleti háttere

Kapacitíven kicsatolt 13,56 MHz-es rádiófrekvenciás tér szelektíven fel tud dúsulni a daganatszövetben anélkül, hogy a környező ép szövetet károsítaná.[1] Ez a következők miatt történhet meg (1) a Warburg hatás miatt azaz a tumorszövet aerob glikolízise miatt laktát keletkezik és az lokális acidózist eredményez, ennek következménye képen fokozódik a tumor admittanciája. Ugyanakkor (2) a daganatban dielektrikus változások is megfigyelhetők, úgy mint emelkedett permittivitás és konduktivitás [9-12]. Szent-Györgyi volt az első, aki először felvetette, hogy ezek a dielektromos különbségek a víz strukturájától függenek [13]

Jelen következtetések

Egyszeri mEHT kezelés HT29 humán vastagbél adenokarcinóma xenograft modellben TRAIL-R2 közvetített kaszpáz független programozott sejthalált indukált, melyet cytoplazmatikus citokróm c kiáramlás és sejtmagi AIF transzlokáció kísért.

Köszönetnyilvánítás

Hálásan köszönjük Parsch Editnek, Papp Renátának és Kiss Sándornak odaadó munkájukat.

Szerzők megjegyzése:

Jelen munka publikáció alatt áll. Kérjük ezt figyelembe véve bizalmasan kezeljék a fent leírtakat.

IRODALOMJEGYZÉK

1. Andocs, G., O. Szasz, and A. Szasz, Oncothermia treatment of cancer: from the laboratory to clinic. *Electromagn Biol Med*, 2009. 28(2): p. 148-65.
 2. Feyerabend, T., et al., Local hyperthermia, radiation, and chemotherapy in recurrent breast cancer is feasible and effective except for inflammatory disease. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 2001. 49(5): p. 1317-25.
 3. Fiorentini, G., et al., A phase II clinical study on relapsed malignant gliomas treated with electro-hyperthermia. *In Vivo*, 2006. 20(6A): p. 721-4.
 4. Fiorentini, G. and A. Szasz, Hyperthermia today: electric energy, a new opportunity in cancer treatment. *J Cancer Res Ther*, 2006. 2(2): p. 41-6.
 5. Blad, B. and B. Baldeurop, Impedance spectra of tumour tissue in comparison with normal tissue; a possible clinical application for electrical impedance tomography. *Physiol Meas*, 1996. 17 Suppl 4A: p. A105-15.
 6. Blad, B., et al., An electrical impedance index to distinguish between normal and cancerous tissues. *J Med Eng Technol*, 1999. 23(2): p. 57-62.
 7. Andocs, G., et al., Strong synergy of heat and modulated electromagnetic field in tumor cell killing. *Strahlenther Onkol*, 2009. 185(2): p. 120-6.
 8. Wismeth, C., et al., Transcranial electro-hyperthermia combined with alkylating chemotherapy in patients with relapsed high-grade gliomas: phase I clinical results. *J Neurooncol*, 2010. 98(3): p. 395-405.
 9. Blad, B., Impedance spectra of cancerous and normal tissues from a mouse. *Bioelectrochemistry and Bioenergetics*, 1998. 45(2): p. 169-172.
 10. Blad, B. and B. Baldeurop, Impedance spectra of tumour tissue in comparison with normal tissue; A possible clinical application for electrical impedance tomography. *Physiological Measurement*, 1996. 17: p. A105-A115.
 11. Hope, T.A. and S.E. Iles, Technology review: the use of electrical impedance scanning in the detection of breast cancer. *Breast Cancer Res*, 2004. 6(2): p. 69-74.
 12. Zou, Y. and Z. Guo, A review of electrical impedance techniques for breast cancer detection. *Medical Engineering & Physics*, 2003. 25(2): p. 79-90.
 13. Gascoyne, P.R., R. Pethig, and A. Szent-Gyorgyi, Water structure-dependent charge transport in proteins. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1981. 78(1): p. 261-5.
-

Abstract

Leishmaniasis is a typical vectorial disease transmitted by Psychodidae vectors (*Lutzomyia*, *Phlebotomus* species). The worldwide observed 1,5-2 million new cases and 60,000 death caused by *Leishmania* parasites per year make leishmaniasis one of the most important vectorial disease in the tropics and warm temperate areas of the World. In the human environment dogs and cats are the most important hosts of the different leishmania agents. The different leishmania species cause symptomatically cutaneous or visceral disease forms, but many other type of the disease has been recognised. *Phlebotomus* species are sensitive to climatic patterns, they require high relative air humidity, mild winters and long and warm vegetation period, but the environmental requirements of the species naturally is not the same. Due to climate change in the near future the climate of Western and Central Europe could allow the colonisation of these highly populated areas with also the vectors and the parasites.

Our aim was to analyse the environmental patterns of the current distribution area of 8 important sand flies (*P. ariasi*, *P. perniciosus*, *P. perfiliewi*, *P. papatasi*, *P. tobbi*, *P. neglectus*, *P. similis* and *P. sergenti*) using the 1960-1990 period's climate as reference. Using climate envelope modeling we determined these climatic characters and using the REMO climate projection we created the recent and the near-future (2011-2040 and 2041-2070) potential distribution area of the sand flies. The current known area of many *Phlebotomus* species is restricted either to the western or to the eastern Mediterranean Basin.

We found that their climatic requirements could not explain their segregation, it is maybe the consequence of their evolutionary history (geographical barriers and paleoclimatic history). By the end of the 2060's most parts of Western Europe can be colonized by sand flies, mostly by *P. ariasi* and *P. perniciosus*. *P. ariasi* showed the greatest potential northward expansion. Our model resulted 1 to 2 months prolongation of the potentially active period of *P. neglectus*, *P. papatasi* and *P. perniciosus* for the 2070's in Southern Hungary. As the climate becomes drier and warmer, sand flies will occupy more and more parts of Hungary. Our findings confirm the concerns that leishmaniasis can become a real hazard for the major part of the European population to the end of the 21st century and the Carpathian Basin is a particularly vulnerable area.

1 BEVEZETÉS

A leishmaniasis egy főként lepkeszúnyogok (*Phlebotomus* fajok) által terjesztett, *Leishmania* nemzetségbe tartozó protozoonok által okozott betegség. A mintegy 1,5-2 millió/év új fertőzéssel és az évente mintegy 60,000 halálos áldozattal járó leishmaniasis az egyik legfontosabb vektoriálisan terjedő humán betegség bolygónk trópusi és meleg mérsékelt övi területein, prevalenciája eléri 12 millió főt (Naderer és mtsai. 2006). A *Phlebotomus*ok az elsődleges terjesztői a *Leishmania* parazitáknak az Óvilágban; az Újvilágban a *Lutzomyia* fajok töltik be ugyanezt a szerepet (Killick-Kendrick 1990). A lepkeszúnyogok a Diptera (kétszárnyúak) rendjének egy viszonylag ősi ágához (Psychodidae család) tartoznak, jellemző mediterrán-szubtrópusi faunaelemek (Aspöck és mtsai. 2008).

A *Leishmania infantum* leggyakoribb terjesztői a *P. ariasi* és a *P. perniciosus* Európában, de ezen kívül még 3 jelentősebb terjesztője ismert az öreg kontinensen (Minter 1989, Killick-Kendrick 1990, WHO 1984, Léger és mtsai. 2000). A *L. infantum* protozoonok legfontosabb rezervoárjai a kutya- és macskaféle ragadozók (Shaw és mtsai. 2003), de rágcsálók és lovak is lehetnek hordozói (Sánchez és mtsai. 2000; Pennisi 2002, Köhler és mtsai. 2002, Solano-Gallego és mtsai. 2003). A mediterrán országokban a legjelentősebb hordozók emberi szempontból a kutyák. A *Phlebotomus* fajok elterjedési területe nagyobb, mint magának a *Leishmania* parazitáknak. Ebből következően a lepkeszúnyog fajok klímaváltozás hatására bekövetkező északi irányú terjedése nem vonja maga után feltétlenül a *Leishmania* paraziták elterjedésének azonos nagyságú változását.

A leishmaniasist terjesztő ízeltlábú lepkeszúnyog vektorok rendkívül érzékenyek a környezeti feltételekre, fennmaradásuk és szaporodásuk nedves, párás, enyhe klímájú környezetben biztosított. Egyes fajaik -4 - 5°C minimum-hőmérsékletet is tolerálnak (Lindgren és Naucke 2006). Természetes viszonyok között az avar és az odvas fák, valamint a természetes vizek által nedvesen tartott, mikrobabevonattal rendelkező sziklafelszínek jelentik az élőhelyet, emberi környezetben azonban romok,

épületek repedései, nedves zugok, személtelhelyezésre szolgáló tárgyak és vizes blokkok nyújtják a legjobb életfeltételeket.

2 CÉLKITŰZÉS

Tanulmányunk céljaul tűztük ki 5 potenciálisan *Leishmania infantum*ot terjesztő *Phlebotomus* faj (*P. ariasi*, *P. neglectus*, *P. perfiliewi*, *P. perniciosus*, *P. tobbi*), 3, elsősorban *L. donovani* és *L. tropica* parazitát terjesztő lepkeszűnyog (*P. papatasi*, *P. similis* és *P. sergenti*) klimatikus igényeinek megismerését és összevetését, valamint az 1961-1990-es referencia-időszak és a REMO klímamodell alapján a 2011-2040, valamint a 2041-2070-es időszakokra előrevetített potenciális elterjedési területek kirajzolását climate envelope model (niche-alapú modellezés, korrelatív modellezés) alkalmazásával.

3 ADATOK ÉS MÓDSZEREK

A fajok jelenlegi európai elterjedési területeit a **VBORNET (2012)** adatbázis szolgáltatta. Az éghajlati adatokat a REMO regionális klímamodell szolgáltatta (**Jacob és mtsai. 1997; Jacob és mtsai. 2001**), mely az ECHAM5 globális modell (**Roeckner és mtsai. 2003, Roeckner és mtsai. 2004**) és az IPCC SRES A1B klímaszcenárió (**Strengers és mtsai. 2004**) alapján készült, és Európát 25 kilométeres felbontású rácshálóval borítja.

Fontos megjegyezni, hogy a klímamodell a szezonális átlaghőmérsékletek emelkedésén kívül a nyári csapadékösszeg csökkenését is előre vetíti. A következő fizikai jellemzőket használtuk a modellezés során: a havi középhőmérsékleteket (T_{mean} , °C), havi minimum-hőmérsékleteket (T_{min} , °C) és havi csapadékösszegeket (P , mm). A három típusú változó 12 hónapra vetítve összesen 36 független változót jelent a modellben. Ezek mindegyike havi felbontásban állt rendelkezésre és mind a referencia időszakban, mint a két jövőbeli időszakot illetően harmincéves időszakokra lett átlagoltuk.

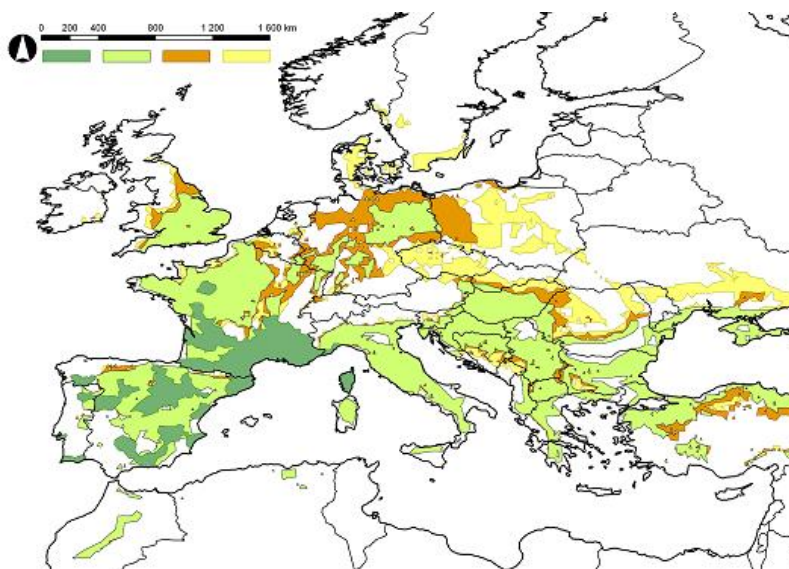
Kutatásunk során az adatok statisztikai előfeldolgozáson esek át, amivel az elterjedési térképek kis horizontális felbontásából és a tévesen bekerült klímaadatokból adódó pontatlanságokat sikerült mérsékelni az adatsorok néhány percentilisének elhagyásával. A modellezés csak az európai adatbázisokon alapult, így a modellben Észak-Afrikára jelzett potenciális elterjedési területek nem verifikálhatóak. Figyelembe kell venni azt is, hogy a csak nyugati, vagy keleti területekre korlátozódó fajok esetében bizonyos klimatikus kombinációk esetleg nem fordulnak elő az élőhelyükön.

4 EREDMÉNYEK

4.1 *P. ariasi*

A *P. ariasi* jelen északi elterjedési határa Európában az ÉSZ 49°, habár a faj elterjedése nagyrészt Spanyolországra és Dél-Franciaországra korlátozódik. Modellünk szerint az elméletileg lehetséges északi elterjedési határ (csak a vizsgált klimatikus faktorokat figyelembe véve) az ÉSZ 53° körül húzódna már a 2040-es évek végére is, elérve Németországot és Nagy-Britanniát. Emellett a faj számára a földrajzi akadályok legyőzése esetén alkalmasnak mutatkozna a klíma a teljes kelet-mediterráneumban, beleértve a Pannon síkság jelentős részét is, az Észak-Alföld nagy részének és a teljes Észak-Magyarország kivételével.

A modell szerint a 2011-2040-es időszakban a vektor potenciális területe főként Németország középső területein növekedne és magába foglalná Lengyelország keleti területeit (a januári átlaghőmérsékleti limit: -0.5°C), valamint a teljes Észak-Alföldet Magyarországon. A 2060-as évek végére a vektor potenciális elterjedési területe tovább terjedne a kontinentális területek irányába, ugyanakkor az északi és óceáni területek nedves, csapadékos nyarai miatt sokkal kisebb lenne a változás a Balti-tenger környékén és a Brit-szigeteken (A júliusi csapadéklimit 84-93 mm, a júliusi hőmérsékleti limit pedig 14.7-15.5°C). Szintén a hűvös nyarak miatt nem várható a vektor behatolása az alpi területekre.

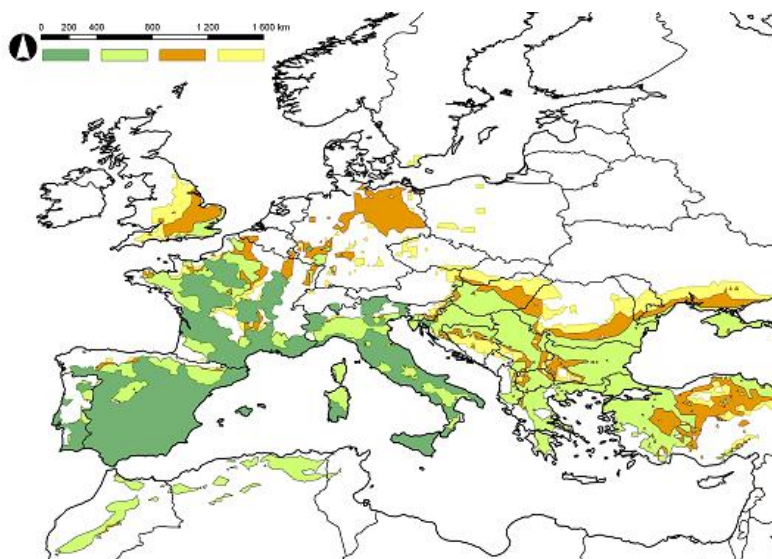


1. Kép: A *Phlebotomus ariasi* potenciális elterjedési területe (2012, 2011-2040, 2041-2070). Színek: jelenleg (2012) ismert elterjedési terület (sötétzöld); a referencia időszakra modellezett potenciális elterjedési terület (világoszöld); a 2011-2040-es időszakra modellezett potenciális elterjedési terület (narancssárga); a 2041-2070-es időszakra modellezett potenciális elterjedési terület (citromsárga).

4.2 *P. perniciosus*

Annak ellenére, hogy a *P. perniciosus* jelen elterjedése hasonlóan tűnik a *P. ariasi*-éhoz, jelentős különbség a két faj között, hogy a *P. ariasi* a mediterrán hegyvidéket, a *P. perniciosus* a tengerparti síkságokat részesíti előnyben (Chamailé és mtsai. 2010). Potenciális jelenlegi elterjedési területét a nyugat-mediterráneumban majdnem lefedi a valós elterjedése, a kelet-mediterrán területeken ez a faj sem honos. Potenciálisan jelenleg közép-Németországban, a teljes kelet-mediterráneumban és Magyarországon nyugati-délnyugati felén adottak az életfeltételek számára.

A limitáló klímatervezők: 78-84 mm júliusi csapadékösszeg, 0.5°C januári átlaghőmérséklet és több mint 2.1°C-os decemberi átlaghőmérséklet, az óceáni területeken a 15.9°C-nál magasabb júliusi átlaghőmérséklet. A modell alapján várható jövőbeli elterjedési területe kisebb, iránya hasonló, mint a *P. ariasi* esetében látható. A modellezett elterjedési területek jellegzetessége, hogy Közép-Európa esetében nem jósol a modell akkora különbséget a két modellezett jövőbeli periódus között, mint a *P. ariasi* esetében.

