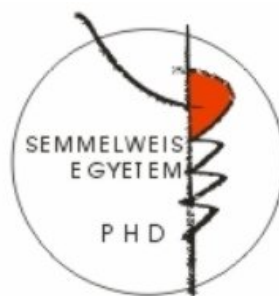


Természetes hatóanyagok jelentőségének vizsgálata máj- és bélbetegségekben

Doktori értekezés

Rapavi Erika



Témavezető: Dr. Blázovics Anna orvostudomány kandidátusa, Ph.D

Hivatalos bírálók: Dr. Lemberkovics Éva egyetemi tanár, Ph.D

Dr. Szöllősiné Dr. Varga Ilona egyetemi docens, Ph.D

Szigorlati bizottság elnöke: Dr. Szőke Éva egyetemi tanár, az MTA tagja

Szigorlati bizottság tagjai: Dr. Lemberkovics Éva egyetemi tanár, Ph.D

Dr. Köteles György egyetemi tanár, az MTA tagja

TARTALOMJEGYZÉK

ÖSSZEFOGLALÁS	6
SUMMARY	7
RÖVIDÍTÉSJEGYZÉK	8
1. BEVEZETÉS	9
2. CÉLKITŰZÉSEK	11
3. IRODALMI ÁTTEKINTÉS	13
3.1. A szervezet szabad gyök – antioxidáns egyensúlya	13
3.2. A polifenolok redox-homeosztázist befolyásoló szerepének aspektusai	16
3.2.1. Flavonoidok	17
3.2.1.1. A flavonoidok antioxidáns tulajdonsága	18
3.2.1.2. A flavonoidok prooxidáns tulajdonsága	19
3.2.1.3. A flavonoidok, mint szignálmolekulák	20
3.2.1.4. A flavonoidok metabolizmusa	21
3.2.1.5. A flavonoidok P450-enzimrendszerre gyakorolt hatása.....	22
3.2.1.6. Citrus flavonoidok: diozmin és heszperidin	23
3.3. A gyógynövény-készítmények mint preventív, terápiás és kockázati tényezők	27
3.3.1. Gyógynövénykészítmények engedélyezése és forgalmazása.....	28
3.3.2. Kínai gyógynövény-készítmények	30
3.4. Eltérő etiológiájú májbetegségek	34
3.4.1. Nem alkoholeredetű zsírmáj betegség.....	34
3.4.2. Vegyszer okozta májkárosodás: Tioacetamid hatása az élő szervezetre.....	35
4. ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK	39
4.1. Anyagok	39
4.2. In vitro vizsgálatok	40
4.2.1. Vizes kivonat készítése.....	40
4.2.2. Részleges fitokémiai analízis.....	40
4.2.3. Mikro- és makroelemek koncentrációjának meghatározása.....	42
4.2.4. Redoxi-paraméterek meghatározása.....	42
4.3. Humán in vitro vizsgálatok	44
4.3.1. Minta előkészítés	44

4.3.2. Lymphocyta szeparálása.....	44
4.3.3. Lymphocyták blasztosodásának vizsgálata	44
4.4. In vivo vizsgálatok.....	45
4.4.1. Biológiai minták előkészítése	46
4.4.2. Metabolit és enzimaktivitás meghatározások	47
4.4.3. Szöveti redoxi-paraméterek meghatározása	50
4.4.4. Szöveti minták elemtartalmának meghatározása.....	51
4.4.5. Fénymikroszkópos feldolgozás	52
4.4.6. Egyéb meghatározások	52
4.5. Statisztikai analízis	53
5. EREDMÉNYEK ÉS ÉRTÉKELÉSÜK.....	54
5.1. In vitro vizsgálatok.....	54
5.1.1. A 'Mecsek Tisztító' tea és a 'Tieguanyin Gyomor' tea összehasonlító <i>in vitro</i> vizsgálata.....	54
5.1.1.1. Főbb bioaktív hatóanyagok tartalmi meghatározása	54
5.1.1.2. A Mecsek és a Tieguanyin teakeverék ásványi elemtartalmának vizsgálata	55
5.1.1.3. Hatóanyag-, ásványi- és nyomelem-kioldódás vizsgálatok, antioxidáns kapacitás meghatározása az áztatási idő függvényében.....	57
5.1.2. Beiqishen tea és Hibiscus sabdariffa <i>in vitro</i> vizsgálata.....	63
5.2. Humán in vitro vizsgálatok	69
5.2.1. A Beiqishen teakeverék és a Hibiscus sabdariffa vizes kivonatának hatása humán lymphocyták proliferációjára	69
5.3. In vivo experimentális vizsgálatok	73
5.3.1. A Tieguanyin- és a Mecsek tea kúraszerű fogyasztásának hatása az egészséges szervezetre patkányban	73
5.3.1.1. A Tieguanyin és a Mecsek tea kúraszerű fogyasztásának hatása a vér különböző paramétereire	74
5.3.1.2. A Tieguanyin és a Mecsek tea kúraszerű fogyasztásának hatása a szöveti antioxidáns státuszra	76

5.3.1.3. A Tieguanyin és a Mecsek tea kúraszerű fogyasztásának hatása a plazma és a vörösvértest elemtartalmára	79
5.3.1.4. A Tieguanyin és a Mecsek tea kúraszerű fogyasztásának hatása a májmikroszóma drogmétabolizáló enzimrendszerére	80
5.3.2. Párhuzamos diozmin-heszperidin kezelés hatása a szöveti redox-homeosztázisra étrendi eredetű zsírmájban	82
5.3.2.1. Párhuzamos diozmin-heszperidin-kezelés hatása a vér különböző paramétereire étrendi eredetű zsírmájban	83
5.3.2.2. Párhuzamos diozmin-heszperidin-kezelés hatása a szöveti antioxidáns státuszra étrendi eredetű zsírmájban	85
5.3.2.3. Párhuzamos diozmin-heszperidin-kezelés hatása a duodenum-, jejunum-, ileum- és colon-mucosa redox-egyensúlyára	90
5.3.2.4. Párhuzamos diozmin-heszperidin-kezelés hatása a máj, a plazma és a vörösvértest elemtartalmára étrendi eredetű zsírmájban.....	91
5.3.2.5. Párhuzamos diozmin-heszperidin-kezelés hatása a májmikroszóma drog-metabolizáló enzimrendszerére zsírmájban	94
5.3.2.6. Párhuzamos diozmin-heszperidin-kezelés hatása a zsírmáj szöveti képére.....	95
5.3.3. Nagydózisú diozmin-heszperidin kezelés hatása a szöveti redox státuszra regenerálódó zsírmájban.....	97
5.3.3.1. Diozmin-heszperidin elő- és utókezelés hatása a szérumparáméterekre regenerálódó zsírmájban.....	99
5.3.3.2. Diozmin-heszperidin elő- és utókezelés hatása a szöveti antioxidáns státuszra regenerálódó zsírmájban	101
5.3.3.3. Diozmin-heszperidin elő- és utókezelés hatása a máj és a plazma elemtartalmára regenerálódó zsírmájban	105
5.3.3.4. Diozmin-heszperidin elő- és utókezelés hatása a regenerálódó máj szöveti képére	106
5.3.4. Nagydózisú diozmin-heszperidin utókezelés hatása a tioacetamid-indukált májkárosodásra	108
5.3.4.1. Diozmin-heszperidin-kezelés hatása a vér különböző paramétereire tioacetamid-indukált májkárosodásban	109

5.3.4.2. Diozmin-heszperidin-kezelés hatása a szöveti antioxidáns státuszra tioacetamid-indukált májkárosodásban	111
5.3.4.3. Diozmin-heszperidin-kezelés hatása a duodenum-, jejunum-, ileum- és colon-mucosa redox-egyensúlyára tioacetamid-indukált májkárosodásban ..	113
5.3.4.4. Diozmin-heszperidin-kezelés hatása a máj, és a plazma elemtartalmára tioacetamid-indukált májkárosodásban	114
5.3.4.5. Diozmin-heszperidin-kezelés hatása a májmikroszóma drog-metabolizáló enzimrendszerére tioacetamid-indukált májkárosodásban.....	116
5.3.4.6. Diozmin-heszperidin és a tioacetamid kezelések hatása a máj szöveti képére	117
5.3.5. Nagydózisú diozmin-heszperidin utókezelés hatása a tioacetamid által károsított máj regenerációjában.....	119
5.3.5.1. Diozmin-heszperidin utókezelés hatása a vér különböző paramétereire tioacetamid-indukált májkárosodásban	120
5.3.5.2. Diozmin-heszperidin utókezelés hatása a szöveti antioxidáns státuszra tioacetamid-indukált májkárosodásban.....	122
5.3.5.3. A diozmin-heszperidin utókezelés hatása a plazma elemtartalmára tioacetamid-indukált májkárosodásban.....	125
5.3.5.4. Diozmin-heszperidin utókezelés hatása a máj szöveti képére	126
6. KÖVETKEZTETÉSEK, TÉZISEK	128
7. IRODALOMJEGYZÉK	132
8. SAJÁT KÖZLEMÉNYEK JEGYZÉKE	144
KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS.....	150

Összefoglaló
Doktori (Ph.D) értekezés
Természetes hatóanyagok jelentőségének vizsgálata máj- és bélbetegségekben
Készítette: Rapavi Erika
Témavezető: Dr. Blázovics Anna Ph.D
Készült a Semmelweis Egyetem, II. Belgyógyászati Klinika,
Biokémiai Kutatólaboratóriumában 2006-ben

A sejtek, szövetek redox-homeosztázisa rendkívüli jelentőséggel bír az alapvető életfolyamatokban, annak megzavarása a szervezet egészét érintő következményekkel jár. Vizsgálataink egyik célja volt hazai és külföldi gyógyteakeverékek és drogok *in vitro* és *in vivo* állatkísérletes tanulmányozása az egészséges emlős szervezet redoxi folyamataira, illetve immunmoduláns képességük vizsgálata humán lymphocyták blasztosodására. További célunk volt a diozmin és heszperidin citrus flavonoidokat tartalmazó Detralex gyógyszer hatásának vizsgálata terápiás dózisban a szöveti redoxi paraméterekre étrendi eredetű zsírmájban. A flavonoidok *in vitro* prooxidáns hatása ismeretében *in vivo* körülmények között vizsgáltuk e nagy dózisban alkalmazott gyógyszer hatását egészséges májban, továbbá étrendi eredetű és tioacetamid okozta májkárosodásban a spontán regeneráció során. Biokémiai, analitikai, hisztológiai egymást kiegészítő modellrendszert alkalmaztunk.

A vizsgált teakeverékek és a *Hibiscus sabdariffa* drog *in vitro* antioxidáns és szabadgyök-befogó tulajdonságot mutatott nem-enzimikus rendszerekben, mely koncentráció- és áztatási időfüggő volt. A *H. sabdariffa* drogból és a Beiqishen teakeverékből készült kivonat az adott koncentrációkban nem gátolta a lymphocyták spontán blasztosodását, azonban mindkét tea koncentrációtól függően gátolta a fitohemagglutinin és a pokeweed mitogén által indukált humán lymphocytá prolifерációt. Állatkísérletben igazoltuk, hogy a vizsgált teakeverékek vizes kivonata szignifikánsan befolyásolta az egészséges máj és a plazma redox-homeosztázisát 21 napos alkalmazást követően. A terápiás dózisban adott diozmin-heszperidin-kezelés kedvezően befolyásolta a zsírmájban felborult szabad gyök – antioxidáns egyensúlyt. A gyógyszer nagy dózisban rontott (425 mg/ttkg) vagy nem változtatott (315 mg/ttkg) a regenerálódó máj redox-homeosztázisán.

Kutatási eredményeink rávilágítottak arra, hogy a nem vényköteles növényi eredetű gyógyszerek és gyógynövény-készítmények hatóanyagai nagy dózisban alkalmazva

kedvezőtlenül befolyásolhatják a beteg és az egészséges szervezet redox-homeosztázisát.

Summary
Ph.D Thesis
Importance of herbal preparations in liver and bowel diseases

Prepared by Erika Rapavi
Supervised by Dr. Anna Blázovics Ph.D
Biochemical Research Group, II. Department of Medicine, Semmelweis University,
2006

The redox homeostasis of cells and tissues is vital for fundamental life processes, its disturbance may cause damage to organism. The goal of our investigations was to examine the effect of Hungarian and foreign herbal teas on blast transformation of human peripheral blood lymphocytes *in vitro*, and to study their impact on redox processes of the healthy mammal organism *in vivo*. Our further aim was to evaluate the effect of the therapeutic dosage of a diosmin-hesperidin-containing drug (Detralex®) on redox parameters of alimentary-induced fatty liver in rats. Some authors reported that dietary phenolics exhibit pro-oxidant and cytotoxic properties under certain conditions. Based on these observations we examined the effect of high dosages of this drug on the redox state of liver in healthy animals, as well as on redox processes of liver regeneration in rats with experimental hepatic injury induced by lipid-rich diet and thioacetamide. Biochemical, analytical, and histological methods were used.