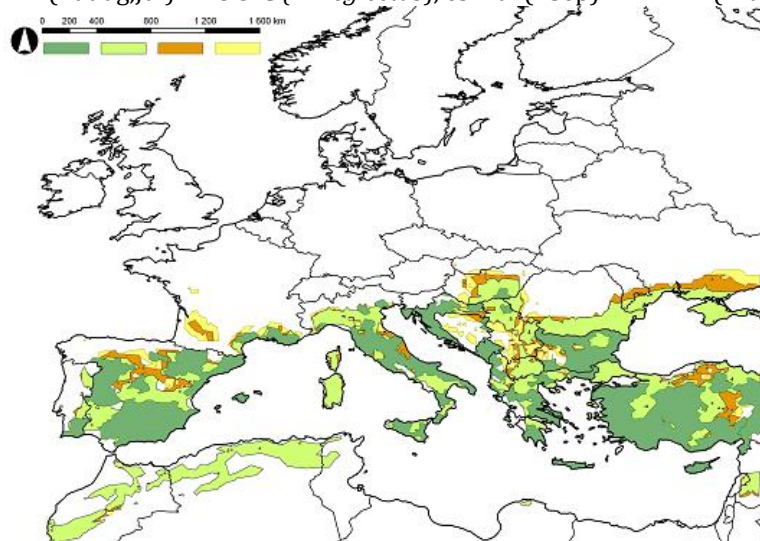


2. Kép: A *Phlebotomus perniciosus* potenciális elterjedési területe (2012, 2011-2040, 2041-2070) Színek: jelenleg (2012) ismert elterjedési terület (sötétzöld); a referencia időszakra modellezett potenciális elterjedési terület (világoszöld); a 2011-2040-es időszakra modellezett potenciális elterjedési terület (narancssárga); a 2041-2070-es időszakra modellezett potenciális elterjedési terület (citromsárga).

4.3 *P. neglectus*, *P. papatasi*, *P. perfiliewi* és *P. tobbi*

A *P. papatasi*, *P. neglectus* és *P. perfiliewi* valós elterjedési területe magában foglalja Magyarországon délnyugati megyéit (Tánczos és mtsai. 2012), így modellezésünk szempontjából talán a legfontosabb fajok. A *P. papatasi* a legelterjedtebb, mivel a Mediterrán medence mindkét felén előfordul. Mind a 4 faj terjedése várható a jövőben, de nem azonos területeken és mértékben.

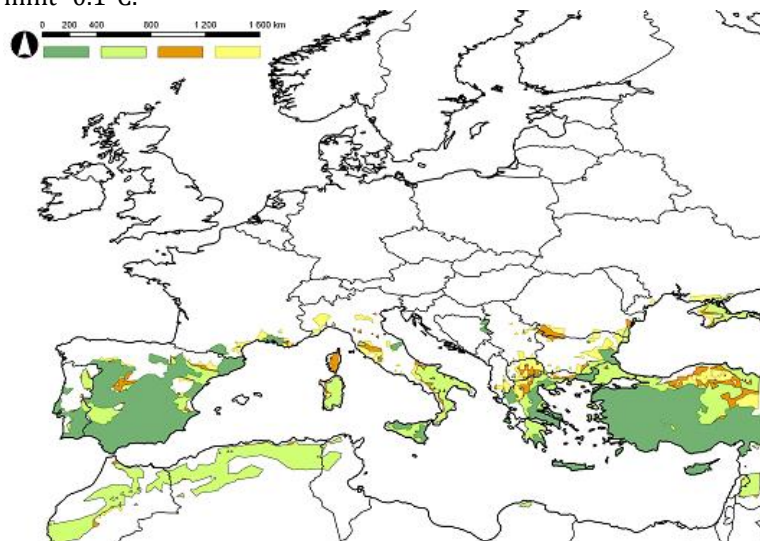
A terjedés szempontjából a *P. perfiliewi* és a *P. tobbi* tűnik a legpotensebbnek. A fő limitáló faktorok: (PJul) < 45 mm (*P. neglectus* és *P. papatasi*), és max(PJul) < 51 mm (*P. perfiliewi* és *P. tobbi*), min(Tátlag,Jul) > 18.5°C (*P. neglectus*), és max(PSep) < 72 mm (*P. tobbi*).



3. Kép: A *Phlebotomus papatasi* potenciális elterjedési területe (2012, 2011-2040, 2041-2070) Színekódok: jelenleg (2012) ismert elterjedési terület (sötétzöld); a referencia időszakra modellezett potenciális elterjedési terület (világoszöld); a 2011-2040-es időszakra modellezett potenciális elterjedési terület (narancssárga); a 2041-2070-es időszakra modellezett potenciális elterjedési terület (citromsárga).

A vizsgált 8 lepkeshúnyog faj közül a *P. similis* és a *P. sergenti* a leginkább meleg, valódi mediterrán klímához kötődő fajok. Modellünk szerint terjedésük a 2070-es évek végéig sem várható Európa északabbi területei felé.

A *P. sergenti* és a *P. similis* fajok érzékenyek a bármely évszakban hulló csapadéokra: max(PJul) < 27 mm és a max(PSep) < 36 mm (*P. similis*). Élőhelyükön a januári átlaghőmérséklet nem lehet kevesebb, mint -0.1°C.



4. Kép: A *Phlebotomus sergenti* elterjedési területe (2012, 2011-2040, 2041-2070) Színekódok: jelenleg (2012) ismert elterjedési terület (sötétzöld); a referencia időszakra modellezett potenciális elterjedési terület (világoszöld); a 2011-2040-es időszakra modellezett potenciális elterjedési terület (narancssárga); a 2041-2070-es időszakra modellezett potenciális elterjedési terület (citromsárga).

4.5 Az aktivitási periódus hossza

Az aktivitási periódus hossza egyike a vektoriális betegségekkel történő emberi fertőződés legfontosabb tényezőinek. Az irodalom szerint a *P. neglectus* esetében az aktivitási küszöb: 13°C-os átlaghőmérséklethez kötődik (Lindgren 2006), ez a *P. papatasi* esetében 16°C (Colacicco-Mayhugh és mtsai. 2010), a *P. perniciosus* esetében pedig 15°C (Casimiro és mtsai. 2006).

A modell szerint a *P. neglectus* esetében a potenciális jelenlegi, 2011-2040 közötti és 2041-2071 közötti aktivitási időszakhosszai: 8, 8, 9 hónap Athénban és 5, 6, 6 Pécs környékén. A *P. papatasi* esetében ugyanez 4, 4, és 6 Athénban (Görögország) és 2, 3, 4 hónap Szegeden. A *P. perniciosus* esetében a hónapok száma: 7, 8, és 8 Málágában (Spanyolország), Magyarországon 6 hónap lenne, amihez mérten a havi felbontás nem mutat változást a jövőre nézve.

4.6 A vizsgált lepkeszúnyog fajok klimatikus igényeinek összevetése

A januári átlaghőmérsékletekkel szemben tanúsított tolerancia szerint a következő rangsor állítható fel: *P. tobbi*, *P. perfiliewi*, *P. neglectus* (-2.7 – -2.3 °C) > *P. sergenti*, *P. ariasi*, *P. papatasi* (-0.7 – -0.5 °C) > *P. similis* (-0.1 °C). A januári minimumhőmérsékletek szerinti rangsor: *P. perfiliewi* (-10 °C) > *P. ariasi*, *P. neglectus*, *P. tobbi* (-8.8 – -8 °C) > *P. sergenti* és *P. papatasi* (-7.2 – -6 °C), *P. similis* (-4 °C). A júliusi maximális csapadékhullás tekintetében: *P. ariasi* és *P. perniciosus* (87 – 78 mm) > *P. perfiliewi*, *P. neglectus* és *P. papatasi* (51 – 45 mm) > *P. sergenti*, *P. similis* és *P. tobbi* (24.3 – 23.1 mm).

5 ÉRTÉKELÉS

Eredményeink azt mutatják, hogy az 8, *leishmania* parazitát terjesztő lepkeszúnyog faj jelenlegi és jövőbeli potenciális elterjedési területében jelentős különbségek tapasztalhatók. A fő limitáló faktorok között megtalálható a téli minimum-hőmérséklet, a nyári átlaghőmérséklet és meglepően nagy szereppel bír a nyári csapadék, ami általában negatív hatással van a lepkeszúnyogok elterjedésére.

A jelenleg kifejezetten a nyugati vagy a keleti területekre korlátozódó fajok klimatikus jellemzői nem indokolják geográfiai szegregációjukat, ennek hátterében paleoklimatikus-domborzati tényezők sejthetők. Nyugat- és Közép-Európa számára 2 lepkeszúnyog faj (*P. ariasi*, *P. perniciosus*) jelent fenyegetést, addig Magyarországon a *P. papatasi*, *P. perfiliewii*, *P. neglectus*, *P. tobbi* terjedése várható a földrajzi barrierék figyelembe vételével. A legészakabbi területekre ennek megfelelően 2 faj eljutására van kilátás, de kisebb mértékben a *P. perfiliewi* északi irányú terjedése is valószínű Nyugat-Európában. Érdekes eredmény, hogy a várttal szemben az enyhe óceáni klíma ellenére modellünk a Benelux államokat nem tekinti potenciális élőhelyeknek a lepkeszúnyog fajok számára, köszönhetően ezen terület viszonylag hűvös, csapadékos nyarainak (>80-90 mm augusztusban).

Eredményeink megerősítik azt a feltevést, hogy hazánk speciális fekvésének, a Balkán-félsziget felé nyitott jellegének és a 3 domináns éghajlati hatásnak köszönhetően fokozottan érzékeny a klímaváltozás okozta hatások szempontjából. Európa északnyugati területei felé elsősorban Franciaország jelenti a kaput. Magyarország inváziós útvonal szerepe kevésbé tűnik jelentősnek, mivel a geografikus jellemzők (Kárpátok, Cseh-masszívum, Alpok) és az Európa keletebbi felére jellemző kontinentális klíma megnehezíti a vektorok északra történő terjedését.

Modelleredményeink megerősítik, hogy a délnyugati magyar megyékben leírt autochton, canine *Leishmaniasis* esetek mögött a vektor *Phlebotomus* fajok állandó jelenléte állhat. Várhatóan a XXI. századra hazánk klímája a vizsgált nyolc lepkeszúnyog fajból öt, valamint a legdélebbi megyékben a parazita számára is megfelelő lesz. Modellünk és néhány faj irodalomból ismert biológiai igényei alapján Magyarországon 2011-2070 között fajtól függően 1-2 hónappal fog meghosszabbodni a fajok potenciális aktivitási időszaka.

Modellezésünk eredményei jó egyezést mutatnak a fajok jelenlegi elterjedési területeivel, a modellben megjelenő többlet területek nagysága sok esetben annak a következménye, hogy földrajzi barrierék miatt egyes fajok jelenleg csak a Földközi-tenger keleti vagy nyugati medencéjében találhatók meg.

Azt mindenképpen tekintetbe kell venni, hogy a földrajzi elterjedés határát egy adott területen egy adott faktor határozza meg, ami attól függően változhat, hogy milyen éghajlati dominancia érvényesül. A modell egy adott faj esetében területenként más-és más faktorokat tekinthet limitálónak. Az óceáni klímájú területeken az alacsony júliusi átlaghőmérséklet és a nyár csapadékos volta a fő limitáló tényezők. Kelet felé haladva, ahogy nő a kontinentalitás mértéke, úgy kerül előtérbe a januári átlaghőmérséklet és az abszolút minimumhőmérsékletek szerepe a fajok elterjedésének szempontjából. A kárpát-medencei klíma a jelek szerint kiegyensúlyozott ebben a tekintetben, ennek ellenére az ország nyugati felén érvényesülő óceáni hatás a hűvösebb nyarak miatt elterjedési akadályt képezne a *P. neglectus* számára, ami az óceáni területekről származó *P. perniciosus*-nak nem képezne elterjedési határt az ország nyugati területein.

Eredményeink összhangban vannak az irodalommal, miszerint a klímaváltozás hatására várhatóan északi irányba fog távolulni a lepkeszúnyog fajok elterjedési területe, köszönhetően a jövőben várható enyhébb teleknek és a hosszabb és melegebb vegetációs periódusnak (Fischer és mtsai. (2010, 2011a, 2011b). Kisebbséget, Fischer és mtsai. (2011a) hasonló témájú modellezése szerint a Benelux államok is a lepkeszúnyog fajok északi irányú terjedési útvonalába tartoznának, ezt saját modellünk nem támasztja alá. Kennewick és mtsai. (2010) véleményét osztva a lepkeszúnyog fajok kerülnek a rövid, csapadékos és hűvös nyári területeket. Ugyanez az oka annak, hogy a kiegyenlített klímájú Ír-félszigeten nem várható a modell szerint megjelenésük a vizsgált időszakban. A *P. ariasi* és a *P. perniciosus* megjelenése várható Nyugat-Európában, valamint a XXI. század második felére e két faj elterjedése megközelítheti, sőt akár el is érheti a Balti-tenger déli partvonalát ÉSZ 49°-ÉSZ 59°-ig. A *P. papatasi* a *P. similis*-nél és *P. sergenti*-nél jóval nagyobb mértékben képes alkalmazkodni a kontinentálisabb körülményekhez a modell alapján, és potenciálisan esély van arra, hogy Magyarország területén elterjedjen a XXI. században.

Nem tartottuk fontosnak terjedési útvonalak kirajzolását, mivel ma már nem képeznek elháríthatatlan akadályt a földrajzi barrierek (hegységek, tengerek stb.). Egyet kell értenünk **Walther és mtsai. (2009)** azon megállapításával, miszerint az közúti transzport ma már egyenlő mértékű szerepet tölthet be az ízeltlábú fajok terjedésében, mint a természetes terjedés. Jó példa erre, hogy **Neghina és mtsai. (2009)** igazolták, hogy maga a *Leishmania* és a vektor parazita vendégmunkások vagy a nyaralásra vitt kutyák által milyen gyorsan képes legyőzni nagy távolságokat és jelentős földrajzi akadályokat.

6. ÖSSZEGRZÉS

Magyarország kiemelten veszélyeztetett területnek tűnik, mivel a vizsgálatba vett 8, *Leishmaniát* terjesztő faj közül 6 esetében Magyarország nagy részét potenciális elterjedési területnek jósolja a modell. Németországot és Angliát a *P. ariasi* és a *P. perniciosus* kolonizálhatja a vizsgált öt fajból a 2070-es évekig. A Balkán-félszigettől kiindulva térségünkben Magyarország képezi a vizsgált lepkeszűnyogok északi elterjedési határát Kelet-Közép-Európában. Délnyugati határmegyéink klímája már jelenleg is több lepkeszűnyog faj számára megfelelő életteret biztosítana, ennek fényében érthető, hogy már észlelték a lepkeszűnyog fajok jelenlétét, sőt, maga a *Leishmania* parazita hazai előfordulását is kutyákban (**Farkas és mtsai. 2011, Tánczos és mtsai. 2012**). Meglepő módon a vizsgált lepkeszűnyog fajok jelenlegi elterjedésében észlelt különbségek magyarázatában hidegtűrésük másodlagos szerepet tölt be, a nyári csapadék a legmeghatározóbb faktor. A fentebbiekből következik, hogy sajnálatos módon a klímaváltozás hatására szárazabbá és melegebbé váló nyaraink egyre inkább kedvezni fognak a lepkeszűnyogoknak hazánkban.

Köszönetnyilvánítás

A kutatáshoz nyújtott önzetlen segítségéért köszönet illeti Horváth Leventét és Hufangel Leventét (Budapesti Corvinus Egyetem, Matematikai és Informatikai Tanszék), valamint Bobvos Jánost és Páldy Annát (Országos Környezetegészségügyi Intézet). A kutatást a TÁMOP-4.2.1/B-09/1/KMR-2010-0005 és a TÁMOP 4.2.2/B-10/1-2010-0023 projekt támogatta. Az ENSEMBLES-adatokat az Európai Unió FP6-ENSEMBLES integrált projektje finanszírozta, melyet hálásan köszönünk.

IRODALOMJEGYZÉK

1. Aspöck, H., T. Gerersdorfer, H. Formayer, J. Walochnik. 2008. Sandflies and sandfly-borne infections of humans in Central Europe in the light of climate change. *Wiener klinische Wochenschrift*. 120(4): 24-29
2. Casimiro E, J. Calheiros, F.D. Santos, S. Kovats. 2006. National assessment of human health effects of climate change in Portugal: approach and key findings. *Environ Health Perspect*. 114(12): 1950-1956.
3. Chamaillé, L., A. Tran, A. Meunier, G. Bourdoiseau, P. Ready, J.P. Dedet. 2010. Environmental risk mapping of canine leishmaniasis in France. *Parasites & Vectors*. 3: 31.
4. Colacicco-Mayhugh, M.G., P.M. Masuoka, J.P. Grieco. 2010. Ecological niche model of *Phlebotomus alexandri* and *P. papatasi* (Diptera: Psychodidae) in the Middle East. *International Journal of Health Geographics*. 9: 2
5. Farkas, R., B. Tánczos, G. Bongiorno, M. Maroli, J. Dereure, P.D. Ready 2011. First surveys to investigate the presence of canine leishmaniasis and its phlebotomine vectors in Hungary. *Vector Borne Zoonotic Dis*. 11: 823-34.
6. Fischer, D., P. Moeller, S.M. Thomas T.J. Naucke, C. Beierkuhnlein 2011a. Combining climatic projections and dispersal ability: a method for estimating the responses of sandfly vector species to climate change. *PLoS Negl Trop Dis*. 11: e1407.
7. Fischer D., S.M. Thomas and C. Beierkuhnlein (2011b): Modelling climatic suitability and dispersal for disease vectors: the example of a phlebotomine sandfly in Europe. *Procedia Environmental Sciences*. 7: 164–169.
8. Fischer, D., S.M. Thomas, C. Beierkuhnlein. 2010. Temperature-derived potential for the establishment of phlebotomine sandflies and visceral leishmaniasis in Germany. *Geospatial Health*. 5(1): 59-69.
9. GISCO - Eurostat (European Commission) 2012. epp.eurostat.ec.europa.eu/portal/page/portal/gisco_Geographical_information_maps/popups/references/administrative_units_statistical_units_1. Last accessed: 2012.11.21
10. Jacob, D. 2011. A note to the simulation of the annual and inter-annual variability of the water budget over the Baltic Sea drainage basin. *Meteorology and Atmospheric Physics*. 77(1-4): 61-73.
11. Jacob, D., R. Podzun. 1997. Sensitivity studies with the regional climate model REMO. *Meteorology and Atmospheric Physics*. 63(1-2): 119-129.