The results show that the aqueous extracts of the herbal teas examined have antioxidant properties as a function of concentration and steeping time in non-enzymatic systems *in vitro*. The effect of the infusion of calyx of *Hibiscus sabdariffa L.* and Beiqishen herbal tea on the cell-mediated immune response suggests that these infusions have *in vitro* immunomodulating, cytostatic properties. Both infusions decreased mitogen-induced blastogenesis in normal subjects. These extracts did not affect, however, the level of spontaneous proliferation of human lymphocytes. Aqueous extracts of the herbal teas studied significantly influenced redox homeostasis of the liver and plasma in healthy rats. Treatment with a drug containing diosmin (450 mg) and hesperidin (50 mg), in therapeutic dosage, may improve the antioxidant defensive system and the redox state in alimentary-induced fatty liver disease. High dosages of the drug (425 mg/body weight/day and 315 mg/body weight/day, respectively) deteriorated or did not change the redox state of liver during the recovery period.

In conclusion, it may be stated that high dosage of herbal drugs and preparations may have pro-oxidant effect in both healthy and sick organisms.

RÖVIDÍTÉSJEGYZÉK

ALB	albumin	NAD	nikotinsavamid-adenin-dinukleotid
ALP	alkalikus-foszfataz	NADP	nikotinsavamid-adenin-dinukleotid-foszfát
ALT	alanin-aminotranszferáz	NAFLD	non-alcoholic fatty liver disease nem alkoholeredetű zsírmájbetegség
AMY	amiláz	NASH	non-alcoholic steatohepatitis nem alkoholeredetű steatohepatitis
AST	aszpartát-aminotranszferáz	O ₂ ⁻	szuperoxid-anion
CHOL	koleszterin	·OH	hidroxil-gyök
FAD	flavin-adenin-dinukleotid	PHA	fitohemagglutinin
FMO	flavin-monooxygenáz	PWM	pokeweed mitogén
GLU	glükóz	RBC	vörösvérsejtszám
GSH	redukált glutation	RLU (%)	relative light unit (%) (kemilumineszcens fényintenzitás)
GSSG	oxidált glutation	ROS	reaktív oxigén vegyületek
GSH-Px	glutacion-peroxidáz	SOD	szuperoxid-dizmutáz
H ₂ O ₂	hidrogén-peroxid	TAS	totál antioxidáns státusz
HCT	hematokrit	TG	triglicerid
HDL	magas fajsúlyú lipoprotein	T.P.	összfehérje
HGB	hemoglobin	UA	húgysav
MCV	átlagos sejt-térfogat	WBC	fehérvérsejtszám
MDA	malondialdehid	WHO	World Health Organisation

Statisztikai rövidítések:

x	átlag
SD	standard deviancia
SEM	standard hiba

A táblázatban nem található egyéb rövidítéseket a szövegben magyarázom.

1. BEVEZETÉS

A gyógyszeripar gyakran alkalmazott alapanyagai a növényi hatóanyagok. A gyógyszerkincs jelentős részét a természetben megtalálható gyógyszerkomponensek teszik ki (66). A gyógynövények szerepe az egészségmegőrzésben, mint az egészséges táplálkozás része, vitathatatlan. Napjainkban egyre többen fordulnak a természetben fellelhető hatóanyagok felé, ritkábban egészségmegőrzés, gyakrabban öngyógyítás céljából. Ennek eredményeként előtérbe kerültek a természetes eredetű hatóanyagokat tartalmazó gyógyszerek, gyógynövénykészítmények. A növényi készítmények jelentősége a 20. század első évtizedeiben lecsökkent a szintézis útján előállított készítmények elterjedésének következményeként. A különböző súlyosságú mellékhatások megjelenése, valamint az a felismerés, hogy a szintetikus hatóanyagok nem helyettesítik az egyén saját felelősségét egészsége felett, a gyógynövények újrafelfedezését indította el.

A növényeknél jelentős tapasztalati háttér alakult ki az évezredek gyógyászatában betöltött szerepük miatt, ennek ellenére a természetes hatóanyagokat tartalmazó gyógyszerek hatásmechanizmusáról, interakcióiról, indikációs területeiről nincs elegendő ismeret. Jelenleg e témakör intenzív kutatások tárgyát képezi. Fontos különbséget találunk a gyógynövények és a növényi gyógyszerek között, mely különbség a komponensek komplexitásában nyilvánul meg. Minden gyógynövényben hatóanyag-együttes található, míg a növényi gyógyszerek egy-egy izolált, mennyiségében és minőségében pontosan meghatározott hatóanyag(ka)t tartalmaznak. Az 1980-as években a farmakognóziái kutatások egyértelművé tették, hogy bizonyos növényi hatóanyagokkal kapcsolatos hatás a bennük kimutatható vegyületek együtthatásának tulajdonítható. A rendkívül összetett hatóanyag arzenál egyes alkotóelemei közötti kapcsolatot, illetve együttműködést jelenleg is csak töredékesen ismerjük és értjük. Bármelyik komponens izolálása, kivonása után, a kivonat elveszítheti hatásosságát. Ez a tény felveti a lehetőségét annak, hogy a növényi gyógyszerek hosszantartó, vagy nagy dózisu alkalmazásakor mellékhatások jelenhetnek meg. A mellékhatások adódhatnak abból, hogy felborítják a szervezet rendkívül érzékeny redox-homeosztázisát, mely a szükséges szabadgyök-szint és az egyes antioxidánsok egymást kiegészítő, egymást regeneráló kapcsolatával valósul meg.

Egy betegség manifesztálódásakor a szervezet antioxidáns védekező rendszere már nem képes megfelelő módon ellátni feladatát, ekkor a kívülről bejuttatott szabadgyök-befogó molekulák alkalmazása válhat szükségessé. Ebből következett, hogy ezeket a hatóanyagokat a növényekből kivonva, vagy szintetikus formában előállítva gyógyszerként, az étrendi dózisonál lényegesen nagyobb mennyiségben alkalmazták az erőteljesebb kedvező hatás elérése céljából. Ismert, hogy ezek az elvárások nem teljesültek maradéktalanul. Klinikai tanulmányok súlyos mellékhatásokról számoltak be pl. nagymennyiségű (> 1 g/nap) katechin (cyanidanol) adagolása során (54).

A növényi gyógyszerek részét képezik a gyógyszeres terápiának. Alkalmazhatók alapkezelésként, de kiegészíthetnek egyéb terápiát is. Legismertebb növényi gyógyszerhatóanyagok, a természetben szinte mindenhol megtalálható flavonoidok. Az utóbbi két évtizedben elvégzett jelentős számú experimentális és epidemiológiai vizsgálat eredményei bizonyították, hogy számos növényi komponensnek, köztük a flavonoidoknak is, jelentős egészségvédő hatása van, és ugyancsak jelentős szerepet játszanak különböző daganatos elváltozás kifejlődésével szemben, valamint a szív- és érrendszeri betegségek megelőzésében (43, 78, 92, 114). Kedvező hatásukat antioxidáns aktivitásuknak és szabadgyök-befogó képességüknek tulajdonították. A későbbi vizsgálatok, azonban arra is rávilágítottak, hogy ugyanaz a flavonoid lehet antioxidáns és prooxidáns koncentrációjától és a környezeti feltételektől függően. A flavonoidok, és más polifenolos vegyületek, prooxidáns tulajdonsága hozzájárulhat a tumoros sejt apoptózisához, illetve a rák kemopreveníciójához (73). Ugyanakkor ezt a képességet teszik felelőssé a flavonoidok mutagén és karcinogén hatásáért is. A nagy számú *in vitro* vizsgálatok azt mutatják, hogy a polifenolos vegyületek prooxidáns hatást akkor fejtenek ki, amikor nagy dózisban és/vagy önmagukban kerülnek alkalmazásra (32, 193, 234). Az utóbbi évek leginkább kutatott területei közé tartoznak e vegyületek redox-homeosztázisban és a jelátvitelben betöltött szerepének vizsgálatai is (230).

2. CÉLKITŰZÉS

A természetes hatóanyagok hatásmechanizmusának minél jobb megértéséhez, *in vitro* és *in vivo*, az élő szervezet redox-homeosztázisára gyakorolt befolyását kívántam tanulmányozni a kutatócsoport által a korábbi években kifejlesztett széles vizsgálati eszköztárat alkalmazva.

***In vitro* vizsgálatok**

A kereskedelmi forgalomba kerülő gyógyteák nem minden esetben felelnek meg a szabványokban előírtaknak. Több esetben a hatóanyagok minősége és mennyisége sem ismert. Kiemelkedően fontos tehát ezeknek a készítményeknek az alapos és körültekintő vizsgálata. Tanulmányaim tárgyát olyan népszerű gyógynövény-készítmények ('Mecsek Tisztító' tea, 'Tieguanyin Gyomor' tea, Beiqishen tea) képezték, melyek a magyar kereskedelmi forgalomban is megtalálhatók, egy gyógynövényt (*Hibiscus sabdariffa* L. szárított csészelevel) pedig Khan-el-Khalili-ből (Egyiptom) szereztünk be.

Vizsgálataim célja volt, hogy a készítmények főbb, a szervezet redox-homeosztázisát befolyásolni képes bioaktív komponenseit és ásványi elemtartalmát meghatározzam. A főzetek és forrázatok a legnépszerűbb gyógyszerformák közé tartoznak, mert könnyen bevehetők, gyorsan felszívódnak a szervezetben, továbbá elkészítésük nem igényel különleges felszerelést. A gyógyteába kioldódott hatóanyagok mennyiségét számos tényező befolyásolja. Ezek között szerepel: a talaj minősége, a csapadék mennyisége, a napfényes órák száma, valamint a gyűjtés, a tárolás, a szállítás és a feldolgozás körülményei. De nem elhanyagolható a teakészítés módja, a tea főzőedény anyaga, a teadrog mennyisége, a víz hőmérséklete, és az áztatási idő sem. Mindezen körülmények közül az áztatási időt tettem megfigyeléseim egyik tárgyává, mivel a gyógyteakészítésnél ez az egyik legelhanyagoltabb tényező.

Mivel az antioxidáns kapacitás nagysága függ a nyomelem-státusztól, melyet nagymértékben befolyásolhatnak a növényekben jelen lévő természetes komplexképző anyagok, vizsgálataimmal arra is kerestem a választ, vajon ezeknek a komplexképző vegyületeknek a mennyisége változik-e a teadrog áztatási idejének növelésével, ha igen, megváltoztatják-e a forrázat antioxidáns paramétereit?

Humán *in vitro* vizsgálatok

E vizsgálatoknak az volt a célja, hogy az antioxidáns tulajdonságot mutató Beiqishen tea és a Hibiscus sabdariffa L. drog vizes kivonatainak immunmoduláns képességét tanulmányozzam és vizsgáljam hatásukat a lymphocyták blaszt-ranszformációjára.

***In vivo* experimentális vizsgálatok**

A polifenol komponensek biológiai aktivitásvizsgálatát gyakran sejtkultúrákon vagy izolált szöveteken végzik, mely nem ad pontos képet hatásukról, mivel a polifenolok nagymértékben metabolizálódnak a szövetekben, szervekben. A polifenolok bélnyálkahártyán keresztül történő felszívódásáról indirekt bizonyítékaink vannak, melyet a polifenolban gazdag ételmisszer elfogyasztását követően, a különböző szövetek (plazma, máj, bél, vörösvértest) antioxidáns kapacitás-változásából ítélünk meg.

A kutatások során képet akartam kapni arról, hogy az egészséges szervezet kiegyensúlyozott redoxi-állapotát a kúraszerűen fogyasztott gyógyteák ('Tieguanyin Gyomor' és a 'Mecsek Tisztító' tea), hogyan befolyásolják Wistar patkányban.

Az elhízás egyre nagyobb problémává válik a világon mind a felnőtt, mind a gyermekpopulációban, a fejlett és a fejlődő országokban egyaránt. A magyar populáció 60 %-a elhízott (197). A steatosis hepatis okozhatja általános anyagcsere-zavar (pl. elhízás), vagy lehet a májsejtek funkcióromlásának jele, melyet toxikus ágensek (hepatotoxikus gyógyszerek, vegyszerek, pl. tioacetamid) idéznek elő. Az állatkísérletek során mindkét kiváltó okot modelleztük.

Vizsgálataimat egy Magyarországon Detralex néven törzskönyvezett gyógyszerrel folytattam. A nem vényköteles gyógyszer alkalmazása hazánkban is népszerű a krónikus vénás betegségek terápiájában, mely betegség nagyfokú elhízás esetén zsírmájbetegséggel is társulhat (165). Hatóanyagai a diozmin és a heszperidin citrus flavonoidok, melyeknek hatását eddig nem vizsgálták zsírmájbetegségben. A kísérleteket a gyógyszer terápiás dózisában és nagydózisban is végeztem, mely a terápiás adag ötszörösét és hétszörösét jelentette.

Vizgáltam a citrus flavonoidok hatását a máj, plazma, vörösvértest és különböző bélszakaszok antioxidáns – szabadgyök egyensúlyára, a fémhomeosztázisra és a májmikroszóma monooxigenáz-enzimrendszerének működésére eltérő eredetű májkárosodásokban.

További célom volt tanulmányozni a nagydózisú flavonoid-bevitel redoxi-paraméterekre gyakorolt hatását a kialakult májkárosodást követő természetes szöveti regenerációra.

Vizsgáltam a gyógyteák és a citrus flavonoidokat tartalmazó gyógyszer hatását a vérképre, mert ismert, hogy számos flavonoid képes haemolyticus anaemiát okozni.

3. IRODALMI ÁTTEKINTÉS

3.1. A szervezet szabad gyök – antioxidáns egyensúlya

Az aerob sejt metabolizmusában a katabolikus folyamatok jelentős része redoxi-reakció. A sejtben, mint vizes oldatban a különböző oxidációs – redukciós folyamatokban résztvevő molekulák redoxi-rendszert képeznek. Jellemzően a szervezet oxidációs folyamatait szabadgyök-képződés kíséri. A szabad gyökök olyan reaktív oxigén-, nitrogén-, kén-, vagy szénközpontú kémiai struktúrák, melyeknek legkülső elektronhéján párosítatlan elektron található, aminek következtében rendkívül reakcióképesek, instabilok, és legtöbbjük rövid életidejű. Fiziológias körülmények között a szervezetben keletkező legfontosabb szabadgyök-források a mitokondriális és mikroszomális elektron-transzport láncokból származó elektron-áramlás, a fagociták, monocyták, makrofágok és Kupffer-sejtek respiratory bursts-je, a NO-szintetáz és a peroxisómák aktivitása, valamint a colonban lokalizált szuperoxid-aniont termelő oxidáz szintén hozzájárul a reaktív gyöktermeléshez. Az elektrontranszferrel járó reakciókban az elektronok speciális átvivő molekulákra kerülnek, melyek közül a legfontosabbak a NAD, FAD, NADP, glutation (GSH) és az aszkorbinsav. Az átvivő molekulák redukáltsági foka meghatározó jelentőségű a sejt metabolizmusában. A kutatások során fény derült arra, hogy a szabad gyököknek esszenciális szerepe van, többek között, a sejtciklus szabályozásában, a sejt metabolikus folyamataiban, a jelátvitelben és a sejt védekező mechanizmusában (7, 203). Szekunder messengerként hatnak számos jelátviteli molekulára a kemotaktikus citokinek és a sejtfelszíni adhéziós fehérjék aktiválásakor. A szabad gyökök kis koncentrációban apoptózist okozhatnak, míg nagyobb mennyiségük nekrotikus sejthalálhoz vezethet (15, 151, 167).

A szabad gyökök kontrollálatlan felszaporodása következtében kialakuló stresszállapot pleiotrop modulátor, mely számos extra- és intracelluláris folyamatot generál. A patológiásan jelenlévő szabad gyökök hatása különböző betegség formájában manifesztálódhat.

Biológiai rendszerekben az elsődleges szabadgyök-reakció, a lipidperoxidáció, mely a telítetlen zsírsavtartalmú lipidekben gazdag membránstruktúrák (mikroszóma, lizoszóma, mitokondrium, plazmamembrán) károsodásához vezet. Ezek a folyamatok újabb láncreakciókat indítanak el, melyet katalizálnak a xenobiotikumok átalakulása során keletkező újabb gyökök, a természetes radioaktív sugárzás, a fény, a hőszugárzás és az átmeneti fémek elektrontranszportja. A másodlagos szabadgyök-reakcióban olyan reaktív közti és végtermékek (aldehid, keton) keletkeznek, melyek további láncreakciót kezdeményeznek (69).

Bizonyos körülmények között, például hipoxiában, redukív stressz állapot alakul ki. Reduktív stresszről akkor beszélünk, amikor a redukáló ekvivalensek koncentrációja megnő a sejtben, vagyis a NADH/NAD⁺ arány felborul. Napjainkban már bizonyítékok támasztják alá, hogy a redukív stressznek nagyobb jelentősége lehet az abnormális reaktív oxigéngyök-képződésben, mind az oxidatív stressznek (79, 115). Magyar kutatók munkája az első olyan tanulmány, mely felhívja a figyelmet arra, hogy a szervezett megzavart redox-homeosztázisának helyreállításában egy olyan ősi védelmi rendszer működik, mely metángáz, szén-monoxid, és szén-dioxid termeléssel védekezik a rendkívül magas NADH/NAD⁺ aránnyal szemben. A szerzők azt gondolják, hogy az olyan vegyületek, melyeknek elektron befogására képes, elektrofil metil-csoportjuk van, mint például a kolin, a szervezet fő védelmi szerepét játszhatják ROS károsodással szemben (79).

Mind a növényi, mind az állati szervezet hatékony védelmi rendszert épített ki az oxidáció megakadályozására. A rendszer enzimes és nem enzimes elemekből áll. A szervezet elsősorban az alacsony szöveti oxigén tenzió (26 Hgmm) kialakítására és fenntartására törekszik. A sejtek redukált állapotuk fenntartására törekszenek a környezet oxidatív változásaival szemben azáltal, hogy a sejtben lévő fő redoxi-molekulákat (pl. glutation, tioredoxin) redukált formában tartják (69, 138). A tioredoxinok (TRX1, TRX2, TRR1-tioredoxin-reduktáz) kisméretű oxidoreduktázok, melyek a sejt redox-homeosztázisának fenntartásában vesznek részt. Mind az oxidatív,

mind a redukív stressz kompenzálásában szerepük van. A glutation (GSH) gyökfogó képessége a szulfhidril-csoportjának köszönhető. Fiziológiai pH-n csaknem 98,8%-a protonált formában van jelen, mely miatt a szabadgyök-reakciókban hidrogén atom átadásával vehet részt (189). A szabad gyökök keletkezésének gátlása, ill. kevésbé káros molekulává alakítása az antioxidánsok feladata.

Antioxidánsnak nevezzük azt a molekulát, mely az oxidálható szubsztráthoz képest alacsonyabb koncentrációban van jelen a szervezetben, és szignifikánsan gátolja, vagy lassítja a szubsztrát oxidációját (87). Az antioxidáns molekulák egy részét (enzimeket, kismolekulájú vegyületeket) a szervezet állítja elő a szükséges mennyiségben. Vannak azonban olyan molekulák, melyek előállítására nem képes, ezért felvételük táplálkozás útján történik. Ide tartoznak a vitaminok, és a növényekben megtalálható polifenolos vegyületek (10, 22, 170). A preventív antioxidánsok, mint a transferrin, laktoferrin, ferritin és a cöruoplazmin, az átmeneti fémionok inaktiválását végzik komplexek kialakítása révén. A szabadgyök-befogó vegyületek, például a C- és E-vitamin, a húgysav, a redukált glutation, a bilirubin, a szabad gyököket kevésbé aktív vegyületekké alakítják (62, 131). A nem enzimes elemek közé tartoznak az ásványi anyagok is. Az ásványok maguk nem antioxidánsok, de közülük néhány elem elengedhetetlenül szükséges a szervezet által termelt antioxidáns enzimek felépítéséhez. Így például a szelén, a vas, a mangán, a réz és a cink. Az antioxidáns védekező mechanizmus aktivitása tehát a fémion-státusztól is függ. A szabad gyökök és a fémionok sejten, illetve sejtmagon belüli jelenléte a jelátvitel során jelezheti, hogy e faktorok szerves részét képezik egy ősi, evolúciós stressz-adaptációs mechanizmusnak (178, 198, 201).

Az NF- κ B (nukleáris faktor) az oxidatív stresszre adott sejtszintű válasz egyik legfontosabb transzkripciós faktora. Aktivációja során az intracelluláris kalcium és a reaktív oxigén intermedierek szintje megnövekszik, majd a sejtmagba transzlokálódik. A heterodimer NF- κ B számos gén – mint pl. a TNF (tumor nekrosis faktor), interleukin (IL)-6, IL-1, makrofág kolóniastimuláló faktor, sejtfelszíni receptorok, antioxidáns enzimek – expresszióját szabályozza. A transzkripciós faktorok aktiválásával párhuzamosan a stressz során keletkező szabad gyököket generáló folyamatok is gátlódnak (190, 191).

Az enzimatisus védelemben nélkülözhetetlen szerepük van a szabad gyököket közvetlenül eliminálni képes enzimeknek, mint pl. a szuperoxid-dizmutáznak (SOD), a kataláznak, és a glutation-peroxidáznak (GSHpx), illetve a szabad gyökök által károsított biomolekulák rekonstrukcióját végző enzimeknek is (DNS-javító enzimek, epoxi-hidrolázok, aldehid-reduktázok) (69).

Az egyes antioxidánsok egymást kiegészítő, egymást regeneráló kapcsolatban állnak egymással. Az egyes antioxidánsok más-más szövetet, celluláris kompartmentet védenek, és egymással is közvetlen kölcsönhatásban állnak (154, 185). A természetben megtalálható antioxidáns tulajdonságú vegyületek, mint például a polifenolok, a táplálkozás során a szervezetbe kerülve részévé válnak a redox-homeosztázist fenntartó, befolyásoló rendszernek.

3.2. A polifenolok redox-homeosztázist befolyásoló szerepének aspektusai

A polifenolok a növényvilágban az egyik leggyakrabban és legnagyobb számban előforduló vegyületek. Napjainkig több mint 8000 különböző fenolos vegyületet izoláltak (88). Az utóbbi két évtizedben elvégzett jelentős számú experimentális és epidemiológiai vizsgálat eredményei bizonyítják, hogy számos, eddig kevésbé ismert növényi hatóanyagának jelentős egészségvédő hatása van. A rendszeres zöldség- és gyümölcsfogyasztás különösen a gége, a tüdő, a nyelőcső, a gyomor és a vastagbél daganatos elváltozásainak kifejlődésével szemben, valamint a szív- és érrendszeri betegségek megelőzésében bír jelentős szereppel (78, 92, 114).

A polifenol gyűjtőnév számos különböző szerkezetű, több hidroxil-csoportot tartalmazó vegyületsorozat összefoglaló neve. Ide tartoznak a flavonoidok, hidrolizálható cserzőanyagok (galluszsav származékok), a kondenzált cserzőanyagok (proantocianidinek), kumarinok, lignánok, ligninek és egyéb kis molekulatömegű fenolos vegyületek, mint pl. pirogallol, katechin. A polifenolos vegyületeket kémiai struktúrájuk alapján 10 különböző osztályba sorolják (194).

A polifenolok a növényi szekunder anyagcsere termékei (130). Elsősorban glikozid formában fordulnak elő a növényvilágban. Az alapvázhoz (aglikon) kötődő egy vagy több cukormolekula kapcsolódhat az aglikon alkoholos vagy fenolos OH-jához (O-glikozidok), szerves szénatomhoz (C-glikozidok), tioalkoholhoz (S-glikozidok), valamint aminhoz (N-glikozidok). A glükózon kívül többek között galaktóz, ramnóz,

xilóz, mannóz, rutinóz (ramnóz és glükóz) és arabinóz is részt vehet a glikozid-kötésben. A glikozid jelentősége a növény számára a detoxikációban van. Számos mérgező fenolvegyület (pl. hidrokinonok, rezorcinok) glikozidos formában lekötve fordul elő a növényekben (24).

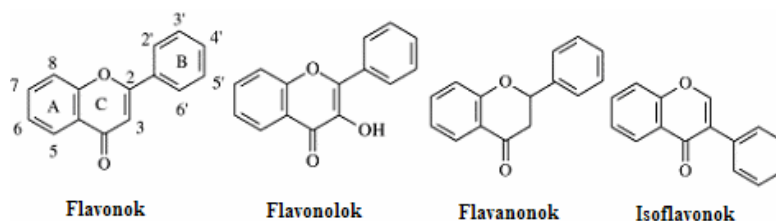
A polifenolos vegyületek nem jelentenek tápértéket az emberi szervezet számára, vagyis élelmiszereink nem-tápanyag komponensei közé tartoznak. Korábban antinutritív komponensként tartották számon ezeket a vegyületeket, mert azt gondolták, hogy a tápanyagok felszívódását, emésztését, hasznosulását gátolják. Erre alapot szolgáltatottak a proteáz inhibitorok, melyek az emésztő enzimek működését gátolják, vagy az egyes oligomer és polimer polifenolos vegyületek, melyek a fehérjékhez való kötődésük miatt azok hasznosulását gátolják, illetve a fitinsav, mely nagy mennyiségben a vas felszívódását akadályozhatja meg (132). A további kutatások azonban fényt derítettek ezen komponensek egészségre gyakorolt jótékony hatásaira is, melyet nagyban befolyásol a koncentráció és a jelen lévő egyéb anyagok mennyisége és minősége.

3.2.1. Flavonoidok

A természetben megtalálható vegyületek közül a flavonoidok, a növényvilágban való széles elterjedtségüknek, számos és szerteágazó élettani hatásuknak köszönhetően, a legnépszerűbb kutatási célpontok közé tartoznak.

Flavonoidok alatt 13 különböző vegyületcsoportot értünk, melyek közül a leggyakoribbak szerkezete látható az 1. ábrán. A flavonoidok egymástól az alapszerkezethez kapcsolódó hidroxil-csoportok számában, helyzetében, valamint a C₂-C₃ szénatomok közötti kettős kötés meglétében vagy hiányában térnek el.