12. Killick-Kendrick, R. 1990. Phlebotomine vectors of the leishmaniasis: a review. *Medical and Veterinary Entomology*. 4: 1-24.
13. Köhler, K., M. Stechele, U. Hetzel, M. Domingo, G. Schönian, H. Zahner, E. Burkhardt. 2002. Cutaneous leishmaniasis in a horse in southern Germany caused by *Leishmania infantum*. *Vet Parasitol.* 16(109): 9-17.
14. Léger, N., J. Depaquit, H. Ferté, J.A. Rioux, J.C. Gantier, M. Gramiccia, A. Ludovisi, A. Michaelides, N. Christophi, P. Economides 2000. Phlebotomine sandflies (Diptera: Psychodidae) of the isle of Cyprus. II – isolation and typing of *Leishmania* (*Leishmania infantum* Nicolle, 1908 (zymodeme MOM 1) from *Phlebotomus* (*Larrouius*) *tobbi* Adler and Theodor, 1930. *Parasite*. 7: 143-146.
15. Lindgren, E., T. Naucke. 2006. Leishmaniasis: Influences of Climate and Climate Change Epidemiology, Ecology and Adaptation Measures. In: B. Menne and K. L. Ebi (eds.), *Climate change and adaptation strategies for human health*. Steinkopff Verlag, Darmstadt. pp 131-156.
16. Minter, D. M. 1989. The leishmaniasis. In: *Geographical distribution of arthropod-borne diseases and their principal vectors*. WHO, Geneva (document WHO/VBC/89.967)
17. Solano-Gallego, L., H. Fernández-Bellón, R. Serra, M. Gállego, A. Ramis, D. Fondevila, L. Ferrer. 2003. Cutaneous leishmaniasis in three horses in Spain. *Equine Vet J.* 35: 320-323.
18. Naderer, T., M.A. Ellis, M.F. Sernee, D.P. De Souza, J. Curtis, E. Handman, M.J. McConville. 2006. Virulence of *Leishmania major* in macrophages and mice requires the gluconeogenic enzyme fructose-1,6-bisphosphatase. *PNAS*. 103(14): 5502-5507.
19. Neghina, R., A.M. Neghina, C. Merkle, I. Marincu, R. Moldovan, I. Iacobiciu. 2009. Importation of visceral leishmaniasis in returning Romanian workers from Spain. *Travel Med Infect Dis.* 7: 35-39.
20. Pennisi, M. G. 2002. A high prevalence of feline leishmaniasis in southern Italy. In R. Killick-Kendrick (ed.), *Canine leishmaniasis: moving towards a solution. Proceedings of the Second International Canine Leishmaniasis Forum Seville, Spain*. Intervet International, Boxmeer, The Netherlands. pp. 9-48.
21. Roeckner E., G. Bäuml, L. Bonaventura, R. Brokopf, M. Esch, M. Giorgetta, S. Hagemann, I. Kirchner, L. Kornblueh, E. Manzini, A. Rhodin, U. Schlese, U. Schulzweida, A. Tompkins. 2003. *The atmospheric general circulation model ECHAM 5. Part I: Model description*. Max-Planck-Institut für Meteorologie, Hamburg, Germany.
22. Roeckner E., R. Brokopf, M. Esch, M. Giorgetta, S. Hagemann, L. Kornblueh, E. Manzini, U. Schlese, U. Schulzweida. 2004. *The atmospheric general circulation model ECHAM 5. PART II: Sensitivity of Simulated Climate to Horizontal and Vertical Resolution*. Max-Planck-Institut für Meteorologie, Hamburg, Germany.
23. Sánchez, M., J. Hervás, F. Chacón, J. Gómez, J. Luicentes, J. Castrillo, R. Pérez, F. Pascual, F. Pascual. 2000. Evaluación del gato común (*Felis catus domesticus*) como reservorio de la leishmaniasis en la cuenca mediterránea [Evaluation of cats (*Felis catus domesticus*) as reservoir of *Leishmania* in the Mediterranean]. *Revista Técnica Veterinaria, Pequeños Animales*. 24: 46-54
24. Strengers B., Leemans R., Eickhout B., de Vries B., Bouwman L. 2004. The land-use projections and resulting emissions in the IPCC SRES scenarios as simulated by the IMAGE 2.2 model. *GeoJournal*. 61:381-393
25. Shaw, S.E., A. Lerga, S. Williams. 2003. Review of exotic infectious diseases in small animals entering the United Kingdom from abroad diagnosed by PCR. *Vet. Rec.* 152: 176-77.
26. Tanczos, B., N. Balogh, L. Király, I. Biksi, L. Szeredi, M. Gyurkovsky, A. Scalone, E. Fiorentino, M. Gramiccia, R. Farkas. 2012. First record of autochthonous canine leishmaniasis in Hungary. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 12: 588-594.
27. VBORNET maps – Sandflies. 2012. ecdc.europa.eu/en/activities/diseaseprogrammes/emerging_and_vector_borne_diseases/pages/vb_or_net_maps_sandflies.aspx?MasterPage=1. Last accessed: 2012.11.23.
28. Walther G.R., A. Roques, P. E. Hulme, M.T. Sykes, P. Pyšek, I. Kühn, M. Zobel, S. Bacher, Z. Botta-Dukát, H. Bugmann, B. Czúcz, J. Dauber, T. Hickler, V. Jarošík, M. Kenis, S. Klotz, D. Minchin, M. Moora, W. Nentwig, J. Ott, V. E. Panov, B. Reineking, C. Robinet, V. Semchenko, W. Solarz, W. Thuiller, M. Vilà, K. Vohland, J. Settele 2009. Alien species in a warmer world: risks and opportunities. *Trends in Ecology and Evolution*. 24(12): 686–693.
29. WHO. 1984. The leishmaniasis: report of an expert committee. *WHO Tech Rep Ser* 701: 1-140.

„Felnöttem már. Szaporodik fogamban
az idegen anyag,
mint szívemben a halál.”
(József Attila)

BEVEZETÉS

Szépen mutatja a poeta doctusként is ismert József Attilától vett idézet, hogy az életkor előre haladtával nem csak a koszorúerek fokozott elmeszedése jellemző szervezetünkre,¹ hanem fogaink állapota is – testünkben talán legszembetűnőbb módon – romlik. Fogsorunk bár nem kíséri végig életünket, mégis olyan konstansnak tekinthető testrész, amelynek jelenléte is és hiánya is számos aggályt és ugyanígy számos lehetőséget tételez fel.

Nehéz megkérdőjelezni a fogazat alapján történő azonosítás létjogosultságát és eredményességét, hiszen több helyen olvashatunk róla, hogy az itt található képletek polimorfizmusa épp olyan nagyfokú, mint az ujjnyomatoké. Míg azonban az ujjnyomatot adó bőrléc rajzolat a tűz, savak, esetlegesen gyógyszerek vagy mechanikai ártalom hatására eltűnhet, addig a fogazat rendkívüli ellenállóságról tesz tanúbizonyságot, így tömegszerencsétlenségek, tűzvészek² esetén is releváns eredmények érhetők el alkalmazásával. A fogazat, mint egyedi – azonosításra alkalmas – jelleg, ember esetén egy viszonylag állandó kvalitásként fogható fel, mely tovább növeli az eljárás értékét. Így kerülhetett sor például Schiller és Hitler maradványainak azonosítására.³ Szabálytalan fogsora juttatta villamosszékre Ted Bundy amerikai sorozatgyilkost.

1. AZ ELJÁRÁS TERMÉSZETTUDOMÁNYOS HÁTTERE

A fog dentinből, cementből és zománcból épül fel, míg belsejét az úgynevezett fogpulpa tölti ki. A ektodermális eredetű zománc keményebb a mezodermális⁴ eredetű dentintől, olyan behatások eredményeként, mint az állandó téglavagy cukorpor, cementpor, savgőzök felritkulhat, tűz hatására fényét veszti, bemattul, színe barnássá válik.⁵ A felnőtt fogsor 32 fogból áll, amely kvadránsenként 2 metszőfog, 1 szemfog, 2 kisírlőt és 3 őrlőfog jelent. Ezzel szemben a tejfogakból álló fogazat 20 fogból áll, kvadránsenként 2 metszőfog, 1 szemfog és 3 őrlőfog tartalmaz.⁶ A pulpa jelentősége az azonosítás tekintetében, hogy az oszlás itt viszonylag későn indul meg, annak speciális elhelyezkedése miatt.⁷ Gazdag érhálózatának köszönhetően kiváló mintául szolgálhat vércsoport vizsgálatok lefolytatásához.⁸ Y kromoszóma kimutatására is lehetőséget biztosít, így az elhunyt neme is meghatározható.⁹ Ez a vizsgálat a vérkeringés leállta utáni négy hétben végezhető nagy biztonsággal, az ötödik hónap után eredmény már semmilyen formában nem várható tőle. Gyakorlati jelentősége, hogy egyes esetekben a kiföldelt hantok, extrém körülmények között fellelt tetem azonosításához is eszközül szolgálhat. Az ajkak lágy szövetének csekély fogvédő képessége miatt a frontfogak fokozottan ki vannak téve a külső hatásoknak. Sérülékenységiük azonban nem csak ezzel magyarázható, hanem azzal is, hogy a fogak törékenysége arányos a fogat felépítő anyagok mennyiségével.¹⁰ Egyes esetekben a fogkö összetételéből is következtetni lehet a elhunyt foglalkozására. Például a magas vas-oxid tartalom kimutatható az üvegfűvők esetében.

Az úgynevezett Mühlreiter jelek (1870!) alapján egy már kihúzott/elvesztett fogról is megállapítható, hogy az a fogív jobb vagy bal oldalából származott –e. A szögletjel, a gyökérjel és a

¹ „szívemben a halál”: az elmeszedett koszorús erek következtében fokozódik az ék alakú elhalás vagyis az infarctus kockázata, amely halálos kimenetelű is lehet.

² BÖHMER K.: Identifikation nach Verbrennung. In: *Deutsche Zeitschrift für die gesamte gerichtliche Medizin*, Berlin, 1932, 250-269 pp.

³ MEYER Heinrich: Die Bedeutung der Zahn-, Kiefer-, und Okklusionsanomalien und der Zahnbehandlungen für die Identifikation der Person. Ein Überblick. *Deutsche Zeitschrift für die gesamte gerichtliche Medizin*, Berlin, 1933, 362.-378.pp.

⁴ KOCIS-SAVANYA Gábor: A fog meghatározása, részei. In: *Odontológia*. Jatepress, Szeged, 2011. 15.p.

⁵ GEBHARDT Hans: Verbrennungserscheinungen an Zähnen und Zahnersatz und ihre gerichtsärztliche Bedeutung für die Identifizierung Verbrannter Leichen. In: *Deutsche Zeitschrift für die gesamte gerichtliche Medizin*, Berlin, 1923, 191.-209.pp.

⁶ MADEA – DETTMAYER: Thanatologie. In: *Basiswissen Rechtsmedizin*. Springer Medizin Verlag. Heidelberg. 2007. 90.p.

⁷ HENKE J. – BAUER L. – SCHWEITZER H.: Gm-, Km und EsD-Bestimmungen an der Zahnpulpa menschlicher Leichen. In: *Zeitschrift für Rechtsmedizin*. Springer Verlag, Berlin, 1982. 271.-276.pp.

⁸ SÖRUP Alexander: Odontoskopie, ein Zahnärztlicher Beitrag zur gerichtlichen Medizin. In: *Deutsche Zeitschrift für die gesamte gerichtliche Medizin*, Berlin, 1924, 529.-532. pp.

⁹ HUNGER Horst – LEOPOLD Dieter: Bißspuren. In: *Identifikation*. Springer Verlag, Berlin – Heidelberg – New York, 1978. 304 p.

¹⁰ GEBHARDT Hans: op.cit. 198.p.

görbületi jel is mind olyan sajátosság, amely a fogfelismerést rendkívül egyszerűen és költségmentesen teszik lehetővé. A gyökérjel kapcsán érdekes tény, hogy a fog gyökere nem egyenes, hanem megdől arra az oldalra, ahol a fog található.¹¹

2. A POLIMORFIZMUS

Beszélhetünk egyedi sajátosságokról a természetes rendellenességek körében: ilyen a torzió, torlódás, számfeletti fog, egyes fogak vagy fogcsoportok hiánya, (amely elváltozások maradandó fogaknál gyakoribbak, mint tejfogaknál) fogösszenövés, kettőzött fogak (ikerképződés), a fog összetevőinek szerkezeti eltérése, számfeletti gyökér, csökkent fejlettség, óriásfog, törpefog, rotáció (amikor is a fog saját hossz tengelye körül fordul el vagy oldalra dől vagy mesio distalis tengelyén mozdul el), porlékony zománc, zománcchiány, fogdőlés, friss fogvesztés. A fogvisszamaradás leginkább a bölcsesség és szemfogakra jellemző, míg előbbinek jellemzően az állkapocs mérete az oka, utóbbit a hosszabb előtörési úttal indokolják. Itt kell megemlíteni, hogy a diastema is azonosításra alkalmas jelleg lehet. Ettől gyakrabban fordulnak elő az úgy nevezett harapási rendellenességek.

Az attritio (fiziológias kopás) természetes folyamat, azonban az abrasio (patológias kopás), amely például rossz szokások, egyes munkakörülmények hatására jön létre segíthet minket az azonosításban. Ilyen mechanikai hatás következtében létrejövő egyedi sajátosságok a foglakozás hatására kialakuló deformitás fúvós hangszeren játszó zenészeknél (például klarinétosoknál), üvegfúvóknál, cipészeknél és a varrónőknél. Megfigyelhető a tűvel és szöggel dolgozók esetében (szabók, varrónők), hogy foguk a foglalkozási szokás hatására (foguk között tartják a tűt) deformításokat szenved. Ezen elváltozások helyéből következtetést lehet levonni az elhunyt jobb vagy balkezességére vonatkozóan.

A fogtömések anyaga alapján történő azonosítási lehetőséget a szerző megkérdőjelezi. Míg a 60-as években megjelent közlemény az azonosítás tekintetében a tömés anyagának meghatározásától is eredményt remél - és maga a fogászati szakértő is ekképp foglalkozik állást¹² addig ma már azt kell mondanunk, hogy az egységes „konzumtömések” az egyediesítés eme módját már nem teszik lehetővé.¹³

Léteznek feltevések arra vonatkozóan, hogy a vidéki és a városi lakosság (illetve hasonló gondolatvezetés révén) a fejlett és a fejlődő országok lakosságának fogzatában – a fogvesztés terén jellegzetes a különbség. Az eltérő anyagi helyzet, a körülmények, anyagok és például a társadalombiztosítás nyújtotta lehetőségek szolgálnak eme elmélet alapjául. Más szerzők úgy nyilatkoznak, hogy szignifikáns eltérés nem érzékelhető.¹⁴

3. ALKALMAZHATÓSÁG

3.1. Univerzális eljárás az áldozatok azonosítására, hiszen alkalmazható

3.1.1. Kormeghatározásra,

Általános tétel, hogy a gyermekek fogai kisebbek és világosabbak a felnőttekétől, felszínükön a zománc egyenletesebb. A fogváltás szükséges jelenség, melyet a gyermekek fogainak gyorsabb kopása is indokol. Az életkor meghatározásánál az első korcsoportban a fogak előtörése lehet szignifikáns kiindulási alap. A tejfogazat a hatodik és a harmincadik hónap között fejlődik ki teljes egészében. Nagyobb bizonyossággal saccolható meg az életkor a fogváltás lezárultával. A maradandó fogazat végleges kialakulása (gondoljuk a bölcsességfogakra) különösen hosszú időt vesz igénybe. Azonban jelentősége lehet, hogy a fogváltás idején is megfigyelhetőek a használattal együtt járó elváltozások: a különböző kopások, caries (gondoljunk a gyermekek színes fogtöméseire), a gyökéren található dentin felritkulása. A gyökér transzparenciája a dentin csatornák beszűkülésének következtében különösen idősebb korú elhunyt esetén lehet segítségünkre.¹⁵ Minél idősebb valaki annál jobban zsugorodik a fogmedernyúlványa.¹⁶ Különösen szemléletes lehet ez akkor, ha az elhunyt nem rendelkezik fogakkal. Az életkor meghatározásánál azonban jelzi a szakirodalom, hogy még akkor is, ha fogászati szakértőt vonnak be, nem ritkán +/- 5 év pontossággal¹⁷ tudják csak az elhunyt életkorát meghatározni.

3.1.2. A nem feltárására,

¹¹ KOCIS-SAVANYA Gábor: Felismerési (Mühlreiter) jelek. In: *Odontológia*. Jatepress, Szeged, 2011. 25.p.

¹² <http://fogaszatiszakerto.hu/fogaszati-szemelyazonositas-a-fogazat-egyedisege.html> (Megtekintés ideje: 2013.03.03.)

¹³ HARSÁNYI László – FÖLDES Vilmos: A fogorvosi adatok szerepe a személyazonosításban. In: *Orvosszakértői személyazonosítás*, BM Tanulmányi és Képzési Csoportfőnökség, Budapest, 1968. 69.p.

¹⁴ HUNGER Horst – LEOPOLD Dieter: op.cit. 300.p

¹⁵ <http://fogaszatiszakerto.hu/fogaszati-szemelyazonositas-életkor-meghatározása-fogazat-alapjan.html> (Megtekintés ideje: 2013.03.03.)

¹⁶ BUHTZ – EHRHARDT: Die Identifikation von Bißwunden. In: *Deutsche Zeitschrift für die gesamte gerichtliche Medizin*, Berlin, 1938, 453.-468.pp.

¹⁷ HUNGER Horst – LEOPOLD Dieter: op.cit. 298.p.

A női állkapocs súlya negyedével (kb. 20 grammal) kevesebb a férfi állkapocstól.¹⁸ Nők esetében mindkét állkapocs íve elliptikus, míg férfiak esetében egyenetlen. A dentin mennyisége nők esetén több, ez különösen a kisírlők és az írlőfogak viszonylatában lehet erőteljes eltérés.¹⁹ Míg nők esetében a szám alatti fog, addig férfiak esetében a szám feletti fog gyakori anomália.

3.1.3.A holttest klasszifikációjára,

1965 óta tudjuk, hogy a fog mérete populációgenetikailag determinált. Lehetséges tehát a fogazat alapján történő azonosítás terén is klasszifikációról, például rasszok szerinti különbségekről beszélni. A felső metszőfogak alakja alapján rasszba sorolható a fogsor tulajdonosa. Az európai és negrid rasszokba tartozók esetén rendkívül ritka, míg mongoloidok esetén gyakori a nevezett fog lapát alakja.²⁰ Ennek oka a fog szélein a zománcélek erősödése.²¹

3.1.4.Az életvitel meghatározására,

A fogazat állapotából az elhunyt életvitelére vonatkozóan is vonhatóak le következtetések: erózió, dohányzás. Mint az azonosításnál általában itt is jelentősége van a műtéti hegeknek, sérüléseknek.