1. ábra: A flavonoidok egyes alcsoportjai



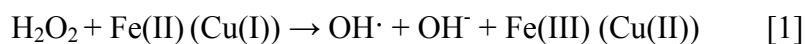
A flavonoidok feladata a növény védelme különböző sugárzásokkal, növényi kártevőkkel, vírusokkal, baktériumokkal és gombákkal szemben. Ezt a védő funkciót

látják el az élő szervezetben is. A flavonoidok terápiás hatásának hátterében elsősorban antioxidáns karakterüket feltételezték, majd előtérbe kerültek a prooxidáns viselkedésüket vizsgáló kutatások. Napjainkban már, a molekuláris szintű kutatások lehetővé tették hatásuk mélyebb tanulmányozását is (98, 170).

3.2.1.1. A flavonoidok antioxidáns tulajdonsága

Az 1960-as évektől folynak vizsgálatok a flavonoidok antioxidáns hatására vonatkozóan, mely hatást feltételezték biológiai aktivitásuk, és számos biokémiai folyamatot befolyásoló tulajdonságuk hátterében (46).

A kutatások megállapították, hogy flavonoidok antioxidáns hatásukat többféle mechanizmus útján fejtik ki: 1. közvetlen szabadgyök-befogó aktivitás: szuperoxid-anion, peroxil-, alkoxil- és hidroxil-gyök scavengernek bizonyultak in vitro vizsgálatokban; 2. enzimgátlás: gátolják az O₂•- képződésért felelős enzimeket (pl. xantin-oxidáz), gátló hatást gyakorolnak egyéb, a reaktív oxigén gyökök képződésében szerepet játszó enzimekre (pl. ciklooxygenáz, lipoxigenáz, NADH-oxidáz); 3. fémkelátorok: flavonoid-fémion komplexet képeznek az oxigén metabolizmusban fontos szerepet játszó átmenetifémekkel, nyomelemekkel. A szabad vas- és rézionok a H₂O₂ redukciója útján fokozzák a rendkívül reakcióképes hidroxil-gyökök képződését, mellyel elősegítik további reaktív szabad gyökök keletkezését [1] (22, 149, 182, 232).



A molekulászerkezet az egyik meghatározó tényezője a flavonoidok antioxidáns hatásosságának. A gyökfogó aktivitás és a flavonoidok szerkezete közötti összefüggés vizsgálata rávilágított arra, hogy a flavonoidok szabadgyök-befogó aktivitása leginkább a B- és a heterociklusos C-gyűrű szerkezetétől és az azokon található szubsztituensektől függ. A szerkezeti sajátosságok közül a legfontosabbak: I. a B-gyűrű katekol szerkezete; II: a 2-3 kettőskötés a heterociklusos gyűrűben (C-gyűrű), mely hatást erősíti a 4-oxocsoport jelenléte; III. a 4-es oxocsoport, valamint 3' és 5' helyzetben OH-csoportok jelenléte, melyek között H-kötés alakulhat ki; IV. a 3', 4,' 5 szénatomon OH-csoport. Az I. feltétel a molekulászerkezetben mutatott legjobb elektrondonor tulajdonsága, valamint a szabad gyökök leggyakoribb támadáspontjaként betöltött szerepe, a II. feltétel pedig a delokalizált elektronszerkezet kialakítása miatt jelentős. A

heterociklusos gyűrű 3-OH-csoportja szintén növeli a gyökfogyó aktivitást, továbbá a vizsgálatok azt igazolták, hogy a $O_2^{\bullet-}$ befogásában ez a csoport játsza a legfontosabb szerepet. Az említett szerkezeti sajátosságok együttesen hozzájárulnak a fenoxil-gyök stabilitásához is. A B-gyűrűn jelenlévő pirogallol szerkezet tovább növeli ugyan a molekula gyökfogyó aktivitását, azonban a harmadik OH-csoportot is tartalmazó molekulászerkezet esetében a fenoxil-gyök képződése során $O_2^{\bullet-}$ képződését is detektálták (24, 88).

A flavonoid vegyületek alacsonyabb redoxpotenciáljuknak (0,23 V – 0,75 V) köszönhetően hidrogénatom átadásával redukálni képesek az erősen oxidáló hatású szabad gyököket, melyek redoxpotenciálja 1,0 V – 2,13 V (szuperoxid-anion, peroxil- és hidroxil-gyök) közé esik. A folyamat során fenoxil-gyök keletkezik, mely egy második szabad gyökkel reagálhat, ennek következtében a B-gyűrűn stabil kinon molekulászerkezet alakul ki. Nagy koncentrációjú átmenetifém jelenlétében azonban a fenoxil-gyök és a molekuláris oxigén találkozása szuperoxid-aniont eredményez. Ezt a jelenséget hívjuk a flavonoidok prooxidáns tulajdonságának (33, 97).

3.2.1.2. A flavonoidok prooxidáns tulajdonsága

A flavonoidok és más polifenolos vegyületek prooxidáns tulajdonsága hozzájárulhat a tumoros sejt apoptózisához és a rák kemopreveniójához (24, 32, 74). Ugyanakkor a prooxidáns hatás a mitokondriális funkciók gátlásáért is felelős lehet (97). A flavonoidok mutagén és karcinogén hatása mögött azok prooxidáns karakterüket feltételezik. Különböző mechanizmusok révén válhat prooxidáns tulajdonságúvá egy polifenolos vegyület: autooxidálódhat vizes közegben átmeneti fémionok jelenlétében miközben reaktív szuperoxid-aniont képez, mely a Fenton-reakció során hidroxil-gyökké alakul (32), továbbá a polifenolok és a flavonoidok a peroxidázoknak és más metalloenzimeknek is lehetnek a szubsztrátjai, mely reakciók során kinon-típusú prooxidánsok keletkeznek (80). Ugyanaz a flavonoid lehet antioxidáns és prooxidáns a koncentrációjától és a környezeti feltételektől függően (32). A plazma-mieloperoxidáz katalizálja a prooxidáns fenoxil-gyökök képződését, melyek ezután a lipoproteineket oxidálják, protein keresztkötéseket hoznak létre és még számos molekula oxidációját idézik elő, melyek révén hozzájárulhatnak az érlelmeszesedés kialakulásához (91). Az intracelluláris fenoxil-gyökök lipidperoxidációt is indukálhatnak, valamint oxidálhatják

a GSH-t thiil-gyökké miközben a molekuláris oxigénből szuperoxid-anion keletkezik (80).

Sergediene és munkatársai megállapították, hogy a prooxidáns hatás nem csak a flavonoidok termodinamikai paramétereitől függ, meghatározó szereppel bír a molekula lipofilitása is, melynek növekedésével fokozódhat citotoxikus hatásuk is. Kísérleteik azt mutatták, hogy a polifenolok átjutva a sejtmembránon, belépnek a sejtbe mielőtt toxikus hatásukat kifejtik. A sejt malignussá válását és átalakulását gyakran kíséri az antioxidáns enzimek (szuperoxid-dizmutáz, glutation-peroxidáz, kataláz) aktivitás csökkenése, mely hozzájárulhat a sejt prooxidánsokkal szembeni érzékenységéhez (193).

3.2.1.3. A flavonoidok, mint szignálmolekulák

A flavonoidok biológiai hatásai közül számosat antioxidáns tulajdonságuknak tulajdonítanak, melyet redukáló képességük révén vagy az intracelluláris redox-státuszra gyakorolt lehetséges befolyásukon keresztül fejtenek ki. A flavonoidok kedvező, ill. toxikus hatásainak mechanizmusai jelenleg még tisztázatlanok. Valószínűleg a klasszikus hidrogén-donor tulajdonságból adódó antioxidáns aktivitás nem az egyetlen magyarázat celluláris hatásukra. A flavonoidok metabolikus módosítása megváltoztatja antioxidáns természetüket, mivel megváltoztatja redoxpotenciáljukat (180).

Egyre több tanulmány támasztja alá, hogy a flavonoidok sejtszintű hatásai a celluláris szignál-kaszád speciális fehérjével való kölcsönhatás révén valósul meg (167, 230). Különösen szelektív hatást fejtenek ki a mitogén-aktivált protein-kináz (MAP-kináz) jelútvonalon belül. A flavonoidok függetlenül antioxidáns tulajdonságuktól, szelektív szabályozó hatást fejtenek ki a sejtben a protein-kináz és lipid-kináz szignál-kaszádok számos komponensére. Ilyen molekulák például, a foszfoinozitol-3-kináz, tirozin-kinázok, protein-kináz C és MAP-kinázok. Ezekre az útvonalakra gyakorolt gátló vagy stimuláló hatás jelentős befolyással bír a sejtfunkciókra azáltal, hogy megváltoztatják a célmolekula foszforiláltságát és/vagy módosítják a génexpressziót (1, 118). Számos olyan lehetőség van, ahol a flavonoidok kölcsönhatásba léphetnek kulcsfontosságú jelútvonalakkal. Ilyen például az oxidatív stressz-indukálta apoptózis flavonoid-közvetített gátlása (230).

A flavonoidok hatását tanulmányozva, napjainkban egyre gyakrabban felmerülő kérdés, hogy a tapasztalt változások a flavonoidok antioxidáns tulajdonságához vagy a szignálmolekulákat gátló hatásukhoz köthető. Feltételezzük, hogy e komplex hatások háttérében az antioxidáns karakter érvényesülhet.

3.2.1.4. A flavonoidok metabolizmusa

A flavonoidok a polifenolok nagy családjába tartoznak; a polifenolokra általában jellemző metabolizmust ebben a fejezetben tárgyaljuk. Bár a flavonoidok *in vitro* antioxidáns tulajdonságairól beszámoló tanulmányok számosát találjuk az irodalomban, ennek ellenére is csak keveset tudunk *in vivo* hatékonyságukról, biohasznosulásukról az emberi szervezetben. A polifenolok kémiai struktúrája befolyásolja redoxpotenciáljukat. Azonban a szabadgyök-fogás, illetve az antioxidáns tulajdonság szerkezeti feltételeinek megléte vagy hiánya, az ebből adódó *in vitro* hatáskülönbségek jelentősége lényegesen kisebb, mint amit a bélnyálkahártyán keresztüli különböző felszívódási sajátságok jelentenek.

A polifenolok felszívódását a vékonybélből számos fizikai-kémiai paraméter befolyásolja, ezek közül a legjelentősebbek a molekulaméret, lipofilitás, oldhatóság, pK_a , a biológiai faktorok közül, pedig a gyomor- és bél-tranzitidó, a lumen pH-ja, membránpermeabilitás valamint a first-pass metabolizmus eredményeként a biliaris exkréció (188).

A fenolos vegyületek metabolizmusában a glikozidos kötés hasítását követően leggyakrabban a hidroxil-csoportok glükoronsavval, szulfáttal vagy glicinnel konjugálódnak, a katekol-csoportok O-metileződnek. A glikozid kötés hidrolízise a cukorrész kapcsolódási pozíciójától függően végbemehet a vékonybélben és a májban is. A kutatások alapján jelenleg három humán eredetű enzimet ismerünk, melyeknek β -glükozidáz aktivitása van (89). A vizsgálatok kimutatták, hogy a flavonoid vegyületek szubsztrátként szolgálnak a vékonybél UDP-glükuronil-transzferáz és katekol-O-metil-transzferáz enzimeinek számára. Konjugációs és metilezéses reakciók is végbemehetnek a vékonybél ileum és jejunum szakaszán (24). Mindezen folyamatokat követően a vena portae-n keresztül jutnak a májba, ahol további metabolikus átalakulások mennek keresztül. A májból a flavonoid-konjugátumok az epébe ürülnek, majd ismét a bélbe jutnak, ahol a bélbaktériumok révén megint hidrolizálódnak és így aglikon formában

reabszorbeálódnak, mindezek következtében egy enterohepaticus körforgásban vesznek részt. Gyakorlatilag a keringő polifenolok mindegyike glükuronid vagy szulfát formában van jelen a plazmában, szabad aglikonokat legtöbbször nem találtak itt. Ettől függetlenül elmondható, hogy a táplálkozás során a szervezetünkbe jutó flavonolok metabolizmusában a döntő szerepet a vékonybél játssza (188).

A flavonoidok metabolizmusában ugyancsak fontos szerepet játszik a vastagbél baktériumflórájának metabolikus aktivitása. Ebben a bélszakaszban mind a glikozid hidrolízise, mind pedig a konjugáció végbemehet (107).

Farmakokinetikai vizsgálatok alapján feltételezhető, hogy a polifenolos vegyületek közvetlen hatást is kifejthetnek a gastrointestinalis tractusban, miután nagy koncentrációban lehetnek itt jelen. A bélben kifejtett hatásuk közé tartozhat az átmeneti fémionok komplexbe fogása, a reaktív nitrogén- és oxigénközpontú szabad gyökök befogása vagy a ciklooxygenázok és lipoxigenázok gátlása. Ennek következtében a bélnyálkahártyára közvetlen védő hatással lehetnek a mucosát érő oxidatív károsodással, vagy a karcinogének hatásával szemben. A kevésbé abszorbeálódó bor és tea polifenolok orális adagolását követően patkányban a DNS oxidatív károsodásának csökkenését mutatták ki a vakbél mucosájában (43). A polifenolok képesek voltak redukálni a tumorok számát azoximetánnal kezelt patkányban (30).

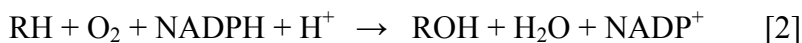
A polifenolok a tápanyagokkal is interakcióba lépnek a béllumenben. Stabil komplexet képezhetnek az étrendi vassal és korlátozhatják annak felszívódását a bélből (26, 65, 102).

A flavonoid-glikozidok egy jelentős hányada előzetes hidrolízis nélkül szívódhat fel a tápcsatornából (98).

3.2.1.5. A flavonoidok P450-enzimrendszerre gyakorolt hatása

Az monooxygenáz-enzimrendszer tagjainak fő feladata a testidegen vegyületek és egyes endogén anyagok átalakítása hidroxilezés, N-, O-, S- dealkilezés, N-, S-oxidáció, epoxidképződés, oxidatív dezaminálás és dehalogénezés révén. A P450-enzim az elektron transzportot létrehozó redukáló enzimekkel, úgymint NADPH-citokróm-P450-reduktáz, NADH-citokróm-b₅-reduktáz, multienzim komplexet alkot és az alábbi reakciót katalizálja [2]:

P450



A szubsztrát megkötése után az enzim aktív helyén lévő Fe(III) redukálódik. A redukció során a NADPH-ról az elektronok a NADPH-citokróm P450-reduktázon keresztül jutnak el P450-hez. A redukáló enzim két koenzimet tartalmaz (flavin-adenin-dinukleotid és flavin-mononukleotid). A redukált Fe(II)-öt tartalmazó P450-enzim képes megkötni a molekuláris oxigént és egy újabb elektron felvételével stabilizálódik. Az elektron két enzimből is származhat: NADPH-citokróm-P450-reduktáz és NADH-citokróm-b₅-reduktázból. A keletkezett komplex O-O kötése felhasad, egy molekula víz kilépésével aktív intermedier jön létre, mely oxidálja a szubsztrátot. Ezt követően az oxidált metabolit disszociál az enzimről (11). A P450-enzimek aktivitása a szervezetben belül nem állandó, a szervezetbe kerülő xenobiotikumok, vagy egyes endogénszabályozók képesek növelni (induktorok) vagy csökkenteni (inhibitorok) a P450-enzimek aktivitását.

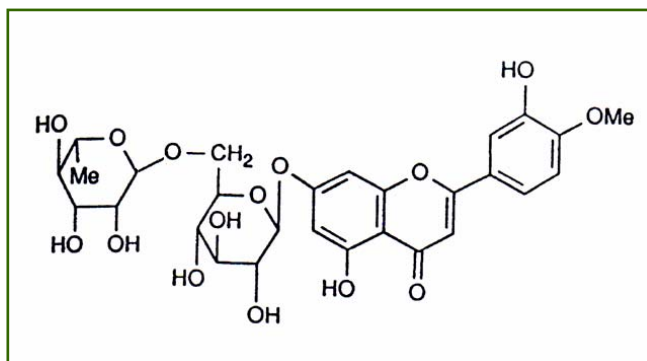
Számos tanulmány számol be arról, hogy a gyógynövény-készítmények összetevői inhibitorai vagy induktorai lehetnek a P450-enzimeknek, ennek következtében a velük együtt adott gyógyszerek farmakokinetikájára jelentős befolyást gyakorolhatnak (157, 210). Másrészt azonban a P450-enzimek gátlásán keresztül csökkenthetik egyes toxikus metabolitok képződését, amivel a karcinogenezis gátlását eredményezhetik. A prokarcinogének aktiválódása gyakran a P450-enzimrendszer meghatározott izomerjein keresztül következik be, ilyen izoenzim az 1A1, 1A2, 1B1, 2A6, 2B6 és a 3A4 (237). Ezek közül a P4501A- és az 1B-enzimek aktiválják a policiklusos aril-aminokat, poliaromás szénhidrogéneket és az aflatoxin B1-t (81). Ezek az enzimek célpontokká váltak a tumorképződés gátlása szempontjából, mely hasznos lehet a daganat kialakulásának megelőzésében.

3.2.1.6. Citrus flavonoidok: diozmin és heszperidin

1925-ben izolálták először a diozmint *Scrophularia nodosa*-ból, és 1969 óta alkalmazzák gyógyszerként. Szent-Györgyi Albert és munkatársai 1936-ban kimutatták, hogy a citrusfélékből származó flavonoidok csökkentik a kapillárisok törékenységet és

permeabilitását (183). A diozmin molekulaszervezete a heszperidintől a C-gyűrűben, a 2. és 3. szénatom közötti kettős kötés meglétében különbözik (2. ábra).

2. ábra: A diozmin szerkezeti képlete



A diozmin a heszperidin átalakításával nyerik, melyet előzőleg a citrusfélék héjából izolálnak. Több, mint 30 éve használják vénatonizáló és érvédő szerként. Az utóbbi időben kezdték el alkalmazni egyéb indikációkban is, mint pl. premenstruációs szindróma, daganatterápia, vastagbélgyulladás és cukorbetegség (72, 121, 135) eseteiben.

Önkénteseken végzett farmakokinetikai vizsgálatok kimutatták, hogy a diozmin, bevitelét követően, a bélflóra hatására gyorsan metabolizálódik aglikonjára, diozmetinre. A diozmetin már felszívódik a bélnyálkahártyán keresztül és gyorsan széteszik a szervezetben. A plazmában nem mutattak ki diozmin csak diozmetint, felezési ideje 26-43 óra között volt. A diozmetin tovább metabolizálódik, és fenolos savak vagy ezek glükuronid-konjugátumai keletkeznek, melyek a vizelettel eliminálódnak. A vizeletben sem diozmin, sem diozmetint nem találtak. A nem-abszorbeálódott diozmin és diozmetin a széklettel ürül (49).

A heszperidin a narancs elsődleges flavanonja, de még számos gyümölcsben, zöldségben és gyógynövényben is előfordul. Az étrendi heszperidin a bélnyálkahártyán keresztüli felszívódás előtt a bélbaktériumok hatására, heszperetinné deglikozilálódik. 330 mg/kg heszperidin beadását követően, a vizeletben heszperetint, 3,4-dihidroxifenilpropionsavat, 3-metoxi-4-hidroxicinnamátot, és m-hidroxicinnamátot detektáltak (3). Honohan és munkacsoportja farmakokinetikai vizsgálatánál 3-[¹⁴C]-heszperetint használva azt kapta, hogy az aglikon flavanonok bélnyálkahártyán keresztüli felszívódása több mint 90 %-ban valósulhat meg. Bebizonyították, hogy a

heszperetin metabolizmusában a májnak fontos szerepe van (99). A szájon át adott flavanonek hozzáférhetőek a bélfal drogmetabolizáló enzimeinek számára is.

Tanaka és munkatársai a diozmin és a heszperidint, mint lehetséges kemoterápiás szert vizsgálták száj-, nyelőcső-, vastagbél- és húgyhólyagrakban rágsálókban. Mindkét flavonoid önmagában, illetve együtt alkalmazva, gátolta a karcinogenezist minden vizsgált szervben (207, 208). Zheng és munkatársai, olyan természetes és szintetikus vegyületeket vizsgáltak, melyekről korábban a rák kifejlődését megelőző hatásról számoltak be, de az ehhez kapcsolódó hatásmechanizmus nem volt ismert. Tanulmányukban azt vizsgálták, hogy ezek a vegyületek az apoptózis indukálásával és/vagy a DNS szintézis gátlásával fejtik-e ki preventív hatásukat humán colorectalis tumorsejtvonalra. A diozmin és a heszperidin esetében azt találták, hogy azok kevésbé befolyásolták a sejtek életképességét és a DNS-szintézist az adott kísérleti körülmények között. Ez alapján valószínűsítik, hogy a heszperidin és a diozmin tumor-preventív hatása apoptózis- és sejtproliferáció-független (236). Crespo és munkatársai a diozmin és a heszperidin gyulladáscsökkentő hatását tapasztalták az intestinumban trinitrobenzénsulfonsav okozta colitisben. Mindezekből feltételezik, hogy a diozmin és a heszperidin hatékony védelmet képes nyújtani oxidatív károsodással szemben a vastagbélben (50).

A heszperidin mérsékelte az oxidatív stressz hatásait streptozocin-indukált cukorbetegségben, patkányban, melyet a szignifikánsan csökkent 8-hidroxi-deoxiguanozin szint jelzett összehasonlítva a cukorbeteg kontrollal. A heszperidin meggátolta a lipidperoxidációt a máj, vese és szérummintákban a streptozocinnal kezelt csoportban (145). A diozminnak gyulladásgátló, szabadgyök-befogó, és antimutagén hatása van (8, 121, 212). Santus és munkatársai tanulmányában a diozmin jól komplexálta a Cu^{2+} -inokat, mely tulajdonság alapján feltételezik, hogy ez lehet az egyik oka antioxidáns hatásának (186). A heszperidin a diozminnal együtt gátolta a reaktív oxigén-gyökök képződését zymosan-stimulált humán polymorfonukleáris neutrofilekben (51).

Ciolino és munkatársai a diozmin és a diozmetin hatását tanulmányozták a karcinogének aktivációjában részt vevő aril-szénhidrogén receptor aktivitására MCF-7

humán emlő epiteliális tumorsejtekben. A diozminnal végzett kezelés dózistól függően fokozta a 7,12-dimetilbenzantracén (DMBA) metabolizmusát. Ezzel szemben a diozmetin non-kompetitív gátlóhatást fejtett ki a P4501A1 aktivitására a DMBA-val kezelt patkányokból izolált mikroszómában (45). Egy másik kutatócsoport megfigyelte, hogy a diozmin gátolja az etoxirezorufin (EROD) és a metoxirezorufin (MROD) aktivitást koncentrációfüggően *in vitro*. Ennek következtében gátolhatja azokat a P450-enzimeket, melyeknek az EROD (P4502C6, 2A1, 2C11) és a MROD (P4501A2) a szubsztrátja. A heterociklusos aminok (HCA) promutagének, melyek a P4501A2 által aktiválódnak. A vizsgált flavonoidok (diozmin, naringin, naringenin, rutin) potenciális kemopreventív szernek bizonyultak a P4501A2-mediált HCA-k okozta mutagenézisben patkánymájban *in vitro* (8).

A külföldön Daflon, Magyarországon Detralex néven törzskönyvezett tablettá (Servier) hatóanyagait a flavon diozmin és a flavanon hesperidin főkomponensben kifejezett flavonoid kivonat 9:1 arányú mikronizált keveréke. A készítmény fő indikációs területe az alsó végtagok krónikus vénás elégtelensége, valamint a hemorrhoidális vénák betegségei. A Detralex olyan flebotróp szer, mely egyidejűleg hat a vénás tónusra, a nyirokáramlásra, és a mikrocirkulációra. Vénatonizáló és érhalózatvédő hatását a vénás rendszeren fejt ki. Gátolja a vénák tágulását és csökkenti a vénás pangást. A Detralex szignifikánsan gátolja a leukociták adhézióját és migrációját, ennek következtében a mikrocirkuláció területén normalizálja a hajszálerek átteresztőképességét és erősíti a kapilláris ellenállást. Farmakológiai aktivitását kettős vak klinikai vizsgálatokkal igazolták. Megállapították, hogy a gyógyszer fokozza a vénás tónust és csökkenti a vénák kiürülési idejét. A gyógyszer felezési ideje 11 óra. Kiürülése főként a széklettel, és kb. 14 %-ban vizelettel történik (8, 74, 80, 180).

3.3. A gyógynövény-készítmények, mint preventív, terápiás és kockázati tényezők

A WHO által 2002-ben kiadott „Egészségjelentése” kiemeli, hogy a fejlett országokban – Magyarországot is beleértve – az összes betegségteher több mint 30%-át mindössze öt kockázati tényező okozza: a dohányzás, az alkoholfogyasztás, az elhízás, a magas-vérnyomás és a magas koleszterinszint (231). Magyarországon a halálozás háromnegyed részéért a táplálkozással és az életmóddal összefüggő betegségek felelősek. Ez azt jelenti, hogy a nem megfelelő táplálkozás és életmód jelentős mértékben hozzájárul a lakosság kedvezőtlen egészségi állapotához és a következményes nagy arányú halálozáshoz. Mindezekből az következik, hogy egészséges táplálkozással és életmóddal ezek a betegségek jelentős részben megelőzhetők, sőt a már kialakult betegségben a terápia részét képezve nagyban hozzájárulhatnak akár a teljes gyógyuláshoz is (200).

A hazai táplálkozási szokások nagyon kedvezőtlenek: túlzott az energia-, zsír-, és só-bevitel, elégtelen a rost-, zöldség- és gyümölcsfogyasztás. Mindezekhez hozzáadódik a testmozgás hiánya, valamint széleskörűen elterjedtek a lelki-egészség zavarai is (131). Egyes magyar lakossági csoportok flavonoid bevitelét felmérő nem reprezentatív kutatás, a kitöltött táplálkozási kérdőíveket értékelve azt kapta, hogy a 12-15 éves általános iskolás gyerekek átlagos flavonoid-bevitelük 19,5 ± 26,6 mg/fő/nap, míg a felnőttek által elfogyasztott flavonoidok mennyisége 18,8 ± 28,9 mg/fő/nap volt. A flavonoidokon kívül valamennyi tápanyagkomponens napi bevitelét is meghatározták a vizsgált csoportokban, melyeket összevetettek az 1985-88 között készült első reprezentatív, majd az 1992-94 között végzett második magyarországi táplálkozási vizsgálat eredményeivel. Megállapították, hogy a hazai lakosság táplálkozási szokásai nem változtak lényegesen. Az hazai populációra jellemző magas zsír- és koleszterin-bevitel, az alacsony rost- és vitaminfogyasztás napjainkban is kimutatható volt (131).