3.1.5.Kezelt beteg azonosítására,

Ha rendelkezésre áll a fogászati kezelőlap illetve a fogászati gondozási napló, természetesen a tömések, koronák, hidak, protézisek, egyéb fogművek, fejlődési rendellenességek, akár a zománc kopásának mértéke is ismertté válhat. Ennek alkalmazására általában csak extrém körülmények esetén lehet eredményes (például egy veleszületett teljes foghiány). Ugyanígy egy panoráma röntgen is nagy segítség lehet az azonosítás során, ha az nagymértékben egyedi.²²

4. TŰZ ÉS VÍZ

Az arc anatómiai sajátosságai révén a tűznek a felső frontfogak vannak fokozottan kitéve, míg a fogazat többi eleme a lágyrészek elhelyezkedése és a három pár nyálmirigy által termelt váladék miatt nem tekinthető kifejezetten sérülékenynek. Tűz hatására a dentincsövek szabálytalanná és szélessé válnak.²³ Korábbi kutatások bizonyították a fogak tűzzel szembeni ellenállóságával kapcsolatban, hogy a tejfogak eme tulajdonsága a maradandó fogakét nem előzi meg.

Izgalmas kérdéskör az élőben és halotton keletkezett elváltozás elhatárolása a fogazat esetében is, Gebhard kísérletei alapján eldönthető ugyanis, hogy tüzeset okozta –e a halált, vagy egy korábban elhunyt személy tetemét gyújtották –e fel.²⁴ Előbbi esetben a roncsolás sokkal súlyosabb, a fogak csak ritka esetben találhatók a fogmederben. Míg utóbbi esetben a fogak az állkapocsban találhatók. Tejfogak esetén fenntartásokkal kezelendő ez a megközelítés. Az, hogy tűz hirtelen pusztított –e vagy kevésbé agresszív, de tartós volt kardinális jelentőséggel nem bír, igazán a hőmérséklet lehet fontos. Míg 1000-1100 °C hőmérsékleten egy 10 perces behatás során az arc lágyrészei felületükön szenesednek, mélyebb rétegeikben a fehérjék szerkezete irreverzibilisen megváltozik, az arc csontjainak felülete kalcinálódnak, addig a fogak felülete feketén fénylővé válik, a zománc csak részletekben pattogzik le, az így szabaddá váló dentin is feketévé válik. A fogak jelentős károsodása (megsemmisülése) ezen a hőmérsékleten több mint 45 perces égetés esetén következhet be. Természetesen nem csak a fogak színére van hatással ez a hőmérséklet, hanem a szerkezeti sajátosságokra is. A csontokhoz hasonlóan kalcinálódnak, vagyis a szerkezetükben megkötött víz eltávozik a magas hőmérséklet hatására. Szerkezetük ekkor porózussá válik, ellenállóságuk a töredékére csökken. Ekkor lágyrészekről már nem, csupán hamuról beszélhetünk. A hamvasztó kemencék hőmérséklete nem minden esetben éri el ezt az igen magas pontot, így az esetlegesen megmaradt fogazatot és csontokat tömörítik az égetés után.

Érdekességként megemlíthető, hogy a dentincsatornákba áramló eritrociták post mortem a fogat rózsaszínre színezik, ez az úgynevezett pink teeth syndrome. Jellemző hullámsírban nyugvó vagy fulladásos halálúakban elhunytakra. Első dokumentálására már 1829-ben sor került. A jelenség kialakulására valószínűleg inkább a fizikai, mintsem a kémiai viszonyok lehetnek hatással. Kialakulásának eshetősége természetesen összefüggésben van a fog porózus szerkezetével és egyéb szerkezeti sajátosságokkal is. Jellemző a nedves környezetben elhunytak fogazatára, így tipikusan a hajótörések áldozataira.²⁵ Vízben fellelt holttest esetén számolhatunk az egy gyökerű metszőfogak hiányával, mert bár a hullámsír a bomlást nagymértékben lassítja, ezek a gingiva rothadása révén mégis kiperegnek.

¹⁸BÖHMER K.: Identifikation nach Verbrennung. In: *Deutsche Zeitschrift für die gesamte gerichtliche Medizin*, Berlin, 1932, 263.p.

¹⁹HUNGER Horst – LEOPOLD Dieter: op.cit. 305.p.

²⁰HUNGER Horst – LEOPOLD Dieter: op.cit. 307.p.

²¹KOCSIS-SAVANYA Gábor: Maradandó fogak morfológiája. In: *Odontológia*. Jatepress, Szeged, 2011. 33.p.

²²MADEA – DETMEYER: op.cit. 90.p.

²³GEBHARDT Hans: op.cit. 194.p.

²⁴GEBHARDT Hans: op.cit. 201.p.

²⁵<http://www.medwelljournals.com/fulltext/?doi=rjbsci.2011.124.127> (Megtekintés ideje: 2013.03.03.)

4.1 Alkalmazhatóság a tettesek azonosítására: a harapási nyomok

„Miért szagatnám fogaimmal testemet”

(Jób 13,14)

A harapási nyomok felosztása szerint emberi és állati harapási nyomokat különböztethetünk meg, előbbi esetben a nyomhordozó alapján élő emberen, holttesten vagy élettelen tárgyon keletkezett nyomról beszélhetünk.²⁶ Létezik olyan szakirodalom, amely az emberi bőrön képződött harapási nyomot harapási sebként nevesíti, ezzel a klasszifikációval is mutatva szignifikáns jellegét.²⁷ A holttesten található harapási nyomok többségében szexuális indíttatású bűncselekményekkel vannak összefüggésben, előfordulnak még jelentős számban egyéb erőszakos bűncselekmények kísérőjelenségeként is. A nőkön kívül a gyermekek képeznek még említésre méltó csoportot az áldozatok körében. Oka lehet a harapásnak az áldozat ártalmatlanná tétele, akár megfélemlítése is. A harapás helye, vagyis az adott testfelszín, ahol az található szintén sokat elárulhat a tettes motiváltságáról. Jellemzően ilyen terület a nyak és az arc, a kéz és az ujjak, a mellek.²⁸

Átharapási és ráharapási nyomokat különböztetünk meg. Az első esetben dinamikus, míg utóbbiban statikus nyomok képződnek.²⁹ Ember harapása esetén a harapási gyűrű nem olyan kifejezett az állkapcsok elhelyezkedéséből adódóan. Kiálló testrészek esetén, mint amilyen az orr vagy a fül nem elképzelhetetlen a leharapás sem. Nem minden esetben igaz az, hogy minél mélyebb egy harapás, annál könnyebb az azonosítás. A nyomról leírás és fénykép készül, ha a lenyomatot őrző tárgy alkalmas a megmintázásra vagy a preparálásra, akkor a mintát így őrzik meg további vizsgálatok elvégzéséhez. A lehető leggyorsabb eljárás szükséges, hiszen a nyomok néhány órán belül eltűnnek, megátolva ezáltal az azonosítást. Vannak azonban olyan nyomok, amelyek a regenerálódási fázisban láthatóak tisztábban, így a szakértő azt javasolja, ne csak egy alkalommal készüljön felvétel a sérülésről.³⁰ A harapási nyom minimum életnagyságú, speciális vonalzó mellett készült fényképmásának összevetése a meglévő fogazattal, már 3-4 fog esetén sikeresnek kell lennie. Jellemzően a metsző és szemfogak nyomaival találkozhatunk.³¹ Extrém esetben előfordulhat, hogy egy darab kifejezetten jellegzetes fog lenyomata is elég lehet az azonosításhoz.

5. AZ ELJÁRÁS KÖLTSÉG-HASZON RELÁCIÓJA MÁS AZONOSÍTÁSI ELJÁRÁSOKHOZ VISZONYÍTVA

Mivel a PCR alapú DNS azonosítási technikák hitelességét megingatni nehéz, ezért ma még nem számíthatunk elsődleges helyet a fogazat alapján történő azonosításnak, annak ellenére, hogy a szakirodalomban többen egymástól függetlenül úgy nyilatkoznak, hogy a módszer a nagyfokú polimorfizmus miatt a daktiloszkópiával azonos rangot érdemel és képvisel, és eredményessége sem marad el attól. Mivel a fogászati kezelőlap és napló – amely már elektronikus rendszerben is vezethető – nincs még összekapcsolva a bűnügyi nyilvántartással (illetve a bűnügyi nyilvántartásnak sem eleme a fogtátság), a rendszer hatékonysága még messze nem maximális. Hasonlóan jó eredmények várhatóak az egyes fogművek egyedi azonosító sorozatszámával történő ellátása esetén. Bár a fogművek egyediesítésére a sorszámozás révén már több évtizeddel ezelőtt javaslatot tettek, a mai napig előrelépés nem látható e téren.

A plasztikus arcreekonstrukció az állkapocs – mint az arc karakterét markánsan alakító képlet – jellemző vagy esetlegesen jellegzetes pontjainak meghatározása nélkül nem képzelhető el.³² Szuperimpozíciós eljárás során alkalmazott frankfurti vízszintes beállítás itt is sikerrel alkalmazható.

Az azonosítás tekintetében különös jelentősége lehet, ha valóban bizonyítható, hogy a felső metszőfogak szélessége arányos az orr szélességével.³³

Mint általában a halottügy és különösen a holttest-azonosítás viszonylatában, a fogazat alapján történő azonosítás esetén is statisztikailag bizonyítható, hogy az eredmények pontosabbak, ha az adott szakterületen praktizáló, gyakorlott személy végzi az eljárást. Nagyobb pontossággal határozza meg tehát fogazat alapján egy gyermek életkorát egy fogászati szakértő, mint bármelyik orvossal. Az viszont szintén nem vitatható el, hogy a nem meghatározása esetén ez a reláció fordított.³⁴ S bár a holttest-

²⁶ HUNGER Horst – LEOPOLD Dieter: op.cit. 330.p.

²⁷ BUHTZ – EHRHARDT: op.cit. 456.p.

²⁸ HUNGER Horst – LEOPOLD Dieter: op.cit. 331.p

²⁹ TREMMEL Flórián – FENYVESI Csaba – HERKE Csongor: *Kriminálisztika tankönyv és atlasz*, második, javított és bővített kiadás, Dialóg Campus Kiadó, Budapest – Pécs, 2005, 73.p.

³⁰ <http://semmelweis-egyetem.hu/mediasarok/2011/03/31/zsaru-magazin-harapos-nyomok/> (Megtekintés ideje: 2013.03.02.)

³¹ BALLÁNE P.HD FÜRSZTER ERZSÉBET: Nyomtan - Különös rész. In: *Nyomtan és daktiloszkópiái alapismeretek*, Rejtjel Kiadó, Budapest, 2004. 38.p.

³² BÖHMER K.: Identifikation nach Verbrennung. In: *Deutsche Zeitschrift für die gesamte gerichtliche Medizin*, Berlin, 1932, 263.p.

³³ KOCIS-SAVANYA Gábor: A fog meghatározása, részei. In: *Odontológia*. Jatepress, Szeged, 2011. 32.p.

³⁴ HUNGER Horst – LEOPOLD Dieter: Bißspuren. In: *Identifikation*. Springer Verlag, Berlin – Heidelberg – New York, 1978. 317.p.

azonosítás legjobb eleme és jellemző ismérve az objektív tényfeltáró munka, sajnos ennél az eljárásnál sem tekinthetünk attól a szubjektív momentumtól, hogy eredményességét leginkább az azonosítást végző rutinja határozza meg.

IRODALOMJEGYZÉK:

1. BALLÁNÉ P.HD FÜRSZTER ERZSÉBET: *Nyomtan és daktiloszkópiai alapismeretek*, Rejtjel Kiadó, Budapest, 2004.
2. BÖHMER K.: Identifikation nach Verbrennung. In: *Deutsche Zeitschrift für die gesamte gerichtliche Medizin*, Berlin, 1932.
3. BUHTZ – EHRHARDT: Die Identifikation von Bißwunden. In: *Deutsche Zeitschrift für die gesamte gerichtliche Medizin*, Berlin, 1938.
4. ENDRIS R. – LAMPERT F.: Unbekannte Leichen: Identifizierung mit einem Informationspool aus Gebißdaten. In: *Zeitschrift für Rechtsmedizin*. Springer Verlag, Berlin, 1975.
5. FELSZEGHY Endre – PATONAY Lajos: Igazságügyi fogorvostan. In: SÓTONYI Péter: Igazságügyi orvostan. Semmelweis Kiadó. Budapest. 2005.
6. GEBHARDT Hans: Verbrennungserscheinungen an Zähnen und Zahnersatz und ihre gerichtsärztliche Bedeutung für die Identifizierung Verbrannter Leichen. In: *Deutsche Zeitschrift für die gesamte gerichtliche Medizin*, Berlin, 1923.
7. HARSÁNYI László – FÖLDES Vilmos: *Orvosszakértői személyazonosítás*, BM Tanulmányi és Kiképzési Csoportfőnökség, Budapest, 1968.
8. HENKE J. – BAUER L. – SCHWEITZER H.: Gm–, Km und EsD–Bestimmungen an der Zahnpulpa menschlicher Leichen. In: *Zeitschrift für Rechtsmedizin*. Springer Verlag, Berlin, 1982.
9. HUNGER Horst – LEOPOLD Dieter: *Identifikation*. Springer Verlag, Berlin – Heidelberg – New York, 1978.
10. KOC SIS-SAVANYA Gábor: *Odontológia*. Jatepress, Szeged, 2011.
11. MADEA – DETTMAYER: *Basiswissen Rechtsmedizin*. Springer Medizin Verlag. Heidelberg. 2007.
12. MEYER Heinrich: Die Bedeutung der Zahn-, Kiefer-, und Okklusionsanomalien und der Zahnbehandlungen für die Identifikation der Person. Ein Überblick. In: *Deutsche Zeitschrift für die gesamte gerichtliche Medizin*, Berlin, 1933.
13. SÖRUP Alexander: Odontoskopie, ein Zahnärztlicher Beitrag zur gerichtlichen Medizin. In: *Deutsche Zeitschrift für die gesamte gerichtliche Medizin*, Berlin, 1924.
14. TREMMEL Flórián – FENYVESI Csaba – HERKE Csongor: *Kriminalisztika tankönyv és atlasz*, második, javított és bővített kiadás, Dialóg Campus Kiadó, Budapest – Pécs, 2005.

Internetes források:

<http://www.medwelljournals.com/fulltext/?doi=rjbsci.2011.124.127> (Megtekintés ideje: 2013.03.03.)
<http://fogaszatiszakerto.hu/fogaszati-szemelyazonositas-eletkor-meghatarozasa-fogazat-alapjan.html>
(Megtekintés ideje: 2013.03.03.)
<http://fogaszatiszakerto.hu/fogaszati-szemelyazonositas-a-fogazat-egyedisege.html> (Megtekintés ideje: 2013.03.03.)
<http://semmelweis-egyetem.hu/mediasarok/2011/03/31/zsar-magazin-harapos-nyomok/>
(Megtekintés ideje: 2013.03.02.)

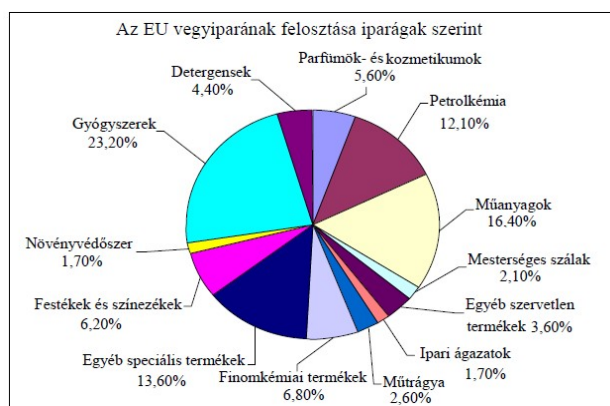
1. BEVEZETÉS

Napjainkban a hulladékképződés nem csak a mindennapi életben, hanem az iparban, így a vegyiparban is jelentős problémát jelent. A lakosság folyamatosan növekvő igényei a hulladékok mennyiségi növekedését vonja maga után. Az elmúlt száz évben, a tömeggyártás kialakulásának következtében többszöröződött a kibocsátott hulladékok mennyisége. Az új, a látens igényeket is kielégítő „tömegtermékek” előállítása sokszor a környezet-tudatosság és a hatékonyság rovására történik. Az óriási vállalatok sajnos még mindig úgy gondolják, hogy bármi áron ki kell tudni szolgálni a piaci igényeket, a keresletet. Olcsón, gyorsan és csak megfelelő minőségű terméket kell előállítani. E szemléletmód miatt, olyan gyártástechnológiákat is alkalmaznak, amelyek egységnyi mennyiségű termék előállítása során többszörös mennyiségű veszélyes, és nem veszélyes melléktermékek keletkezésével járnak (például növényvédőszer-gyártás). Ilyenkor a legnagyobb problémát a veszélyes melléktermékek hasznosítása jelenti. Természetes törekvés a melléktermékek visszaforgatása a gyártási folyamatba, vagy más technológiáknál másod-nyersanyagként történő hasznosítása. Ennek ellenére mindig marad olyan frakció, amely vagy hulladéklerakóban, vagy hulladékegetőben végzi be sorsát. Pontosan ez indokolja a termikus hulladék ártalmatlanítási technológiák tanulmányozását, összehasonlítását és rangsorolását. Az adott hulladékarám ártalmatlanítására legjobban alkalmazható, optimális technológia kiválasztását, egy olyan döntéstámogató- döntéshozó módszer segítségével célszerű elvégezni, amely nem csak környezetvédelmi, hanem technológiai, energetikai hatékonysági és gazdaságossági paramétereket is figyelembe vesz. Ezért szükséges az életciklus-elemzést kibővíteni, és egy új gyakorlatiasabb modellt kidolgozni. A modell alkalmazásával feltárhatók az egyes technológiák erősségei, és gyengeségei, valamint a technológiában rejlő lehetőségek és veszélyek. Az egyes technológiák közötti határok élesebbé tehetők, így lehetőségünk nyílik a döntéshozatal során a logikus, és egyben ésszerű döntés meghozására.