A gyógynövények szerepe az egészségmegőrzésben, mint az egészséges táplálkozás része, vitathatatlan. Az Európai Unióban (EU) 1200-1300 fajta gyógynövényt tartanak nyilván. Magyarország az EU egyik legnagyobb gyógynövény beszállítója. Hazánkban mintegy 40-50 ezer hektáron folyik gyógynövénytermesztés. A Magyarországon gyűjtött drog 60-70%-a exportra kerül, az export fő iránya Németország. A

legfontosabb exportra kerülő termékek a csipkebogyó és a koriander-mag. A gyógynövények felhasználása hat fő területen folyik: fitoterápia, aromaterápia, élelmiszeripar, kozmetikai- és háztartásvegyipar, gyógyszeripar és az idegenforgalom (wellness-szolgáltatások) (215).

3.3.1. Gyógynövény-készítmények engedélyezése és forgalmazása

A növényi drogok előállításától a készítmények klinikai vizsgálatáig biztosítani lehet a magas színvonalú gyógyszer-gyártást. Az erre vonatkozó információkat a helyes gyakorlatot leíró irányelvek tartalmazzák (6):

- GMPP (Good Medical Plant Practice) – termesztés, betakarítás, gyűjtés, elsődleges és másodlagos feldolgozás irányelvei.
- GMP (Good Manufacturing Practice) – helyes gyártási irányelvek.
- GLP (Good Laboratory Practice) – a készítmények laboratóriumi vizsgálatainak irányelvei.
- GCP (Good Clinical Practice) – a klinikai vizsgálatok elvégzésével kapcsolatos előírások.

A magyarországi gyógynövény-minősítési rendszer a múlt század első évtizedeiben alakult ki, a gyógynövények minősítésére 1915-ben alapított Gyógynövény Kutató Intézetben. A növényi eredetű drogok csak akkor hozhatók forgalomba, ha megfelelő minőségükről a Gyógynövény Kutató Intézet (GYNKI) bizonyítványt állít ki. Jogsabály írja elő, hogy a csomagoláson milyen információknak kell szerepelnie, ezek a következők: a gyógynövény magyar és latin neve; a kisserelt gyógynövény tömege; az előállító, az importáló, a kisserelő cég neve, székhelye és telephelye; hatósági forgalomba hozatali száma; a kisserelés kelte és a felhasználhatóság határideje; a termékalkalmazási és/vagy elkészítési javaslata. A 203/2002. kormányrendelet 3. melléklete tartalmazza azt a 137 növényi drogot, 44 illóolajat, 19 zsírosolajat, mely Magyarországon forgalmazható. A forgalomba került teák egy részének nincs forgalmazási engedélye, ami alááshatja a jó minőségű, ellenőrzött, bizonyított hatású gyógyteákba vetett bizalmat. A gyógynövény-tartalmú gyógyteák két, jelentősen eltérő csoportját különböztetjük meg, úgymint élvezeti teák és gyógyteák, mely utóbbiakat terápiás céllal állítanak össze. A két tea hatásának különbsége az alapanyag-felhasználásban van, például a 'kamilla gyógytea' alapanyaga kizárólag a kamillavirágzat lehet, a 'kamilla élvezeti tea' alapanyagai közé kerülhet többek között a

növény szára, levele is. A gyógyteák az alapanyagot adó komponens(ek)re vonatkozó gyógyszerkönyvi cikkely(ek) előírásai, míg az élvezeti teák termékcsoportra a mindenkor érvényben lévő élelmezés-egészségügyi követelmények érvényesek. A gyógytea forgalomba helyezése OGYI-(OGYI-háromjegyű szám/engedélyezés éve) vagy GYNKI-(GYNKI-9 karakterű számsor) engedélyköteles, míg a gyógynövényalapú élvezeti teák engedélyezése az OÉTI hatásköre. Azok a teakeverékek, melyeket az Országos Gyógyszerészeti Intézet engedélyez kizárólag gyógyszertárakban, drogériákban és gyógynövényszaküzletekben hozhatók forgalomba. Azonban abban az esetben, ha a gyártó fantázia nevet ad termékének (pl. immunerősítő hatás esetén roboráló tea) és a termék mikrobiológiai tisztasága megfelel az élelmiszerkönyvi előírásoknak, a teakeverék megjelenhet élelmiszerboltokban is (215).

Az emberi felhasználásra kerülő gyógyszerekről szóló 1998. évi XXV. törvény a gyógyszernek nem minősülő gyógyhatású készítmények termékkör felszámolására jött létre. A gyógyhatású készítmények gyártóinak a törvény 2003. december 31-ig adott lehetőséget, hogy készítményüket gyógyszerként, vagy a gyógyító hatás feltüntetése nélküli étrendkiegészítőként hozzák a jövőben forgalomba. A végrehajtáshoz szükséges rendeleti szabályozás azonban nem készült el. A módosításban az átminősítésre rendelkezésre álló időszak meghosszabbítása szerepel. A 10/1987. (VIII. 19) EüM rendelet alapján gyógyszernek nem minősülő anyagként vagy készítményként nyilvántartásba vett termékek gyártói 2008. december 31-ig kérhetik készítményeik gyógyszerre vagy más termékévé való átminősítésüket. Amennyiben termékeiket nem minősítették át gyógyszerre, 2009. január 1. napjától gyógyhatásra való hivatkozással nem hozhatók forgalomba.

A gyógynövény-készítmények engedélyezését és forgalmazását az európai uniós direktívákban rögzítették, mely szabályozza a növényi eredetű gyógyszerek és a gyógynövény-készítmények besorolását, a termékek bevizsgálását és engedélyezését, kereskedelmét és reklámozását. A hagyományos növényi gyógyszereket érintő direktíva célja a Közösség gyógyszerekre vonatkozó jogszabályainak harmonizálása azáltal, hogy bizonyos hagyományos növényi gyógyszerekre egyszerűsített törzskönyvezési eljárást vezet be. Az egyszerűsített törzskönyvezési eljárás nem kívánja meg a biztonságossági és hatékonysági vizsgálatok dokumentálását, ezek helyett a kérelmező hihető

szakirodalmi vagy szakértői bizonyítékot adhat be a termék hagyományos gyógyszerhasználatának igazolására, az irodalomban fellelhető biztonságossági adatokkal és egy szakértői véleménnyel kiegészítve. A törzskönyvezett hagyományos növényi gyógyszerek reklámozásakor a következő állítást kell tartalmaznia a címkézésnek és a betegtájékoztatónak: „A termék biztonságossága és hatékonysága kizárólag a hosszú távú használaton és a vele szerzett tapasztalatokon alapul.” Szakirodalmi vagy szakértői bizonyítása szükséges annak, hogy az adott gyógyszert vagy annak megfelelő más gyógyszert legalább 30 éve orvosilag alkalmazzák, ebből legalább 15 éve a Közösségen belül. A Bizottság célja ezzel a jogszabállyal a növényi gyógyszerek egyszerűsített törzskönyvezése az EU-ban, amely az összehangolt szabályokkal és eljárásokkal az országok közötti kereskedelmet elősegíti és az európai betegek magas szintű egészségvédelmét biztosítja (58).

3.3.2. Kínai gyógynövény-készítmények

1998-ban a Magyar Tudományos Akadémia Orvosi Tudományok Osztálya tudományosan bizonyított, elfogadott orvosi ágnak minősítette a hagyományos kínai orvoslást, és 2003-ban idesorolták a fitoterápiát is.

A kínai gyógyászat gyökerei i.e. III. évezredre tehetők. A tudás és az ismeretek ősi szövegeken alapulnak. Az i. e. előtt és az azóta készült gyógyszerkönyvek tartalmát az adott kor orvosai és gyógyszerészei ellenőrizték, kiegészítették, és ha szükséges volt elvetették. A XIX. század eleje óta törekednek arra, hogy minden egyes gyógynövényről tudományosan megalapozott megállapításokat tegyenek (220).

A kínai orvoslásnak a gyógynövények használata nélkülözhetetlen eleme. A kínai orvosok az akupunktúra és a gyógynövényterápia együttes használatára törekcsenek, azonban sokkal nagyobb azoknak a száma, akik csak gyógynövényekkel gyógyítanak (209). Úgy tartják, hogy a gyógynövények a hiányzó energiákat képesek pótolni, míg az akupunktúra a meglévő energiákat tudja a megfelelő helyekre szétosztani (220). A kínai gyógyszerész kis zacskóba osztja a napi adagnak megfelelő gyógynövény mennyiséget, majd megadja hozzá a pontos elkészítési útmutatót. Súlyos, általános szervezeti leromlás esetén a kínai orvos először a gyógynövényekkel próbálja a test energiáit pótolni, s ezután kezdi el az akupunktúrás kezelést. Úgy vélik, hogy a gyógynövények képesek a kiegyensúlyozatlanságot megszüntetni, a szervezetet irányítani, a normális

működés felé befolyásolni, akár túlműködésről, akár csökkent működésről van szó. Az orvos a diagnózis felállítása után kiválaszt egyet az 500 általánosan használt receptből álló repertoárból. Mivel minden beteg test egyedi, az orvos először kiválaszt egyet a klasszikus szövegben szereplő receptek közül, majd azt különböző anyagok hozzáadásával vagy elhagyásával, ill. az alkotórészek mennyiségének megváltoztatásával az adott beteghez „igazítja”. A gyógyítás során a gyógynövények kiválasztása és kombinálása szinte művészet. A növények kombinációjával váltják ki vagy fokozzák a terápiás hatást, minimálisra csökkentik a mellékhatást és a toxicitást. A receptek általában 6-20 féle növényt tartalmaznak (176, 177).

Különböző módszerekkel növelik a gyógynövények hatásosságát. Például szeleteléssel, megfelelő oldószer alkalmazásával, sózással vagy mézzel elegyítéssel. A cél a mellékhatások minimális szintre csökkentése a feldolgozás során. A megfelelő eljárás megválasztásával például képesek a toxikus alkaloidok (pl. aconit) hatását kiküszöbölni (126). A technológiát a terápiás cél ismeretében választják meg, ugyanis lényegesen eltérő hatás kifejtésére képes ugyanaz a növényi rész eltérő elkészítési mód mellett. Éppen ezért fontos kiemelni, hogy a kínai növényi gyógyszerek tanulmányozásakor nem elegendő csupán a taxonómiai eredetük ismerete, jelentősége van az alkalmazott technológiának is (9, 126).

A gyógynövény-készítmények közül a főzet a legnépszerűbb gyógyszerforma, melyet a kínai hagyományos gyógyászatban használnak. A főzetekből oldatokat és szuszpenziókat készítenek, melyek könnyen és gyorsan felszívódnak a szervezetben, ezzel elősegítve a minél előbbi hatás kialakulását. Ezért a leginkább alkalmas gyógyszerformának tekintik ezeket akut rendellenességek kezelésében. A hagyományos kínai gyógyászat célja egy olyan kezelési stratégiának a kifejlesztése, mely az adott beteg számára a legmegfelelőbb és legegyszerűbb. A főzetek népszerűsége annak köszönhető, hogy összetételeiket könnyen meg lehet változtatni, annak érdekében, hogy minél jobban megfeleljenek az elvárásoknak. Továbbá könnyen bevehetőek, elkészítésük nem igényel különleges felszerelést. A főzetek elkészítéséhez nem használhatnak alumínium edényeket. Előnyben részesítik a kerámia és porcelán eszközöket. Oldószerként a vízen kívül szívesen alkalmaznak bort, ecetet, és tejet (177). Bár nemzedékeken keresztül nézeteltérések voltak a készítés körülményeit illetően, a legtöbb szerző a lassú és mérsékelt tűzön való főzést részesíti előnyben. Előfőzést

használnak bizonyos toxikus növények feldolgozásánál. A főzést először 30-60 percig végzik, ezt követően adják hozzá a többi alkotórészt a főzethez. E módszer segítségével elkerülhetik a mellékhatások kialakulását is. Számos aromás növény (pl. *Menthae herba*) hatóanyagát az illatát adó illóolaj képezi, mely a hosszú főzés során elillanna. Következésképpen az ilyen anyagokat csak néhány perccel a főzés befejezése előtt adják a főzethez. Néhány gyógynövény hosszú főzési időt igényel. A legtöbb főzetet kétszer vagy egyes esetekben háromszor főzik annak érdekében, hogy a lehető legtöbb hatóanyagot vonják ki. E gyógyszer-készítményeket általában két órával étkezés után ajánlják bevenni. Akut tünetek kezelésére bármikor bevehetők (9).