2. AZ EURÓPAI UNIÓ VEGYIPARÁNAK FELOSZTÁSA ÉS A VEGYIPARI HULLADÉKOK ÚJRAÉRTELMEZETT SZEMPONTOK SZERINTI CSOPORTOSÍTÁSA

Az Európai Unió vegyipara a 2012-es évben mintegy 539 milliárd eurós forgalmat lebonyolítva Kína (735 milliárd euró) után a második helyet foglalja el a világranglistán [forrás: CEFIC]. Mindezek alapján elmondható, hogy Európa vegyipari nagyhatalom. Magyarország részesedése az EU vegyiparán belül 0,9%-os, amely 4,851 milliárd eurós, azaz megközelítőleg 1.455 milliárd forintos forgalmat jelent. Így már érthető miért a vegyipar Magyarország egyik húzóágazata. De a vegyipar is tovább osztható iparágakra (1. ábra). Az IPPC¹ direktíva alapján a vegyipar részterületeit az alábbiak szerint lehet megadni:

- Szerves kémiai alapanyagok gyártása
- Szervetlen kémiai alapanyagok gyártása
- Foszfór, nitrogén, kálium alapú műtrágyák gyártása
- Növényvédőszer gyártása
- Gyógyszergyártás
- Robbanószer gyártása



Az iparágak mindegyikéről elmondható, hogy a termékeik legyártása közben igen jelentős mennyiségű mellék-termék keletkezik. Ezért a vegyipari hulladékok esetében is használatos a környezeti faktor jelzőszám, amely az egy kg termékre eső melléktermék mennyiségét adja meg (1. táblázat). Általában jellemző, hogy minél nagyobb a termelés nagyságrendje, annál kisebb a környezeti faktor. A vegyipari eljárások hulladékszegény technológiák, de léteznek extrém környezeti faktorral rendelkező technológiák is, mint például etilén-oxid előállítás [6].

1. ábra: Az Európai Unió vegyiparának

felosztása az iparágak részaránya alapján [forrás: saját szerkesztés CEFIC adatok alapján]

¹ IPPC: Integrated Pollution Prevention and Control, Integrál Szennyezés-megelőzés és Csökkentés

1. táblázat: Az iparágak és a környezeti faktor összefüggései [6]

Iparág	Termék mennyisége (t)	Környezeti faktor
Olajfinomítás	$10^6 - 10^8$	0,1
Vegyipari alapanyaggyártás	$10^4 - 10^6$	<1 – 5
Finomvegyszer-gyártás	$10^2 - 10^4$	5 – 50
Gyógyszergyártás	$10^1 - 10^3$	25 – 100 <

Viszont a keletkezett melléktermékeknek csak egy része hasznosítható, a megmaradó, azaz a hulladékká vált frakció további utókezelést igényel. Az utókezelés általában valamilyen hulladékkezelési technológia alkalmazását jelenti. A nem veszélyes komponenseket tartalmazó melléktermékek, hulladékok általában nem jelentenek problémát, mert az integrált hulladékgazdálkodási piramisban szereplő leginkább preferált eljárások, mint az újrahasználat, az újrahasznosítás és az újrafeldolgozás megfelelő megoldásnak bizonyulnak. Igazi problémát a veszélyes komponensek jelentenek, hiszen ezeknél a hulladékoknál a preferált eljárások szóba sem jöhetnek, ezért a kevésbé preferált megoldásokban kell gondolkoznunk. A szóba jöhető eljárások a hulladékok energetikai célú hasznosítása, valamint a lerakás és az égetés. Azonban a hulladékok lerakókban való elhelyezése nem jelent valódi megoldást, hiszen a lerakók száma és kapacitása véges. Mind emellé társul az is, hogy a lerakókban az évek, évtizedek alatt lejátszódó anyagátalakulási folyamatok eredményeként sokszor veszélyesebb anyagkomponensek keletkeznek, mint maguk a lerakott hulladékok. Ezért ezt a lehetőséget célszerű elkerülni a vegyipari hulladékok esetén.

A keletkező vegyipari melléktermékeket és hulladékokat több szempont szerint is lehet csoportosítani. Egyrészt a legegyszerűbb és egyben a legáltalánosabb csoportosítási mód alapján a keletkezett melléktermékek lehetnek szerves vegyületek, és nem szerves vegyületek. Ez tulajdonképpen mindent magába foglal. A halmazállapotuk alapján lehetnek:

- Por (gyógyszeripari porok, műanyagipari porok)
- Szilárd (salak, szilárd növényvédőszer hatóanyagok)
- Pasztaszerű (festékek, műgyanták)
- Iszapszerű (szennyvíziszap, nehézfémeket és vegyszereket tartalmazó iszap)
- Folyékony (híg műtrágya, parfümipari, és növényvédőszer folyékony hatóanyagai)
- Gáz (füst, vegyszerek gőzei)

Már egy kicsit szűkült a kör, de még mindig túl sokan tartoznak egy-egy csoportba. Egy újabb csoportosítási lehetőség az iparági származási helyük alapján történő besorolás. Az eredetük szerint lehetnek:

- Gyógyszeripari
- Petrolkémiai
- Műanyagipari
- Növényvédőszer-ipari...

Az iparági származás szerint történő besorolás, legtöbbször nem mond semmit, hiszen ugyan olyan összetételű melléktermék keletkezhet két egymástól teljesen független iparágban. Ezért e szempont alapján történő besorolást ki szokták hagyni a lehetőségek közül.

Másfelől a környezetre gyakorolt hatás és az összetétel alapján lehetnek veszélyes, és nem veszélyes mellék-termékek. Ha veszélyes, akkor tűz- és robbanásveszélyes, hajlamos erős reakciókra és hőfejlődésre. Tulajdonképpen ahány szakterület annyi féle csoportosítási szempont létezik. Emiatt az általános csoportosítási szempontok mellett célszerű bevezetni egy-egy vegyipari termék (technológia) esetén, a teljes életciklusára vonatkozó hulladékképződést. Ha a vegyipari termékek (technológiák) teljes életciklusát tekintjük, akkor a keletkezett hulladékokat a keletkezésük szakasza szerint három fő csoportba tudjuk sorolni. Az első főcsoportot a másodnyersanyagként már nem használható gyártásközi melléktermékek jelentik. Például a növényvédőszer-gyártási iparágban egy-egy technológia esetében a melléktermékek képződési aránya átlagosan 20%. Ez azt jelenti, hogy egyetlen tonna termék legyártása során mintegy 200kg melléktermék keletkezik. Az Európai Unióban évente átlagosan 250 millió kg növényvédőszert gyártanak le. Csak a gyártás során megközelítőleg 50 millió kg melléktermék keletkezik. Ha ezeknek a 90%-a hasznosítható, akkor is legalább 5 millió kg válik haszontalan hulladékká, amelyek legnagyobb része napjainkban veszélyes hulladéklerakók-ban, vagy veszélyes hulladékégetőkben végzik be sorsukat. Ráadásul ezt a jelentős mennyiséget a teljes vegyipar kevesebb, mint 2%-os részesedésű iparága produkálta! A második főcsoportot a végfelhasználását követően meg-maradó - feltételezhetően vegyipari anyagokkal szennyezett - csomagolóeszközök jelentik. Becslések szerint egy tonna termék

esetén átlagosan 50kg csomagolóeszközzel kell számolni. Ebbe a csoportba tartoznak azok a csomagoló-eszközök is, melyek csak közvetve érintkezhetnek a vegyipari termékekkel, mint például a szállításra használt raklapok. A harmadik, egyben az utolsó főcsoport maguk a hulladékká vált termékek jelentik. De ide lehetne még besorolni a feleslegessé váló gyártóeszközöket is. Az életciklus-szemlélet bevezetésével, sokkal át fogóbb képet lehet kapni a vegyipari termékek, technológiák és szolgáltatások valós kibocsátásairól. Tehát már a hulladékok csoportosításánál célszerű alkalmazni az életciklus szemléletet.

3. TERMIKUS HULLADÉK ÁRTALMATLANÍTÁSI TECHNOLÓGIÁK

A termikus hulladékkezelési eljárások tipikus reakciókörülményeik alapján történő összehasonlítása során, elsősorban négy szempontot veszünk figyelembe (2. táblázat). Azonban ez a négy szempont nem elegendő az adott hulladékáramunk ártalmatlanításához leginkább illeszkedő, optimális technológia kiválasztásához.

2. táblázat: Termikus kezelési eljárások tipikus reakciókörülményei [forrás: saját szerkesztés [1] [5] [8] alapján]

Eljárás	Hőm. (°C)	Égés levegő	Segédanyagok segédáramok	Főbb végtermékek
PIROLÍZIS (kicsi, közepes nagy és ultra nagy hőmérsékleten)	300÷2000	$\lambda = 0$ endoterm	inert gáz (pl. nitrogén)	pirogáz, piroolaj, pirokoksz
GÁZOSÍTÁS (kicsi, közepes nagy és ultra nagy hőmérsékleten)	800÷2000	$\lambda < 1$ parciális oxidáció oxidáló közegben	gázosító közeg pl. oxigén, vízgőz, levegő	szintézisgáz, szilárd /üvegesedett/ salak
PLAZMATECHNOLÓGIA	> 3000	$\lambda < 1$ parciális oxidáció oxidáló közegben	hűtővíz, semleges, oxidáló gázok	szintézisgáz, üvegesedett salak
HAGYOMÁNYOS ÉGETÉS	850÷1150	$\lambda > 1$ $\lambda = 1,5 \div 2,5$ exoterm	olaj/földgáz póttüzelés, levegő	füstgáz (<10% éghető), salak, pernye

A technológiák jellemző reakciókörülményeit vizsgálva megfigyelhető, hogy az egyes eljárások hőmérséklet-tartományai átfedik egymást. Mivel a vegyipari hulladékok termikus ártalmatlanítása során klórvegyületek keletkezhetnek - amelyek lebomlása teljes mértékben 1500°C felett történik meg -, ezért a kis és a közepes hőmérsékleti tartományokon alkalmazott technológiák jelentős környezeti kockázattal járnak. A hőmérséklet növelésével a technológiák környezetkockázati tényezője is csökken. Az égéslevegő tekintetében a hagyományos égetés jelentős levegőfelesleggel jár, a tökéletes égéshez szükséges oxigén mennyisége miatt. Ennek következménye, hogy jelentősen megnő a tisztítandó füstgáz mennyisége. Ezzel ellentétben a pirolízis a levegő teljes kizárása mellett lejátszódó folyamat. A pirolizáló berendezésben vagy vákuum uralkodik, vagy az oxigén kiszorítására nitrogén gázt alkalmaznak. A plazmatechnológia és a gázosítás oxidáló közegben, levegőfelesleg nélkül alkalmazott eljárás. A felhasznált segédanyagok, segédáramok típusa az égéslevegőtől függ. Gázosításnál leggyakrabban levegőt használnak gázosító közegként. Tiszta oxigén, vagy vízgőz alkalmazásával a keletkező szintézisgáz energiatartalma jelentősen növelhető. Plazmatechnológiánál vízgőz, vagy szén-dioxid és oxigén megfelelő arányú keverékével érhető el ugyanez a hatás. A keletkező végtermékek tekintve szükségesnek tartom megemlíteni, hogy a hagyományos égetés kivételével a másik három technológia haszontermékeket állít elő, amik a vegyiparban, az építőiparban, vagy az energiaiparban hasznosíthatók. A pirogázt és a szintézisgázt kazánban, vagy kogenerációs (gázmotor-generátor szett) egységben energiatermelésre használják, így a gáztermékek alkalmasak a földgáz kiváltására. A piroolaj alkalmazható finomítás után diesel üzemanyag kiváltására, vagy kenőolajként, hűtőolajként. A pirokoksszal szilárd tüzelőanyag, mint például a kőszén helyettesíthető, akár erőművekben, akár a kohászatban. A plazmatechnológia üvegesedett salakterméke az építőiparban útalapként, vagy éppen burkoló anyagként tehető hasznossá. Ezek alapján elmondható, hogy az új termikus hulladékkezelési technológiák végtermékei sokrétűen hasznosítható haszontermékek, amelyek ténylegesen alkalmasak fosszilis energiahordozók kiváltására, így a hulladék új fogalmat kap, mint egy megújuló energiaforrás.

Az Európai Unióban jelenleg 430 hulladékégető üzemel, amelyeknek csak töredéke alkalmas veszélyes hulladékok ártalmatlanítására. A legtöbb veszélyes hulladékégető Franciaországban, Németországban és Norvégiában működik. Jelentősebb alternatív üzemek [5] [8]:

- Németországban 8 veszélyeshulladék-égető üzemel pirolízis, vagy gázosítás elven.
- Norvégiában 5 veszélyeshulladék-égető alkalmaz gázosítási technológiát.
- Csehországban 3 veszélyeshulladék-pirolizáló üzemel.
- Magyarországon 3 üzem dolgozik kevert technológiával (pirolízis és hagyományos égetés).

A veszélyes hulladékok égetőművekben történő ártalmatlanítása mellett gyakran alkalmazott megoldás a hulladéklerakókban történő lerakás, ahol hasonló problémák lépnek fel, mint a hagyományos égetési technológiánál.

Mivel jelenleg a hagyományos égetési technológia a leggyakrabban alkalmazott eljárás, ezért az új termikus hulladékkezelési technológiákat célszerű e technológiával összehasonlítani. Az új technológiák legfontosabb előnyeit és hátrányait a 3. táblázat foglalja össze.

3. táblázat: A pirolízis, a gázosítás és a plazmatechnológia legfontosabb előnyei, valamint hátrányai a hagyományos égetéssel szemben [forrás: saját szerkesztés [1] [2] [3] [4] [5] [8] alapján]

Technológia	Előnyök	Hátrányok
Pirolízis	- Nincs oxigén felhasználás - A keletkezett végtermékek (pirogáz, pirolaj, pirokoksz) energiahordozóként, vegyipari és építőipari nyersanyagként felhasználhatók - A hőmérséklet növelésével növelhető a kibocsátott pirolízis gáz mennyisége és energiatartalma	- Kisebb hőmérsékletű eljárásoknál a gáztisztítás összetettebb, komplikáltabb - A keletkezett erősen szennyezett mosófolyadékot tisztítani kell - Nagyobb valószínűséggel keletkeznek nehezen bomló, nem tökéletes égéstermékek - A hasznos melléktermékek hasznosítása során felszabaduló füstgáz és hamu további utókezelést igényel
Gázosítás	- Kisebb tisztítandó gázmennyiség - A felszabaduló szintézisgáz sokoldalúan felhasználható tiszta gáztermék - Dioxinok és furánok gátolt képződése - Nagy hőmérsékleten a nagymolekulájú szénhidrogének és klórtartalmú vegyületek lebomlanak - A szilárd maradékok másodlagos környezetszennyező hatásai minimalizálhatók - A hőmérséklet növelésével és/vagy segédáramok megfelelő alkalmazásával növelhető a kibocsátott szintézisgáz mennyisége és energiatartalma	- A salakmaradék hasonló összetételű, mint a hagyományos égetésnél - A szintézisgáz hasznosítását követően a keletkező füstgáz tisztítást igényel - A hatékony üzemeltetéséhez olyan hulladékokra van szükség, amelyek a fermentálás legjobb alapanyagai (papír, fa, biomassza)
Plazmatechnológia	- A plazmaív nagy hőmérséklete miatt hatékonyan alkalmazható minden típusú hulladékaáramra (veszélyes, mérgező) - A keletkező nagy energiatartalmú szintézisgáz alkalmas a földgáz kiváltására - Az üvegesedett salak az építőiparban felhasználható alapként, díszítő elemként - A hulladékban található fémek visszanyerhetők (kohászat fel tudja használni) - Nem keletkeznek dioxinok és furánok, a klórvegyületek teljesen lebomlanak - Jelentősen kisebb a környezetkockázati tényezője, mint a többi eljárásnak - Egységnyi tömegű hulladékból ennél a technológiánál lehet a legnagyobb energiamennyiséget kinyerni	- Kisebb hőmérsékletű tartományokban a gáztisztítás bonyolultabb - Nagyobb beruházási és üzemeltetési költség (speciális anyagok) - Kisebb energetikai hatékonyság, de nagyobb energiahozam!

A tipikus reakció körülmények, valamint a technológiák legfontosabb előnyei és hátrányai alapján történő összehasonlítás nem elegendő a technológiák közül az adott hulladékaáramnak legmegfelelőbb technológia kiválasztására. Azonban ha a technológiákat a rájuk jellemző tömegalapú output paraméterek, az energetikai hatékonyság és az életciklus-elemzés felhasználásával meghatározott környezeti hatásparaméterek alapján hasonlítjuk össze (kibővített háromszög módszer), akkor lehetőségünk nyílik az optimális technológia kiválasztására. A tömeg alapú output paraméterek megadják, hogy egységnyi tömegű hulladék feladása esetén milyen mennyiségű lesz a kibocsátott füstgáz, valamint milyen mértékben csökkent a feladott hulladék tömege. Az energetikai hatékonysági mutatók megmutatják, hogy az adott technológia milyen hatékonysággal tudja a hulladékban rejlő energiamennyiséget villamos- és hőenergiává alakítani. Ezek a mutatók figyelembe veszik a technológiák önfogyasztását is, ezért az így kapott százalékos értékek a nettó hatásfokok, melyek tükrözik a felhasználható energiamennyiséget (4. táblázat).