A kínai hagyományos orvoslással gyógyítók Kínában hangsúlyozzák, hogy a gyógyítás nem csupán a hagyományos, természetes összetevőket tartalmazó gyógyszerek felírásából áll, hanem egy olyan életstílus kialakítását jelenti, melyben helyet kap a rendszeres mozgás (pl. Qigong), az akupunktúra, a moxibustio (akupunktúrás pontok vagy nagyobb bőrterületek felett gyógynövényeket égetnek el), a masszázs és a diéta (126). Mindezek alapján felmerül a kérdés, hogy a bizonytalan komponens-összetételű kínai eredetű filteres teák, melyek nem teszik lehetővé az egyénre szabott kezelést, mennyiben azonosíthatók a hagyományos kínai gyógynövény-terápiával.

A kínai hagyományos orvostudomány a betegség megelőzését hangsúlyozza. Célja az egészség megőrzése. Ismert, hogy az ősi Kínában az orvost azért fizették, hogy megtartsa a páciens egészségét. Ha a páciens megbetegedett, az nem kapott fizetést. Ha a császár betegedett meg, az udvari orvost lefejezték. A betegség megelőzése volt az elsődleges 'gyógyászat' (159). A keleti és a nyugati módszerek ötvözése kétségkívül a leghatékonyabb eredményekhez vezethet, mind a megelőzés, mind a gyógyítás területén.

A kínai gyógynövény-készítmények egyre népszerűbbé válnak Magyarországon és a világ számos más országában is. Öngyógyítás, öngyógyszerezés biztonságosabbá tételét szolgálják az egyre szigorodó biztonsági követelmények, azonban még mindig előfordulnak olyan egészséget enyhén vagy súlyosan károsító esetek, melyeket a nem megfelelő minőség és a nem megfelelő felhasználási mód idéz elő. Shaw és munkatársai tanulmányukban egy ötéves megfigyelési időszak adatait értékelték ki, melyhez az adatokat a Londonba beérkezett növényi készítmények okozta mérgezések jelentéseiből

gyűjtötték ki (195). A kínai eredetű növényi gyógyszerek leggyakrabban jelentett mellékhatása hányinger és hányás volt, ezekben az esetekben nem zárták ki, hogy a hatóanyagok kellemetlen íze váltotta ki ezt a hatást. Egy esetben volt bizonyítható a sisakvirág (*Aconitum* spp.) okozta mérgezés. Májkárosodások 21 esetben bőrbetegségre bevett kínai eredetű növényi gyógyszerek alkalmazását követően léptek fel, ebből 14 esetben volt bizonyítható az ok-okozati összefüggés (206). A kínai eredetű növényi készítményekkel kapcsolatos esetek kivizsgálását megnehezíti a receptúrák egyéni volta (ha ismert egyáltalán), a felhasznált növények száma (20-30 is lehet) és a felhasznált növényi nyersanyagok meghatározásának nehézségei. A receptúrák komplexitása megnehezíti az esetleges egészségkárosító hatások előrejelzését. A gyűjtés ideje és helye, valamint a tárolás és feldolgozás is különbözhet ugyanazon növényfaj használata esetén, és mindezek következtében egyazon termék különböző évjáratái is különbözhetnek egymástól. A fentiek alapján célszerűnek tartják az adott termék tételenkénti bevizsgálását. A tanulmány írói fontosnak tartják továbbá, a kínai növényi gyógyszerek esetében is, az alkotórészek eredetigazolását, valamint, hogy egy-egy növényfaj szabványos farmakognosztikai módszerekkel (morfológia, anatómia, kémiai és molekuláris profil megállapítása) meghatározható legyen. Ez a rendelkezés a kínai növények Kínán kívüli minőségbiztosításának alapját jelentené (195).

A fitoterápiás szerek esetében a csomagolás felirata nem minden esetben egyezik meg a valódi tartalommal, ezért nem várt hatás jelentkezésekor a feltételezett növényeknek tulajdonított kölcsönhatásokért a valóságban egy tévesen azonosított másik növényfaj, szintetikus hatóanyagok vagy nehézfémek lehetnek felelősek (28, 36). A Kínából származó növényi készítmények egy részénél, ugyancsak problémát jelent a szintetikus gyógyszerek hozzáadása (76). Leggyakrabban koffeint, paracetamolt, indometacint, hidroklorotiazidot és prednizolont azonosítottak. A nehézfémeken kívül egyéb toxikus összetevők is fellelhetők egyes termékekben, ilyenek például a herbicidek, peszticidek, mikroorganizmusok, mikotoxinok, toxikus növényi alkotórészek, rovarok vagy egyéb meg nem nevezett komponensek (63).

3.4. Eltérő etiológiájú májbetegségek

3.4.1. Nem alkoholeredetű zsírmájbetegség

A nem alkoholeredetű zsírmájbetegség (non-alcoholic fatty liver disease: NAFLD) egyre gyakrabban előforduló jóindulatú elváltozás, mely azonban végleges májbetegséghez vezethet. A máj zsíros infiltrációja a trigliceridek akkumulációját foglalja magában. A zsírfelszaporodás leggyakoribb okai az elhízás, a malnutricio, az intestinalis malabszorpció, a metabolikus és endokrin eredetű betegségek, mint pl. cukorbetegség, hiperlipidémia. A hepatotoxikus gyógyszerek és vegyszerek és az átmeneti fémion-akkumuláció következménye is zsírmájhoz vezethet (67). A NAFLD-ben szenvedő betegek 30-100 %-a elhízott, a 2-es típusú cukorbetegség 10-75 %-os gyakorisággal fordul elő, míg a hiperlipidémia gyakorisága 20-92 % között változott. A betegség pontos prevalenciája nehezen állapítható meg, az átlagos népességben 10-24 %-ra becsülik, de ez a szám az elhízottak körében 57-74 %-ra emelkedhet. Szomorú tény, hogy növekszik a gyermekkorban felfedezett betegek száma (47). A betegség kockázata szempontjából az elhízás mértéke mellett meghatározónak tartják a felesleges zsírszövet elhelyezkedését is. A centrális elhízást fontos faktornak vélik a NAFLD kialakulásában, mert az intraabdominalis (visceralis) zsírraktárak zsírsejtjeinek nagyobb a lipolitikus aktivitása, ami miatt nagyobb a máj és a periféria számára felszabaduló szabad zsírsav mennyisége (197).

A zsírmáj jelentőségét az adja, hogy gyakran irreverzibilis májkárosodásba alakul át, miközben a reverzibilis szakaszban a betegség diagnózisa nehezen állítható fel, mivel a betegek többnyire panaszmentesek és így orvoshoz sem fordulnak. A betegségekre gyakran a véletlennek köszönhetően derül fény (pl. véradáskor, vagy valamilyen panasszal orvoshoz forduló beteg általános kivizsgálásakor) (47).

A NAFLD pontos patogenezeise még tisztázatlan. A zsír felszaporodása a parenchymalis zsírsejtekben létrejöhet (i) csökkent zsírsavoxidáció, (ii) fokozott mitokondriális zsírsavszintézis, (iii) valamint az apolipoproteinek vagy a trigliceridek szintézis/szekréció zavarának következtében (47, 67). Nem találtak még magyarázatot arra, hogy míg egyes betegekben egyszerű steatosis alakul ki, más esetekben progrediáló steatohepatitis (non-alcoholic steatohepatitis: NASH) lép fel; ezért a betegség patomechanizmusában genetikai problémát is feltételeznek. Jelentős szerepet játszik a NAFLD/NASH kialakulásában az oxidatív stressz és a lipidperoxidáció (13,

77). Kapcsolatot találtak az inzulin rezisztencia és a mikroszomális oxidációs folyamatok zavara között, melyben szerepe van a citokróm P450-enzimrendszer aktivitás-fokozódásának (11). A perifériális inzulin rezisztencia fokozza a zsírsavak mitokondriális β -oxidációját, mely folyamat során reaktív oxigéngyökök szaporodnak fel, létrehozva az intrahepaticus oxidatív stresszt. Ezt a jelenséget tapasztalták mind NAFLD-ben, mind NASH-ban, azonban csak NASH-ban figyelték meg a mitokondriumok strukturális defektusát (169).

A mikroszomális P450-enzimrendszer tagjai részt vesznek a zsírmáj oxidációs folyamatainak generálásában az $O_2^{\cdot-}$, illetve H_2O_2 szabad gyök produkció növelésén keresztül. A P450 két izoenzime, a P4502E1 és a P4504A vesz részt a hosszúszenlancú zsírsavak metabolizmusában. A máj P4502E1-enzim indukálódik éhezésben, diabéteszben, elhízásban és inzulin rezisztenciában. A folyamat összekapcsolódik a mitokondriális lipidperoxidációval, ezzel hozzájárulva az oxidatív stressz kialakulásához és propagációjához zsírmájban. Ennek következtében számos komponens indukálhat májkárosodást a P4502E1 indukálásával. A P4502E1 nagy elektron-affinitást mutat, és könnyedén hoz létre reaktív oxigén gyököket (ROS), melyek reakcióba lépnek a telítetlen kötést tartalmazó hosszúszenlancú zsírsavakkal, ezzel megindítva a lipidperoxidáció folyamatát (77). Emiatt hozzák kapcsolatba a zsírmájbetegséget a P450-enzimekkel, melyek a sejtkárosodás „második csapását” („second hit”) hozhatják létre, elsősorban akkor, amikor az antioxidáns tartalékok kiürültek (47).

A peroxiszomális β -oxidációnak akkor nő meg a jelentősége, amikor a mitokondriális β -oxidáció károsodott vagy telített. Ez a folyamat a peroxiszómák proliferációját és a H_2O_2 felszabadulás növekedését eredményezi, mely a lipidperoxidáció aktivációját idézi elő. Jórészt ezt a jelenséget teszik felelőssé azért, hogy a NAFLD NASH-n keresztül végleges májkárosodásba megy át (104).

3.4.2. Vegyszer okozta májkárosodás: tioacetamid hatása az élő szervezetre

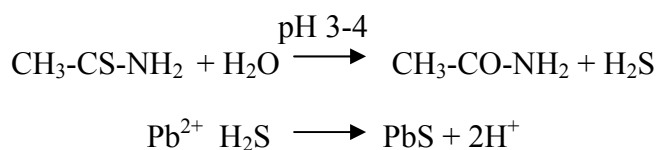
A szervezetben keletkező vagy kívülről bekerülő idegen anyagokat a máj és a vese közömbösíti, ill. távolítja el. Az átalakulás során legtöbbször biológiailag inaktív formák alakulnak ki. A szerkezetüket tekintve jelentős eltéréssel bíró vegyületek is hasonló módon alakulnak át a méregtelenítés során. Az első szakaszban a

mikroszomális lokalizációjú, monooxygenáz-enzimcsoport az eredeti vegyületből hatástalan vagy lényegesen módosult hatású metabolitot képez. A második fázisban a már átalakított termékhez újabb vegyület kapcsolódik. A konjugáció vízben oldható vegyületet eredményez. A két fő folyamat eredményeként azonban az eredeti vegyületnél mérgezőbb hatású származékok is keletkezhetnek.

Májkárosodást okozó vegyszerek és gyógyszerek száma több százra tehető. A kémiai hepatotoxicitásnak két fő típusa ismert. Az idioszinkrázián alapuló toxikus reakciók esetén immunológiai mechanizmus vagy enzimeltérések következtében alakul ki májkárosodás. Direkt hepatotoxicitásról akkor beszélünk, amikor a gyógyszer-vegyszer metabolitja valódi hepatotoxikus sajátosságú azáltal, hogy kémiai reakcióba lép a májsejt strukturális komponenseivel vagy metabolikus enzimrendszerével (223). A tioacetamid átalakulása is jó példa erre a folyamatra.

A tioacetamidot (TAA) először a narancs romlásának ellenőrzésére, majd fungicidként használták (42). Napjainkban a bőr-, textil-, és papíripar használja, mint akcelerátort a gumi vulkanizációjában, illetve mint motor üzemanyag-stabilizátort (199). Gyakran alkalmazott szer a gyógyszeranalitikában, a gyógyszerek szerves szennyeződéseinek vizsgálataiban. /Félkvantitatív kémcsőreakciók segítségével a nehézfém-szennyezést kénhidrogén (vagy kénhidrogénné hidrolizáló reagensek, pl. tioacetamid) hatására keletkező kolloidális nehézfém-szulfidtól származó elszíneződés alapján észlelik (3. ábra)/ (83, 211).