4. táblázat: A vizsgált termikus hulladékártalmatlanítási technológiák tömeg alapú output paramétereit és energetikai hatékonysági mutatóit [forrás: saját szerkesztés [9] [10] [16] és [17] alapján]

Eljárás	Energiahatékonysági paraméterek [%]		Tömegalapú paraméterek [kg/1 kg hulladék]	
	η_{NV}	η_{NH}	Δm_{hull}	K_{fg}
Hagyományos égetés (1100°C)	14,93	10,82	0,725	0,875
Pirolízis (500°C)	15,54	66,33	0,884	0,958
Gázosítás (1200°C)	17,29	65,34	0,725	0,833
Plazmatechnológia (3000°C)	34,98	62,04	0,80	1,231
Plazmatechnológia (5000°C)	37,48	59,02	0,83	1,142

A plazmatechnológiák kivételével (ahol Diesel körfolyamat valósul meg), minden eljárásnál Rankine-Clausius körfolyamat játszódik le, ezzel magyarázható a kisebb villamos-energetikai hatékonyság. A hagyományos égetést alkalmazó hulladék-hasznosítónál kondenzációs gőzturbina került beépítésre, amely nem teszi lehetővé a teljes keletkezett hőenergia hasznosítását, ez által csak 10,82%-os nettó hő hatékonyság figyelhető meg. Ezzel ellentétben a pirolízist és a gázosítást alkalmazó hulladékhasznosító erőműveknél már ellennyomásos gőzturbina az erőgép, ami által a keletkezett hőenergia nagyobb, mint 65%-a kerülhet az ipari fogyasztók általi felhasználásra. A plazma-technológiák esetében hő visszanyerő került beépítésre, ennek köszönhető a kiemelkedő hő hatékonyság. A füstgázkibocsátás tekintetében célszerű megjegyezni, hogy amilyen mértékben csökken a hulladéktömeg, olyan mértékben nő a kibocsátott füstgáz mennyisége, hiszen a termikus kezelési eljárások során a feladásra került szilárd és folyékony halmazállapotú hulladék legnagyobb része átment gázfázisba. A plazmatechnológiáknál a füstgáz-kibocsátásra jellemző 1 feletti értékek azzal magyarázhatók, hogy ezeknél a technológiánál segédgázt alkalmaztunk, valamint a plazmareaktorokban keletkező szintézisgáz gázmotorban került hasznosításra, ahol a tökéletes égéshez relatíve nagy mennyiségű levegőre volt szükség. A táblázatban megfigyelhető, hogy a hagyományos égetésnél és a gázosításnál a feladott anyagmennyiség tömegének átlagosan csak 72,5 százaléka lép át gáz fázisba. Míg égetés esetén a füstgáz jelentős mennyiségű furánokat és dioxinokat tartalmaz, addig a gázosítás során felszabaduló szintézisgáz hasznosítása után se jelentős a kazánból távozó füstgáz toxikus anyag tartalma. A pirolízisnél sikerült a legnagyobb tömegcsökkenést elérni, ennek viszont az az előfeltétele, hogy az összes keletkezett haszontermék energiatermelésre legyen felhasználva. A technológiák közül a plazmatechnológiánál tapasztalható a legnagyobb energetikai hatékonyság. Hozzá kell még tennem azt is, hogy egységnyi tömegű hulladékból ennél az eljárásnál lehet a legnagyobb energiataralmú (fűtőértékű) szintézisgázt előállítani, ezért itt a legnagyobb a fajlagos kinyerhető hasznos energia-mennyiség (azonos körfolyamat esetén is). Ennek magyarázata az alkalmazott hőmérsékletben, a technológiai sajátságokban, valamint a felhasznált segédáramok mennyiségében és összetételében rejlik. A hagyományos égetés kivételével a többi technológiánál a hőmérséklet, valamint a felhasznált segédáramok mennyiségi és minőségi változtatásával lehet befolyásolni a szintézisgáz (pirolízisnél pirogáz) energiataralmát, fűtőértékét. Természetesen csak ésszerű határok között, hiszen minden technológiai paraméternek megvan a maga költség vonzata. A nagyobb hőmérséklet alkalmazása a beruházási költségeknél jelenik meg, az alkalmazott segédáramok mennyisége és anyagi minősége pedig az üzemeltetési költségeket tudja igen jelentős mértékben befolyásolni. Ez egyben tovább nehezíti a döntést a technológia kiválasztása során. Ezért szükséges egy újfajta, egységes döntéstámogató módszer kidolgozása.

4. TERMIKUS ÁRTALMATLANÍTÁSI TECHNOLÓGIÁK ÉLETCIKLUS-ELEMZÉSE

Az életciklus-elemzés (Life Cycle Assessment, LCA) lehetőséget ad arra, hogy megbecsüljük és számszerűsítjük egy termék, technológia vagy szolgáltatás teljes élettartamára vonatkozóan (előállítás, annak elosztása, felhasználása át a belőle képződő hulladék ártalmatlanításáig), hogy milyen környezeti terheléseket okoz, illetve milyen és mennyi természeti erőforrást használ fel (beleértve az energiakiadásokat is). A hulladékról szóló 2012. évi CLXXXV törvényben (amely a 2013. január 1.-én lépett hatályba) kiemelkedő szerepet kap az életciklus-szemlélet, ami ez által a hulladékgazdálkodás szerves részévé vált. Az új hulladékgazdálkodási törvény a 2. § (1) bekezdésének 9. pontja alapján az életciklus-szemléletet a következő módon definiálja [12]:

„olyan összehasonlító megközelítési mód, amely a megelőzés, valamint a hulladékgazdálkodás során az elővigyázatosságra és a fenntarthatóságra vonatkozó általános környezetvédelmi elvekre, a műszaki megvalósíthatóságra, továbbá az erőforrások védelmére és a gazdasági életképességre vonatkozó

szempontokra figyelemmel, az általános környezeti és gazdasági hasznok, költségek, valamint az emberi, egészségügyi és társadalmi hatások felmérésére irányul;”.

Az életciklus-elemzést négy fő szakaszra tudjuk osztani (MSZ EN ISO 14040:2006 szabvány alapján) [13]:

- Az első szakasz a *cél és tárgy meghatározás*. Itt rögzítjük a tanulmánykészítés okát, lehatároljuk a rendszert a külső környezettől, meghatározzuk a funkcionális egységet és megadjuk a referencia értékeket.
- A második szakasz a *leltárelemzés*. Itt ellenőrizzük, hogy érvényesülnek-e az alapvető fizikai törvényszerűségek, mint például a tömeg- és az energia megmaradás törvénye az általunk megadott input és output, anyag és energia áramok esetén. Az ellenőrzést a rendelkezésre álló adatok és fizikai összefüggések alapján, tömeg és energia alapú számítások elvégzésével tehetjük meg.
- A harmadik és egyben a legérdekesebb szakasz a *hatáselemzés*. E szakasz legfontosabb részfolyamatai: a leltáradatok elemzése és értékelése környezeti szempontból, kategóriamutatószám kiválasztása hatásparaméterenként, azok súlyozása, számszerűsített jellemzése (MSZ EN ISO 14044:2006 szabvány alapján) [14].
- A negyedik és egyben az utolsó szakasz az *értelmezés, interpretáció*. A hatáselemzés során kapott eredményeket összegezzük, értelmezzük, és összevetjük vagy a referencia értékekkel, vagy a vizsgált technológia egy korábban számított/mért, esetleg az elvart számszerű értékeivel (üzemelő technológia esetén). Ennek megfelelően meg tudjuk határozni a szükséges módosításokat és visszacsatolásként változtatásokat tudunk alkalmazni a technológiai paraméter-beállításokban. A módosításokat követően az elemzés újra elvégezhető, és így egy iterációs eljárás alkalmazásával megtalálhatjuk környezet-terhelés szempontjából a technológiai optimumot. Tervezett technológiák esetén pedig egyértelművé tehető a döntéshozatal. Amit még szükséges vizsgálni, az az energetikai hatékonyságban, az előállított termék minőségében és a technológia gazdaságos üzemeltetésében bekövetkező változások. Hiszen, hiába környezetbarát egy technológia, ha vele energetikailag kevésbé hatékonyan, drágábban és rosszabb minőségű terméket tudunk előállítani. Ezért célszerű az életciklus-elemzés mellett technológiai és energiahatékonysági, valamint gazdaságossági mutatókat is vizsgálni.

A termikus kezelési eljárásokra vonatkozó kutatómunka környezeti hatáskategóriáit és az alkalmazott módszert az 5. táblázat foglalja össze. A CML 2001, 2010. novemberi kiértékelési módszer 11 környezeti hatáskategóriák különböztet meg [14] [15]. Az általam kiválasztott négy környezeti hatáskategória értelmezése a 6. táblázatban olvasható. Azért ezt a négy hatáskategóriát választottam, mert velük egyszerre lehet jellemezni közvetlenül az emberi szervezetre és a globális környezetre gyakorolt káros hatásokat.

5. táblázat: Alkalmazott értékelési módszer és vizsgált eljárások [forrás: saját szerkesztés [9] alapján]

Vizsgált termikus kezelési eljárások	Rendszerhatár	Hatásvizsgálati módszer és paraméterei	Vizsgált hatáskategóriák
Pirolízis (500°C) Hagyományos égetés (1100°C) (füstgázkezelés nélkül és füstgázkezeléssel) Gázosítás (1200°C) Plazmatechnológia (3000°C és 5000°C)	A hulladék vegyipari üzemből történő beszállításától az erőműben kelet-keztett mellék-termékek kezeléséig.	Értékelési módszer: CML 2001, 2010. novemberi Funkcionális egység: 1 kg veszélyes hulladék	HTP GWP ODP AP

6. táblázat: A vizsgált környezeti hatáskategóriák értelmezése [forrás: saját szerkesztés [9] alapján]

Hatáskategória megnevezése	Hatáskategóriák értelmezése	Mértékegység
Humán Toxicitási Potenciál (HTP)	Az emberi szervezetre mérgező hatású anyagokra vonatkozó, maximálisan megengedett koncentráció mértéke 1,4 diklórbenzol (DCB) egyenértékben.	kg DCB-egyenérték
Globális felmelegedési Potenciál (GWP)	A különböző üvegházhatású gázok, mint például a CO ₂ , CH ₄ , és az FCKW globális felmelegedéshez való hozzájárulásának a mértéke egységnyi CO ₂ -hoz viszonyítva.	kg CO ₂ -egyenérték
Ózonréteg elvékonyodás (ODP)	Főként a halogénezett szénhidrogének rovására írható, referens összetevője a triklór-fluor-metán (R11).	kg R11-egyenérték
	A légkörbe kerülő SO ₂ és NO ₂ oxidáció során	

Savasodási Potenciál (AP)	kénsavvá, illetve nitrogénsavvá alakulnak át, így csökkentik annak pH-ját.	kg SO ₂ -egyenérték
---------------------------	--	--------------------------------

Mivel számomra a környezet védelme mellett az emberi élet, az emberek egészségének védelme a legfontosabb, ezért emeltem ki legelsőként a HTP értékét a hatáskategóriák közül. Döntésemet az is indokolta, hogy ezek a hulladékhasznosító erőművek (a hulladékot energetikai céllal hasznosítják) gazdaságossági szempontok miatt, rendszerint a lakókörnyezethez – a hulladékképződés helyéhez – a lehető legközelebb épülnek fel, így káros hatásukat még jobban megérezzük! Második tényezőként a GWP értékét választottam, hiszen napjainkban az üvegházhatású gázok kibocsátásának csökkentése, e lehetőségek kutatása kulcsfontosságú, globális kérdés. A szén-dioxid szegény eljárások kifejlesztésének, az egyes technológiák és módosulataik összehasonlításának egyik alappillére a szén-dioxid egyenértékben kifejezett üvegházhatású gázok emissziója. Nem volt számomra kérdéses, hogy a harmadik hatáskategória az ODP legyen, hiszen az ózonréteg elvékonyodása, folytonosságának megbomlása egyaránt hatást gyakorol az emberi létre és a környezetre. A káros Napsugarak kiszűrése nélkül az emberi egészségre közvetlenül, valamint az állat és növényvilágon keresztül közvetetten, és halmozottan jelentkezik a negatív hatás. A negyedik kiemelt kategória az AP, amely a savasodás hatását igyekszik számszerűsíteni. A savas esők gyakorisága és azok hatása, valamint a termőföldek elszikesedése egyaránt válhat lokális problémából globálissá. (A fel nem sorolt környezeti hatáskategóriák a [9] jelű szakirodalomban részletesen olvashatók). Az életciklus-elemzéssel kapott eredményeket a vizsgált termikus kezelési eljárásokra vonatkozóan a 7. táblázat tartalmazza.

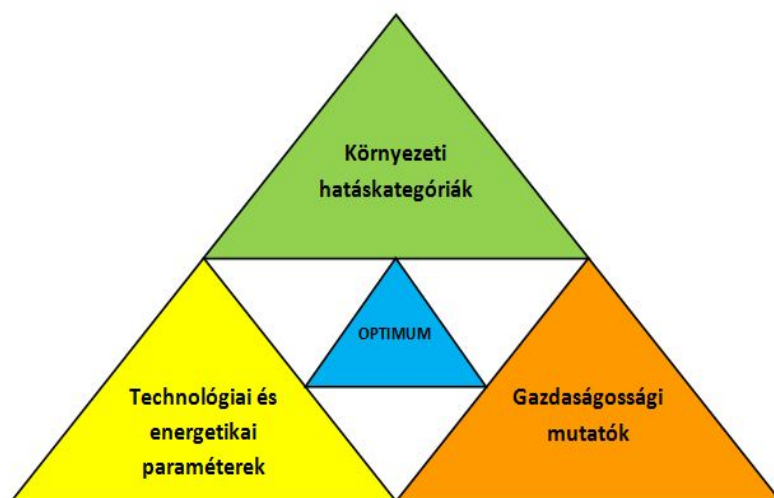
7. táblázat: Termikus kezelési eljárások környezeti hatáskategóriák értékei [forrás: saját szerkesztés [7] alapján]

Termikus kezelési eljárások megnevezése	Környezeti hatáskategóriák [kg -hatás egyenérték-]			
	HTP	GWP	ODP	AP
Hagyományos égetés (1100°C) (füstgáztisztítás nélkül)	96,70	5,03	1E-3	0,209
Hagyományos égetés (1100°C) (füstgáztisztítással)	28,50	0,707	1E-4	0,259
Pirolízis (500°C) (energiatermelés kazánban)	0,645	15,40	3,2E-3	0,376
Gázosítás (1200°C) (energiatermelés kazánban)	0,433	0,989	4,09E-11	0,180
Plazmatechnológia (3000°C) (energiatermelés gázmotorban)	3,66E-2	0,836	4,03E-08	4,48E-3
Plazmatechnológia (5000°C) (energiatermelés gázmotorban)	1,86E-3	0,128	4,48E-10	1,37E-4

A kapott eredményeken megfigyelhető, hogy a kisebb hőmérsékleten végzett pirolízis kiugróan magas értékeket képvisel a globális felmelegedésre gyakorolt hatás (GWP), az ózonréteg elvékonyodását (ODP) és a savasodást okozó gázok kibocsátásának (AP) tekintetében egyaránt. Egyedüli kivételt az emberi szervezetre gyakorolt toxikus hatás (HTP) jelent, ahol a legrosszabb értékeket a hagyományos égetéses technológiák (kiemelten a füstgáztisztítást elhanyagoló megoldást) eredményezték. A legkedvezőbb eredményeket a plazmatechnológiát alkalmazó hulladékhasznosító erőműveknél tapasztaltuk. E technológiáknál észrevehető, hogy a nagyobb hőmérséklet alkalmazása csökkentette az eljárás káros anyag kibocsátását, emisszióját. Ebből azt a következtetést lehet levonni, hogy egy adott technológia esetén az alkalmazott hőmérséklet növelésével csökkenthető a környezetkockázati tényező. Ekkor viszont egyből felmerül a kérdés, hogy mekkora plusz költséggel jár a hőmérséklet növelése. Ezzel viszont új tényezőkkel is számolnunk kell, amelyek igen jelentős mértékben befolyásolhatják a rendszer gazdaságos üzemeltetését. A vizsgált termikus kezelési technológiák tekintetében összességében elmondható az, hogy a környezeti hatások (GWP, AP, ODP, HTP) és a nettó villamos hatásfok (η_{NV}) figyelembe vételével a hagyományos égetéses technológiák és a pirolízis, a feladásra került veszélyes vegyipari hulladékok energiatermeléssel egybekötött ártalmatlanítására kevésbé megfelelőek. A legjobb megoldás a plazmatechnológia alkalmazása, jó megoldásnak tűnik a nagy hőmérsékletű gázosítás. Az üzemelő technológiáknál a hőmérséklet növelése ideiglenes megoldást nyújthat a technológiában rejlő környezetkockázati tényező csökkentésére, azonban hosszútávon az új termikus kezelési eljárásokban célszerű gondolkodnunk.

5. AZ ÉLETCIKLUS-ELEMZÉSEL KIBŐVÍTETT HÁROMSZÖG MODELL, MINT DÖNTÉSTÁMOGATÓ MÓDSZER

A háromszögmodell új, alternatív lehetőséget kínál a menedzsment számára a technológiák közötti választás, azaz a döntéshozatal során (2. ábra). A modell legnagyobb előnye, hogy egyszerre három különböző szemszögből, három különböző tudományterületről közelíti meg a technológiákat, ezért lehetőség nyílik a konszenzusos megegyezésre (ez lesz az optimális technológia, amely a háromszög középpontjában, súlypontjában helyezkedik el). Mivel előfordulhatnak olyan technológiák is, amelyek csak két vizsgálati kategóriacsoport szerint optimálisak, a harmadik szerint viszont kevésbé megfelelőek, ezért a vázolt háromszög modell alapján, három optimális tartományról és egy optimumról (mindhárom vizsgálati kategóriacsoport szerint optimális) beszélünk. Így például előfordulhatnak olyan technológiák, amelyek környezeti hatáskategóriák és gazdaságossági mutatók szempontjából megfelelőek, de a technológiai és energetikai paramétereik az elvártaknál rosszabb értékeket mutatnak. Ez a technológia a belső háromszög jobb sarkában fog helyet foglalni. A háromszögmodell belső háromszögeiben annyi pontot tudunk elhelyezni, amennyi technológiát vizsgálunk. Célszerűen azt a technológiát válasszuk, amely legközelebb van a háromszög súlypontjához, optimumához.



2. ábra: A háromszög modell sémája [forrás: saját szerkesztés]

A feladatot nem csak grafikusán, hanem numerikusan is megoldhatjuk. Ebben az esetben célszerű egy pontozási, súlyozási rendszert kidolgozni, amely lehetővé teszi, hogy az adathalmazból egyetlen egy számértéket kapjunk. Ez a számérték lesz a technológiai faktor, amely így nem csak a technológiai és energetikai paramétereket, hanem a környezeti hatáskategóriákat és a gazdaságossági mutatókat is figyelembe veszi. Az így meghatározott technológiai faktorok felhasználásával, azok összehasonlításával elvégezhetjük a technológiák értékelését, és rangsorolását. A rangsor egyben a technológiák prioritási sorrendjét fogja jelenteni. Az így kialakított modell adaptálható más hulladékgazdálkodási technológiákra is. Ezzel egy teljesen új irányvonalat képviselhet a hulladékgazdálkodás jövőjében. Sőt más iparágakban, akár termékek, akár technológiák, vagy akár szolgáltatások is értékelhetők ezzel a módszerrel. Az általánosított modell specializálásával figyelembe vehetők olyan paraméterek is, amely csak egy-egy adott technológiára és csak egy adott időpillanatban jellemzők, így a modell alkalmassá tehető dinamikus folyamatok vizsgálatára is. Ezzel is támogatva a technológiában rejlő előnyök és lehetőségek kiemelését, erősítését, valamint a hátrányok és veszélyek kiküszöbölését, negatív hatások csökkentését.

6. KONKLÚZIÓK ÉS JÖVŐBELI CÉLKITŰZÉSEK

Mivel napjainkban a veszélyes-hulladékok ártalmatlanításának leggyakoribb módját a veszélyes hulladék-égetőkben történő égetés jelenti, ezért fontos megvizsgálni az összes, rendelkezésre álló termikus kezelési eljárást is, melyek megoldást jelentenek e környezeti kérdésre. A termikus hulladékkezelési technológiák vizsgálata során, a környezetvédelmi, az energiahatékonysági és a tömeg alapú output-paraméterek szempontjából megállapítható az, hogy a prioritási sorrend szerint a legjobb eljárás a plazmatechnológia. Jó megoldásnak tűnik az 1200°C hőmérsékleten történő gázosítás is. A termikus technológiák prioritási sorrendjének megfelelő meghatározásával az ökológiai rendszer stabilitását és az ökológiai folyamatok fenntartását biztosítjuk a következő nemzedék számára. Az eddigi kutatómunkám során a technológiák környezetvédelmi hatáskategória paramétereit tömeg alapon határoztam meg, azaz mindig 1 kg hulladékra vonatkoztattam az emissziós értékeket. A jövőben tömeg alapú vizsgálatok mellett szeretnék energia alapú vizsgálatokat is végezni, hiszen a termikus kezelési

technológiák esetén a hulladékok energetikai célú hasznosításáról beszélünk, tehát az ártalmatlanítás helyett az energiatermelés lett a fontosabb tényező. Ebben az esetben a felmerülő, és megválaszolandó kérdések:

- 1) Hogyan alakul egy-egy technológia emissziója, ha egységnyi villamos, és hőenergia előállítása a cél, nem pedig egységnyi hulladék ártalmatlanítása?
- 2) Hogyan alakulnak a környezetterhelési, a technológiai és az energiahatékonysági paraméterek, valamint a gazdaságossági mutatók, ha kombináljuk az egyes technológiákat?
- 3) A technológiai faktor meghatározása során milyen súlyokkal kell figyelembe venni az egyes paramétereket?

7. Köszönetnyilvánítás

A bemutatott kutatómunka a TÁMOP-4.2.2/B-10/1-2010-0008 jelű és a TÁMOP- 4.2.1.B-10/2/KONV-2010-0001 jelű projektek részeként – az Új Magyarország Fejlesztési Terv keretében – az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával valósult meg. Szeretnék köszönetet mondani oktatóimnak, kiemelten témavezetőmnek Dr. Mannheim Viktória egyetemi docens asszonynak, aki folyamatosan támogatja és segíti a kutatómunkámat, szakmai előre meneteletem.

IRODALOMJEGYZÉK

- [1] HORNYÁK M., BÁNHIDI J., KOVÁCS E., KOVÁCS L., VARGA P., *Útmutató az elérhető legjobb technológia meghatározásához a hulladékégetők engedélyezése során*. 2008
- [2] GOMEZ E., AMUTHA RANI D., CHEESEMAM C. R., DEEGAN D., WISE M., BOCCACCINI A. R.: *Thermal plasma technology for the treatment of waste: a critical review*. Journal of Hazardous Materials. Volume 161, Issues 2–3, 30 January 2009, Pages 614–626
- [3] HUANGA H., TANG L.: *Treatment of organic waste using thermal plasma pyrolysis technology*. Energy Conversion and Management. Volume 48, Issues 4, April 2007, Page 1331-1337
- [4] ÖRVÖS M.: *Ártalmatlanítás termikus eljárásokkal*. BME oktatási segédlet, 2008
- [5] SZUHI A.: *Új termikus technológiák és hagyományos hulladékégetők*. Kiadta a Környezetvédelmi és Vízügyi Minisztérium, valamint a „Válaszúton Alapítvány”, 2009
- [6] SZŰCS E., BUDAI A., MATKÓ A.: *Környezetmenedzsment*, Pannon Egyetem, oktatási segédlet, 2011
- [7] MANNHEIM V., BODNÁR I.: *Veszélyes hulladék-kezelés és LCA. Termikus hulladék-kezelési eljárások vizsgálata életciklus-elemzéssel*. Zöld Ipar Magazin. 12. évf. 8. sz. 2012. pp. 27-29.
- [8] BODNÁR I.: *Növényvédőszer gyártástechnológiája, valamint hulladékaik kezelési módjai az Európai Unióban*. Diáktudomány. A Miskolci Egyetem Tudományos Diákköri Munkáiból. 4. kötet. 1. sz. 2012. pp.69-74.
- [9] BODNÁR I., M EIM V.: *Szerves ipari hulladékok kezelésére szolgáló technológiák vizsgálata környezetterhelési, energiahatékonysági, és gazdasági aspektusokból*. Multidiszciplináris Tudományok. Miskolci Egyetem kiadványa. 2. kötet. 2012. 1. sz. pp. 9-20.
- [10] MANNHEIM V., BODNÁR, I.: *Súlyozási rendszer kidolgozása termikus ártalmatlanítási eljárások összehasonlító-hatóságára vonatkozóan*. GÉP magazin. A Gépipari Tudományos Egyesület Műszaki Folyóirata. LXIII. évf. 10. sz. 2012, pp. 37-40.
- [11] BARÓTFI I.: *Környezettechnika*. Mezőgazda Kiadó, 2000
- [12] A hulladékról szóló 2012. évi CLXXXV. törvény
- [13] MSZ EN ISO 14040:2006 szabvány
- [14] MSZ EN ISO 14044:2006 szabvány
- [15] MSZ EN ISO 14045:2012 szabvány
- [16] MANNHEIM V., BODNÁR, I.: *Life Cycle Assessment for thermic treatments of organic waste*. Enviro-management 2012: Municipal and regional waste management projects in Europe. October 9-11, 2012. pp. VII-1/17, Štrbské Pleso, Slovakia.
- [17] MANNHEIM V., BODNÁR I.: *Hulladékból energia sokféleképpen. Hulladékkezelési eljárások vizsgálata szerves hulladékokra életciklus-elemzéssel (2. rész)*. Zöld Ipar Magazin. 13. évf. 1. sz. 2013. pp. 8-9.

1. Bevezetés

A legtöbb vegyület - beleértve a gyógyszer-hatóanyagokat is - az emberi szervezetbe kerülve a legkülönbözőbb termékekké, metabolitokká alakul át. Ezeket a reakciókat számos enzim katalizálja, melyek során általában vízdíszíthető metabolit keletkezik, segítve ezzel az eredeti hatóanyag, illetve vegyület szervezetből történő kiválasztását az epével vagy a vizelettel. A kiválasztás sebessége természetesen befolyásolja azt az időt, melyet a gyógyszer aktív formája a szervezetünkben eltölt. Az a feltevés, miszerint a metabolitok kevésbé hatékonyak, mint az anyavegyület, nem mindig igaz. Ismerünk olyan inaktív elővegyületeket (prodrug-okat), melyek a szervezetben metabolizálódnak aktív formává. (Ilyen például az antiparkinson hatású levodopa, mely dopaminná, és a vérnyomáscsökkentő metildopa, amely α -metil-noradrenalinná metabolizálódik.) Esetenként a metabolitok ugyanolyan aktívak (vagy még aktívabbak) lehetnek, mint az anyavegyület [1]. A fentiekben említett testidegen anyagokra (xenobiotikumokra) adott válaszreakciók kialakításában a citokróm P450 (CYP) enzimeknek meghatározó szerep jut, így váltak a gyógyszermetabolizmus legfontosabb és legjobban tanulmányozott enzimrendszerévé. A CYP enzimek és más gyógyszermetabolizáló enzimek tanulmányozása is igen fontos a gyógyszerkutatásban és fejlesztésben, a gyógyszerek esetleges toxikus hatásának felderítésében.

Az elmúlt körülbelül három évtizedben a gyógyszermetabolizmus kutatásnak több területen is kiemelkedő szerep jutott. Az új gyógyszerek fejlesztése terén fontos kérdés, hogy a szintetizált molekula hatékony és biztonságosan alkalmazható-e. Ennek felderítése érdekében farmakokinetikai vizsgálatokat végezhetünk, amely vizsgálatok a xenobiotikumok szervezetbeli sorsával foglalkoznak, és egyik fő céljuk a vegyületek ADME - abszorpció, disztribúció, metabolikus és elimináció - tulajdonságainak feltérképezése. A gyógyszermetabolizmus kutatásnak azonban nem csak új gyógyszerjelölt molekulák esetében van jelentősége, hanem a terápiás gyógyszer-szint monitorozásban is, mely a jövőben elvezethet a személyre szabott gyógyszeres kezelésig [2]. Ha képesek vagyunk a különböző betegek kezelésében használt legkülönbözőbb gyógyszer-hatóanyagok és metabolitjaik mennyiségi meghatározására, sikeresen együttműködhetünk a klinikusokkal a betegek gyógyszerterhelésének csökkentésében, továbbá a mellékhatások, a gyógyszerfelhasználás és nem utolsósorban a kiadások csökkentésében is. Ilyenkor általában az elsődleges cél nem a gyógyszer-szint monitorozásban rutinszerűen alkalmazott módszerek (pl. immunoassay) kiváltása, sokkal inkább a problémás esetek felderítése, megoldása, különös tekintettel arra, hogy az immunoassay módszerek sokszor adnak ál pozitív eredményt, ezért nem annyira megbízható, szelektív és pontos technikák, mint a folyadék-kromatográfiával kapcsolt tandem tömegspektrometria.

2. GYÓGYSZER-SZINT MONITOROZÁS

2.1 Genetikai polimorfizmus

A genetikai polimorfizmussal, a gyógyszerek hatását befolyásoló genetikai tényezők feltárásával a farmakogenetika foglalkozik. A terület jelentőségét mutatja, hogy külön tudományág épül rá, mivel egy-egyén gyógyszermetabolizáló képességét elsősorban a genetikai háttér határozza meg. A populációban egy adott gén és az általa kódolt fehérje különböző változatokban van jelen. A polimorfizmus lehet ún. SNP (Single Nucleotide Polymorphism), amikor mindössze egyetlen nukleotid cseréje történik. A megváltozott triplet gyakran más aminosavat kódol az eredeti helyett, így kevésbé aktív vagy akár teljesen inaktív fehérje expresszálódik. Polimorfizmus deléció útján is megvalósulhat, amikor egy nukleotid hiánya a genetikai kód eltolódásához és értelmetlen, működésképtelen fehérje kifejeződéshez vezet. A deléció vonatkozhat az adott enzim kódoló gén teljes hiányára is, másrészt előfordulhat duplikáció/amplifikáció, mikor az adott gén több kópiában fordul elő. A mutációk enzim funkció (fenotípus) szinten okozhatják csökkent működőképességű, inaktív, működésképtelen enzim kifejeződését, valamint teljes enzimhiányt is. Ilyen mutáció az SNP és a deléció, a génszorosozódás eredménye pedig az átvírt enzim mennyiségének növekedése és ezáltal a megfelelő szubsztrátok gyorsabb eliminációja. Ezek következtében egyértelműen látszik, hogy egyénenként jelentős különbségek adódhatnak a gyógyszermetabolizmusban. A farmakogenetikában használatos elnevezés alapján megkülönböztetünk gyenge (poor) metabolizálókat (PM), átlagos (intermediate) metabolizálókat (IM), valamint gyors (extensive) metabolizálókat (EM). Az extenzív csoportba tartozók jelentik az ún. „vad típust”, a működőképes enzimet eredményező genetikai hátteret. Mivel a DNS szekvenciában bekövetkező

változás rendszerint az enzim aktivitás csökkenésével jár, a PM fenotípusú egyénekben leggyakrabban a mutáció vagy a teljes génhiány okozza a csökkent működést, így a bennük mérhető emelkedett gyógyszer koncentráció toxikológiai problémákhoz vezethet, az EM egyedekben pedig előfordulhat, hogy a gyógyszer szint el sem éri a terápiás koncentrációt. Ez a tény megnehezíti az egyéni terápiás gyógyszeradagolást, többek között ezért is fontos a gyógyszer szintek folyamatos monitorozása [3].

2.2 Kihívások a gyógyszer szint monitorozás során

A mellékhatások elkerülésében és a terápiás adag könnyebb beállításában sokat segíthetnek a vérszintek. Elsősorban azon szereknél, melyeknek farmakokinetikája nagy egyéni variabilitást mutat, s melyek szérumban mérhető koncentrációját jelenti. A terápia során a gyógyszer szint monitorozás rendszerint hosszú ideig, akár évekig is eltarthat. Az optimális dózist mindig személyre szabottan állapítják meg, amelynek alkalmazása során kialakuló vérkoncentrációnál a gyógyszer még nem okoz mellékhatásokat vagy toxikus tüneteket, ugyanakkor maximálisan kifejti gyógyító hatását. A gyógyszer szint mérését általánosan az ún. steady-state beállta után (mikor a gyógyszer koncentrációja a vérben elért egy állandó szintet) célszerű végezni, kivéve, ha toxicitás gyanúja áll fenn [4]. Gyógyszerek vérszintjének meghatározásában számos módszer áll rendelkezésünkre, többek között az igen elterjedten és rutinszerűen alkalmazott immunoassay módszerek. Abban az esetben, ha egy gyógyszert vagy valamely metabolitját immunoassay technikával detektálják, a mintát gyakran további vizsgálatoknak vetik alá, amikor már érzékenyebb módszerekkel dolgoznak (pl. gázkromatográfia, folyadékkromatográfia, tömegspektrometria és ezek kapcsolt változatai). Az immunoassay technikák az antigén-antitest kölcsönhatáson alapulnak. Ezen módszerek hátránya, hogy gyakran ál pozitív eredményt adnak, mert nem képesek megkülönböztetni a gyógyszer molekulát a metabolitjaitól.

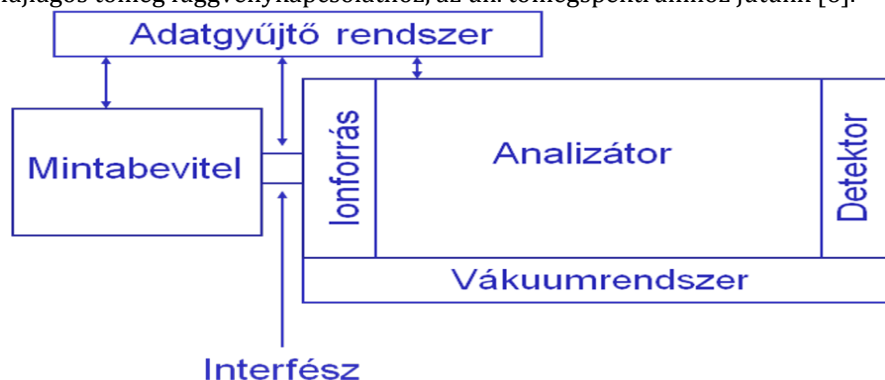
3. AZ ALKALMAZOTT TECHNIKÁK ÉS MÓDSZEREK BEMUTATÁSA

3.1 Folyadékkromatográfia

Folyadékkromatográfias elválasztás során a különféle anyagkeverékek komponenseinek elválasztása történik, különböző állófázisokon, folyadék halmazállapotú áramló fázis segítségével. Mivel az elválasztáshoz rendelkezésünkre álló áramló fázisok (oldószerkeverékek), valamint álló fázisok igen változatosak és sokoldalúan kombinálhatók, lehetővé válik az anyagkeverékek rendkívül széles spektrumú vizsgálata, amely a folyadékkromatográfia jelentős előnyét eredményezi más elválasztástechnikai módszerekkel szemben. Előnyei közé tartozik egyszerű kezelhetősége mellett a nagy hatékonyság és szelektivitás, továbbá a gradiens elúció alkalmazásának lehetősége [5, 6].

3.2 Tömegspektrometria

A tömegspektrometriának napjainkban egyre nagyobb szerep jut a szerves vegyületek analitikájában. A legtöbb vegyület egyszerűen és gyorsan meghatározható vele, még akkor is, ha az adott komponens bonyolult mátrixban van. A berendezés főbb részei a mintabeviteli egység, ionforrás, analizátor, detektor, vákuumrendszer, adatfeldolgozó és vezérlőegység az **1. ábrán** láthatók. A tömegspektrometria olyan nagyműszeres analitikai módszer, amelynél ionokat választunk el fajlagos tömegük (töltésegységre eső tömegük) szerint, csökkentett nyomáson, elektrosztatikus vagy mágneses mezők segítségével. Az elválasztott ionok intenzitását folyamatosan mérjük, s így egy ionáram intenzitás – fajlagos tömeg függvénykapcsolathoz, az ún. tömegspektrumhoz jutunk [6].



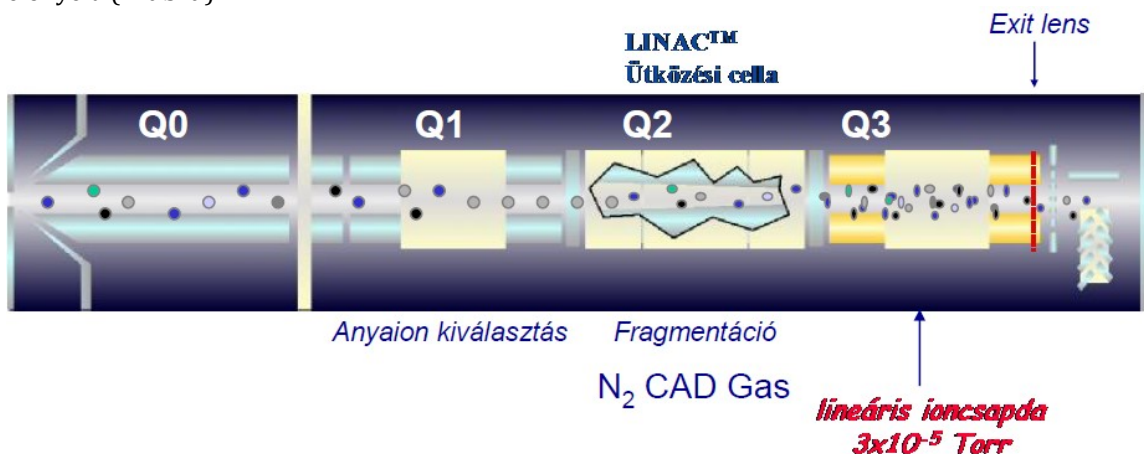
1. ábra: A tömegspektrométer felépítése

A kimutatási határ a kis mennyiségek meghatározásánál alapvető fontosságú. Az LC-MS módszer, illetve a tömegspektrométeres mennyiségmérés ma már vezető szerepet tölt be a szerves vegyületek elemzésében. A napi gyakorlatban a legtöbb készülékkel már pg (pikogramm) vagy fg (femtogramm) mennyiségek is megbízhatóan meghatározhatók [5, 6]. A tömegspektrométert egyszerűen lehet kapcsolni

elválasztástechnikai rendszerekhez, így nagyhatékonyságú folyadékkromatográfiához is (HPLC – High Performance Liquid Chromatography), mely által többkomponensű minták analízise is lehetővé vált. Ha egy minta folyadékkromatográf által elválasztott komponenseit a tömegspektrométerbe juttatjuk, a fajlagos tömeg és a fragmentáció alapján specifikus információt nyerhetünk egy-egy vegyület szerkezetével kapcsolatban, és még igen komplex, bonyolult összetételű rendszerekben is egyértelműen azonosítja azokat [2, 6, 7].

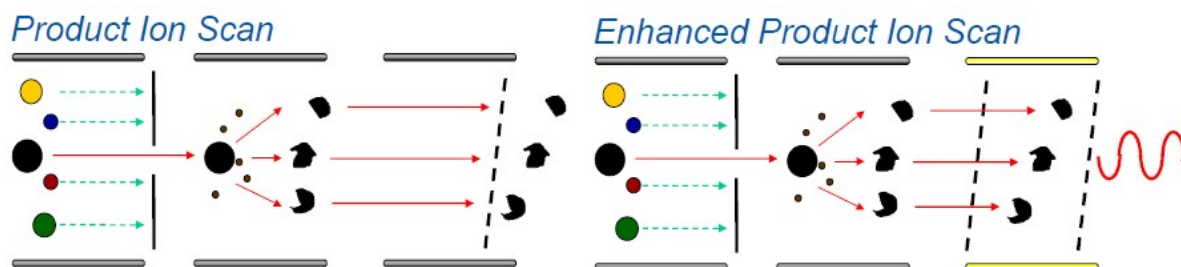
3.2.1 Tömegspektrometriás analizátorok

Az analizátor választja el az ionforrásból érkező ionokat fajlagos tömegük szerint. Az elválasztás többféle elv alapján oldható meg. A dolgozat terjedelmi korlátai miatt a következőkben a munkánk során általunk is használt készülékben található kvadrupól (Q) és ioncsapda (Ion trap) analizátor kombinációját, a lineáris ioncsapdát (QTRAP) mutatom be. Ez a hibrid analizátor ötvözi a kvadrupól és az ioncsapda előnyeit. (2. ábra)



2. ábra: a QTRAP analizátor

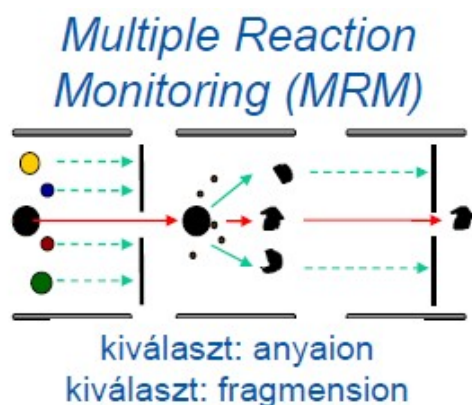
Lényeges különbség a két analizátor között a tömegtartományban érzékeny, és lehetőséget ad a szerkezetkutatásra (MSⁿ), míg a kvadrupól többféle pásztázást (scan) tesz lehetővé, viszont az érzékenysége nem éri el az ioncsapdát. Kijelenthető, hogy a két eltérő megoldás remekül kiegészíti egymást. A Q TRAP három egymás után elhelyezkedő kvadrupólból áll, melyek közül az utolsó ioncsapdává alakítható. A kvadrupól négy egymással párhuzamos rúd, amelyekre egyen- és váltófeszültséget kapcsolnak. A folyamatosan változó feszültség miatt az ionok spirális pályán mozognak és egy adott időpillanatban csak adott m/z értékű ion számára biztosítanak stabil áthaladást. A feszültségeket meghatározott értékek között változtatva egy tömegtartomány végigpásztázható. Így kapjuk a normál tömegspektrumot [6]. Az első (Q1) és a harmadik (Q3) kvadrupól képes csak pásztázásra (SCAN), a második (Q2) ütközési cellaként funkcionál. A következőkben a leggyakoribb és általam is használt scan funkciók bemutatására szorítkozom. Normál pásztázás esetén választhatjuk a Q1 Scan-t, amire hármas kvadrupól üzemmódban van lehetőség. Ioncsapda módban az ennek megfelelő pásztázás az Enhanced MS Scan (EMS). Segítségükkel adott idő alatt az általunk megadott tömegtartományt végigpásztázva kaphatjuk az ún. totál ionkromatogramot (TIC, Total Ion Chromatogram), egyes részeit kijelölve pedig az időablaknak megfelelő tömegspektrumot. A Selected Ion Monitoring (SIM) általunk kiválasztott ion vagy ionok vizsgálatát teszi lehetővé, így több nagyságrenddel érzékenyebb, mint a TIC, mivel az egész észlelési idő alatt csak a kiválasztott iont/ionokat mérjük. Úgy is mondhatjuk, hogy jobb jel/zaj viszonyt lehet elérni SIM üzemmód használatával, mivel nem a teljes tömegtartományt kell egy adott idő alatt végigpásztázni, csak az általunk megadott ionokat, ezért egy adott ion figyelésére lényegesen több idő jut. A Product Ion Scan, ioncsapda esetén Enhanced Product Ion Scan (EPI) (3. ábra) alkalmazásakor, a Q1 által kiválasztott anyaiont fragmentáljuk az ütközési cellában ütközőgáz és feszültség hatására. Az így töredezett ion fragmenseit detektáljuk a harmadik kvadrupól (ioncsapda) segítségével. Ez a pásztázási módszer kiválóan alkalmas szerkezetkutatásra, valamint mennyiségi meghatározások előkísérleteire.



3. ábra: A product ion scan és enhanced product ion scan összehasonlítása.

Mindkét esetben az első kvadrupóllal kiválasztunk egy anyaiont, a harmadik analizátorral pedig a fragmens ionokat pásztázzuk.

Végül, de nem utolsósorban fontos megemlíteni az egy vagy több kiválasztott fragmentációs út monitorozását (Selected Reaction Monitoring- SRM, vagy Multiple Reaction Monitoring-MRM), amely a 4. ábrán látható. Ebben az esetben a Q1 kiválaszt egy „anyaiont”, amit a q2-ben fragmentálunk, majd a Q3 is csak egy kiválasztott, a vegyületre jellemző fragmensiont enged át. Érzékenysége és szelektivitása miatt mennyiségi meghatározásra az SRM/MRM módszer a legalkalmasabb [6, 7].



4. ábra: Az MRM módszer

4. TÖMEGSPEKTROMETRIÁS KÖRÜLMÉNYEK OPTIMÁLÁSA

Munkánk során LC-MS/MS módszereket dolgozunk ki különféle kórképek kezelésében használt gyógyszervegyületek és metabolitjaik mennyiségi meghatározására. Ahhoz, hogy ezeket a gyógyszereket mérni tudjuk, ki kell választanunk a megfelelő tömegspektrometriás körülményeket. Az egyes hatóanyagok és metabolitjaik MRM módszerének kidolgozása előtt, a laborban rendelkezésre álló gyógyszerhatóanyag standardekről EMS és EPI spektrumokat veszünk fel.

Miután minden komponensre elvégeztük az EMS és EPI méréseket, majd ezekből meghatároztuk a használni kívánt MRM átmeneteket, az MS paraméterek optimalizálása következik, külön minden egyes MRM átmenetre. Ebben az esetben a standard mintákat Hamilton-fecskendőbe szívjuk, a tömegspektrométerhez tartozó fecskendőpumpa segítségével pedig állandó áramlási sebességgel a készülékbe juttatjuk. A tömegspektrometriás paraméterek optimalizálása azért fontos lépés egy-egy módszer kidolgozása során, mert a különböző szerves vegyületek – szerkezetük eltéréséből adódóan – különböző mértékben képesek az ionizációra, valamint a fragmentációra. Számos változtatható paraméter függvénye, hogy megtaláljuk-e az adott vegyülethez tartozó optimális beállításokat, mellyel megfelelő érzékenységet érhetünk el, és ezzel egy jól használható, alacsony kimutatási határral rendelkező módszert kapjunk. Az esetek túlnyomó többségében a tömegspektrometriás paraméterek optimalizálása és ezzel a módszerfejlesztés eredményesen zárul. Előfordulhatnak azonban olyan esetek, mikor ez a folyamat nem sikerül tökéletesen. Erre szeretnék egy példát bemutatni. Valproát méréseink során nem lehetett értékelhető fragmentációra bírni a vegyületet. Megoldásként a pseudo-MRM módszert választottuk. Ebben az esetben a Q1 és a Q3 analizátor ugyanazt az iont (m/z 143) engedi csak át. Jogosan merülhet fel az a kérdés, hogy mi értelme van ennek a tulajdonképpen „erősített” SIM üzemmódnak, hiszen nem a kiválasztott anyaion egyik leányionját detektáljuk. A válasz egyszerű: így be tudjuk illeszteni ezt a pseudo-MRM átmenetet a többi „rendes” MRM átmenet közé, így egy módszerben tudjuk őket alkalmazni.

5. FOLYADÉKKROMATOGRÁFIÁS KÖRÜLMÉNYEK OPTIMÁLÁSA

A vér egy összetett, sokkomponensű biológiai mátrix. Ez a tény negatívan érintheti méréseinket, ugyanis az ionszupresszió (ionelnyomás) jelensége miatt jelentősen csökkenhet módszerünk érzékenysége. Éppen ezért, gyógyszerek vérből történő meghatározása esetén kromatográfiás módszer kidolgozására is szükségünk van annak érdekében, hogy a célvegyületünket illetve metabolitjait elválasszuk a többi molekuláktól. Vizsgálataink során több oszlopot is kipróbáltunk, végül egy Purospher Star 55 × 2 mm, fordított fázisú, 5 µm szemcseméretű C18 oszlop használata mellett döntöttünk. A módszer kidolgozása során izokratikus elúció helyett a gradiens elúciót választottunk, mivel így az elválasztást és analízist követően egy mosási ciklus is beiktatható a kromatográfiás programba. Ezen módszerek kidolgozásánál nem ütköztünk olyan problémákba, mint a valproát esetén tárgyalt tömegspektrometriás optimalizálásnál.

6. VÉRSZINT MÉRÉSEK

6.1 Mintaelőkészítés, kalibráció

A kalibrációkat ismert hatóanyag és metabolit tartalmú kontroll szérummal végeztük. Irodalmi adatok alapján öt meghatározott koncentrációt állítottunk be az adott vegyületből. A kalibráció koncentráció tartományát illetően minden esetben a gyógyszerek terápiás tartományához igazodtunk, oly módon, hogy a kalibrációt a terápiás tartomány alatt illetve felett is tudjuk használni, így a kiugró adatokat is tudjuk értékelni. A kalibrációs szérummintákat, valamint a betegek szérummintáit az alábbi módon készítettük elő: 1,5 ml-es eppendorf csövekbe 100 µl szérumhoz 300 µl metanolt (amely már tartalmazta a kísérő standard-et) mértünk a fehérjék kicsapása érdekében. Következő lépésben a mintákat vortex-szel összeráztuk, majd 20 percen keresztül 14000 rpm fordulaton centrifugáltuk, mely során a kicsapódott fehérjék a csövek aljára ülték. A felülúszót átszűrtük, majd HPLC-MS/MS mérésekre alkalmas csövekbe pipettáztuk. A hatóanyag és metabolit koncentrációkat a korábban ismertetett és kidolgozott HPLC-MS/MS módszerekkel határoztuk meg.

7 EREDMÉNYEK

Eddigi munkánk során sikeresen dolgoztunk ki több különböző LC-MS/MS módszert gyógyszerek és metabolitjaik humán szérumból történő mennyiségi meghatározására. A tömegspektrometria létjogosultsága megkérdőjelezhetetlen a klinikai vizsgálatok során, ugyanis sokkal pontosabb, érzékenyebb és szelektívebb módszer, mint a rutinszerűen alkalmazott immunoassay technikák. A módszerek kidolgozása során folyadékkromatográfiás és tömegspektrometriás oldalról sem talákoztunk leküzdhetetlen problémákkal.

A laborban folyó egyéb vizsgálatok során munkatársaink meghatározták a betegek CYP státuszát, ezen belül a betegek CYP-genotípusát és CYP-fenotípusát egyaránt. Ennek során meg lehetett tudni, hogy az adott egyén milyen mértékben képes (IM: átlagos, PM: gyenge metabolizáló képesség) lebontani az adott hatóanyagot. Amikor a betegek vérszint értékeit összehasonlítjuk CYP státuszukkal, minden esetben figyelembe kell vennünk a kezelésük során alkalmazott dózist is. Ennek megfelelően a vérszint/dózis arányokat értékeljük. A betegeknek megfigyelhető eltérő vérszinteknek két fő oka lehet. Az egyik a CYP génnek polimorfizmusa, a másik pedig a környezeti és endogén hatásokra bekövetkező, eltérő CYP expresszió. Gyenge metabolizálóknak (PM) hívjuk azokat az egyéneket, akikben az adott izoenzim nem, vagy gyengébben működik. Léteznek továbbá olyan páciensek akik átlagosan (intermediér metabolizálók, IM), illetve az átlagnál gyorsabban (extenzív metabolizálók, EM) bontják le az adott vegyületet.

Laborunk munkatársai huszonegy epilepsziás gyermeknél még a valproát terápia megkezdése előtt meghatározták a betegek CYP2C9 genotípusát és CYP2C9 expresszióját. Tizenöt betegnél gyenge (PM), hatnál átlagos (IM) metabolizáló képességet mutattak ki. Az általunk kidolgozott LC-MS/MS módszer segítségével meghatároztuk a betegek valproát vérszintjét. Ezen eredmények összevetése után arra lehetett következtetni, hogy valproát kezelés esetén van összefüggés a betegek CYP státusza és a vérszint értékek között, sőt a CYP enzimek expresszióján kívül a CYP genotípust sem szabad figyelmen kívül hagyni. Ezen információk segítségével javaslattal élhetünk a gyógyszeres kezelésre vonatkozóan, hogy melyik betegnél érdemes alacsony vagy normál dózist alkalmazni. Klonazepám kezelésben részesült betegeknél munkatársaink nem tapasztaltak összefüggést a CYP-genotípus (CYP3A5) és a klonazepám vérszint/dózis értékek között. A klonazepám vérszintek alakulásában sokkal inkább meghatározó a CYP3A4 enzimszint (fenotípus). A többi gyógyszerhatóanyag (pl. antipszichotikumok) esetében még folynak a vizsgálatok, hasonló összefüggések keresésével.

Mindezek tükrében csoportunk arra a következtetésre jutott, hogy az antiepileptikumokkal kezelt betegek csökkent gyógyszer-metabolizáló képességét nem csak monoterápia esetén érdemes figyelembe venni, hanem minden olyan esetben, mikor a karbamazepin, klonazepám vagy valproát mellett egyéb

gyógyszeres kezelést is kap a beteg. Ezen túlmenően a gyógyszerinterakciók elkerülése érdekében a kombinált terápiát célszerű úgy megválasztani, hogy az adott gyógyszer a másik hatóanyag lebontásában szerepet játszó enzimek működését ne befolyásolja. Amennyiben elengedhetetlen ilyen farmakon alkalmazása, a klinikus előre felkészülhet a bekövetkező gyógyszerinterakciókra, továbbá racionálisan módosíthatja a terápiát a vérszintek időben történő ellenőrzésével. Ezek kapcsán belátható, hogy a pontos vérszint meghatározás elengedhetetlen a gyógyszeres kezelések során, melyhez a tandem tömegspektrometria révén kiváló analitikai módszer áll rendelkezésünkre.

IRODALOMJEGYZÉK

- [1] M. J. Neal: Rövid farmakológia, B+V (medical & technical) Lap- és Könyvkiadó kft., 2000.
- [2] Mike S. Lee, Mingshe Zhu: Mass spectrometry in drug metabolism and disposition, 2011 John Wiley & Sons Inc., Hoboken, New Jersey
- [3] M. Ingelman-Sundberg, *Journal of Internal Medicine*, 250: 186-200 (2001)
- [4] Holló A., Janszky J., Halász P.: Az antiepilepsziás terápia gyakorlata, Budapest-Bethel Epilepszia Centrum Alapítvány, Budapest, 2002.
- [5] Kremmer Tibor, Torkos Kornél: Elválasztástechnikai módszerek elmélete és gyakorlata, Akadémiai kiadó, Budapest, 2010
- [6] M. C. McMaster: LC/MS, A practical user's guide, John Wiley & Sons, Inc. 2005
- [7] E. de Hoffmann, V. Stroobant: Mass spectrometry, Principles and Applications, John Wiley & Sons Ltd, 2007