3. ábra: Nehézfémek kimutatásának reakcióegyenlete (83)



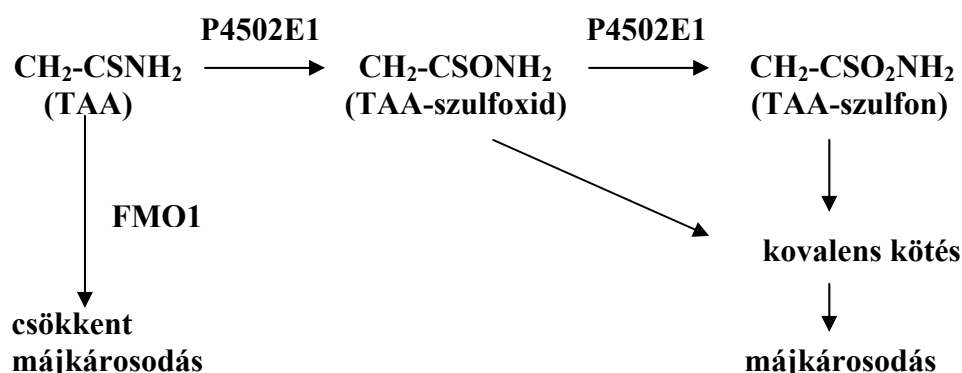
A TAA hatásmechanizmusa intenzíven kutatott terület, mióta Fitzhugh és Nelson 1948-ban felfedezte a vegyszer hepatotoxikus hatását. A TAA egyszeri intraperitoneális (6,6 mmol/kg) beadását követően, súlyos májnekrózist okozott (71). A xenobiotikum-indukált májnekrózis leginkább az adott vegyszer biotranszformációja során keletkező reaktív metabolitnak köszönhető (221). Röviddel beadását követően a TAA intenzív metabolizmuson megy keresztül, melynek eredményeképpen acetamid és tioacetamid-S-oxid keletkezik a monooxygenázoknak köszönhetően (100). Az acetamid nem okoz

májnekrózist, azonban a tioacetamid-S-oxid további metabolitjai, mint például a szulfén és a tioacetamid-S-dioxid, rendkívül reaktív komponensek, melyek a szöveti makromolekulákhoz kötődve májsejtnekrózist, apotózist (202), a mitokondriális aktivitás zavarát (146) és a szérum citokinszintjének emelkedését idézik elő (172).

Annak tisztázására, hogy a reaktív tioacetamid-metabolitok előállításában melyik oxidáz rendszer vesz részt több tanulmány született. Abban a kutatók egyetértenek, hogy a TAA ($\text{CH}_3\text{-C(S)NH}_2$) tioamid-csoportjának S-oxidációja révén TAA-sulfoxid ($\text{CH}_3\text{-C(SO)NH}_2$), majd S-dioxid ($\text{CH}_3\text{-C(SO}_2\text{)NH}_2$) keletkezik. A reaktív intermedierek kovalensen kötődnek a máj makromolekuláihoz, és végül májkárosodást okoznak (100, 172). Hunter és munkatársai vizsgálataikban azt találták, hogy az előkezelés különböző P450-enziminhibitorokkal (pyrazol, SKF-525A, kobalt-klorid, metyrapon) megakadályozta a TAA-indukálta májnekrózist (101). Ezzel ellentétben az a megfigyelés, melyről Castro és munkatársai számoltak be, ők P450-enziminhibitorokkal (SKF-525A, Sch 576) nem tudták megakadályozni a TAA hepatotoxicitását (35). De Ferreyra és munkacsoportja azt találta, hogy a flavin-tartalmú monooxygenázok (FMO) szubsztrátjaival (pl. klórpromazin, imipramin, merkaptotilamine, fenil-tiokarbamid) végzett előkezelés, ugyancsak megelőzi a TAA-okozta májnekrózist (55). A tiobenzamin ($\text{C}_6\text{H}_5\text{-C(S)NH}_2$), a TAA egy szerkezeti analógja, tiobenzamid-sulfoxiddá metabolizálódik, melyben mind a P450 (35%), mind a FMO (65%) részt vesz (219). Más tanulmányok a P4501A, P4502E1 és az FMO1 szerepét vizsgálták a TAA metabolizmusában. Wang és munkatársai vizsgálataik és korábbi munkák alapján azt valószínűsítik, hogy az FMO1 szerepe a TAA detoxifikálásában van, következésképpen a TAA toxikus metabolitjainak előállításában a P450-enzimrendszernek, azon belül is a P4502E1-nek van szerepe (4. ábra) (227). Az FMO1 olyan módon vehet részt a TAA metabolizmusában, melynek eredményeként nem reaktív intermedierek keletkeznek (4. ábra). Chiba és munkatársai kimutatták, hogy az FMO részt vesz az 1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetrahidropiridin méregtelenítésében is (40). A P4501A-nak valószínűleg nincs szerepe a TAA májkárosító hatásában, mert az enzim gátlói, a 3-metilcolantrén és a 3,4-benzpirén, nem csökkentették a TAA hepatotoxicitását (64).

Az FMO-k számos kéntartalmú vegyület és más gyenge nukleofil oxidációjában vesznek részt. Az FMO, többnyire FMO1 formában van jelen a patkányok májában és intestinumában (227).

4. ábra: A P4502E1 és az FMO1 szerepe a tioacetamid-indukálta májkárosodásban
(227)



Megfigyelték, hogy a P450-enzimektől eltérően, az FMO-enzimek számottevően nem indukálódnak a szervezetbe kerülő xenobiotikumok hatására. Az FMO expressziójának szignifikáns változását tapasztalták gonadectomiát követően (53), valamint speciális fiziológiai állapotokban, így terhességben és éhezésben is (162). Beszámoltak az FMO étrendi komponensek általi modulációjáról is (123).

A tioacetamid gyakran alkalmazott szer kísérletes cirrhosis létrehozásában, melyet a vegyszer orális vagy peritonealis alkalmazásával hoznak létre. A cirrhosis különböző állatmodelljei közül a TAA-indukált májzsugor morfológiailag jól definiálható, és a humán betegség főbb tüneteit mutatja (238, 239). A 2-hónapos TAA-ítatást követően (0,03% w/v TAA ivóvízbe adva) cirrhosis alakult ki, míg 6 hónap után májtumort mutattak ki patkányban (148).

Noda és mtsai a 0,03 %-os TAA oldatot naponta 3 hónapon keresztül adták az állatok ivóvizébe, aminek következtében cirrhosis jött létre, mely állapot a TAA elhagyását követően is 4 héten keresztül fennmaradt nőstény Sprague-Dawley patkányokban (155). A TAA-kezelt patkányok aminosav metabolizmusát vizsgálta a májkárosodás különböző stádiumaiban Masumi és munkacsoportja, melyeket az eltérő ideig itatott TAA-val ért el. A TAA-t 4 hétig itatva korai, cirrhosis előtti állapot, 12 hét után cirrhosis alakult ki, majd a TAA elhagyásával 4 héten keresztül a felépülési szakasz következett. Bebizonyították, hogy a tapasztalt máj és plazma eltérések a TAA-kezelt állatoknál kialakult malnutritionnak és a májkárosodásnak együttesen köszönhetőek (137).

4. ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK

4.1. Anyagok

Az *in vitro* vizsgálatokhoz használt növényminták (Beiqishen tea, 'Tieguanyin Gyomor' tea, 'Mecsek Tisztító' tea) kereskedelmi forgalomban levő, hatósági engedéllyel bíró termékek voltak. A *Hibiscus sabdariffa* L. szárított csészelevelei Khan-el Khaliliből származtak. A drogot a Semmelweis Egyetem Farmakognózia Intézetében azonosították, ahol sor került a vizsgálati ellenminták herbáriumi elhelyezésére is.

Beiqishen tea: gyártó - Daxing' anling Beiqishen Healthy Food Co, Ltd., forgalmazó - Egészséges Élet Kft. Engedélyek: OÉTI 50060/58806/1998; KERMI 99/2-00275.

Összetétele: *Astragalus mongolicus* gyökere, szára, levele, virága, *Ganoderma lucidum*, *Lycium barbarum* gyümölcse, *Camellia sinensis* levele.

'Tieguanyin Gyomor' tea: származási ország – Kína, szabadalmi szám: 93121193.X; forgalmazó - Oriental Herbs Kft.; OÉTI 50060/6320/I/1998

Összetétele: Tieguanyin tea (oolong tea, *Camellia sinensis* L.), kínai jujuba (*Zizyphus jujuba* Mill.), mandarin héj (*Pericarpium Citri reticulatae*), *Astragalus membranaceus* Bunge gyökér, *Atractylodes macrocephala* Koidz gyöktörzs, *Poria cocos* Schw. szkleróciuma, + egyéb fel nem tüntetett komponensek.

'Mecsek' Tisztító Tea: gyártó és forgalmazó – MEDI-SOL Kft.; OGYI-626/1996

Összetétele: feketeribizli levél (*Ribes nigrum* L.), kukoricabajusz (*Zea mays* L.), citromfűlevél (*Melissa officinalis* L.), borsmentalevél (*Mentha piperita* L.), csalánlevél (*Urtica dioica* L.), nyírfalevél (*Betula pendula* L.), zabfü (*Avena sativa* L.).

Az *in vivo* vizsgálatokban használt Detralex® filmtablettát (Servier) patikában vásároltuk.

A felhasznált vegyületek, enzimek, tápoldatok, pufferek, eszközök az alábbi cégektől származnak: 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH), mikroperoxidáz, 5-amino-2,3-dihidro-1,4 ftalazinedion (luminol), koffein standard, hidrogén-peroxid, tioacetamid, klorogénsav, rutin, kvercitrin, izokvercitrin, hiperozid standard vegyületek, pokeweed mitogén, fitohemagglutinint, tioacetamid (SIGMA, USA), Kieszelgel 60 F₂₅₄ (MERCK, Németország) főtális borjúsavó (Phylaxia, Magyarország), HEPES-puffer (Serva, GFR), Ficoll-Paque (Pharmacia, Svédország), titrációs lemezek (Greiner, Németország), ³H-timidin (NEN USA), filterpapír (Dynatech, GFR) Millipore membrán USA, multiple

cell harvester (Skatron Norvégia), szérum marha albumin (Calbiochem AG / Lucerne, Svájc) NADPH, NADH, (SIGMA, USA).

A felhasznált reagensek, reagens-készletek és diagnosztikai készletek beszerzése magyarországi kirendeltségeken keresztül történtek: Glucose GOD-PAP (Dialab, D95218B), Total protein (Randox, TP 9727), ALB plus (Roche, 1970909), Cholesterol CHOD-PAP (Dialab, D95116), Direct HDL-koleszterol (Randox, CH 2655), Triglycerides GPO-PAP (Dialab, D00389), Uric Acid (Randox, UA 9730), AST (IFCC) (Roche, 11876848), ALT (IFCC) (Roche, 11876805), ALP opt. (Roche, 11877348), α -Amylase liquid (Roche, 11555693), RANSEL (RS505), RANSOD (SD125) (Randox). A felsorolásban nem szereplő valamennyi oldószer és reagens analitikai tisztaságú volt, és a Reanal Finomvegyszergyár Rt.-től került beszerzésre, illetve patikában vásároltuk.

4.2. *In vitro* vizsgálatok

4.2.1. Vizes kivonatok készítése

A minták mindegyikéből 1-1 g-ot alufóliázott Erlenmeyer lombikokba helyeztünk, felöntöttük 100 ml forrásban lévő bidesztillált vízzel, lefedtük, majd 5, 15, 30, 60 és 120 percet követően a mintákat leszűrtük, a szűrletet bidesztillált vízzel 100 ml-re kiegészítettük.

4.2.2. Részleges fitokémiai analízis

4.2.2.1. Polifenol-tartalom meghatározás

A drogok és vizes kivonataik összpolicenol tartalmát (m/m%) a Ph. Hg. VII. módszere alapján határoztuk meg. A drogokból 3,00 g-ot, vizes kivonataikból 10,00-10,00 g-ot mértünk be, majd 150 ml vízzel (a vizes kivonatok esetében 140 ml) egyszeri forrásig melegítettük. A továbbiakban a Ph.Hg.VII.-ben leírtak szerint jártunk el (224).

4.2.2.2. Cserzőanyag-tartalom meghatározás

A cserzőanyag-tartalmat (m/m%) indirekt módon, az összpolicenol-tartalom és a bőrporhoz nem kötődő, nem cserzőanyag típusú polifenol-tartalom különbségéből határoztuk meg a Ph. Hg. VII. előirata alapján. A drog cserzőanyag-tartalmát pirogallolban fejeztük ki, pirogallol referenciaoldat segítségével (224).

4.2.2.3. Proantocianidin tartalom meghatározás

0,5 g drogot 10,0 ml 2 M sósavval forró vízfürdőn 30 percig melegítettük. A reakcióelegyet lehűtöttük, majd 10,0 ml n-butanollal ráztuk össze. A reakció a katechin típusú cserzőanyagok ún. B-csoportjának (procianidin-B) savval katalizált bomlásán, majd élénk színű cianidinklorid keletkezésén alapul. Az eredményt cianidin-kloridra kifejezve adtuk meg (205).

4.2.2.4. Flavonoid-tartalom meghatározás

A minták flavonoid tartalma (m/m%) a Német Gyógyszerkönyvben (DAB 10) leírt módszer alapján került meghatározásra. A mintákból a flavonoidok kivonása savas hidrolízissel egyidejű acetonos extrakcióval, aglikon formában történt. A flavonoid-tartalmat (szabad és kötött együtt) spektrofotometriás méréssel határoztuk meg AlCl_3 reagens jelenlétében, 420 nm-en, hiperozidban kifejezve (56).

4.2.2.5. Aromás komponensek meghatározása gázkromatográfiával

A vizsgálatokat Shimadzu GC-14A és GC-14B kapillár-gázkromatográfiás készüléken végeztük 30 m hosszú x 0,25 mm belső átmérőjű x 0,25 μm filmvastagságú kvarc kapillárkolonnával (DB 1704, ill. SE-30 folyadékfilmen). A lángionizációs detektorhoz a hidrogént generátorral, a levegőt kompresszorral állítottuk elő. Vivőgázként 99,999 nitrogéngázt 75:1 splitter aránnyal, 1 ml/min áramlási sebességgel alkalmaztunk (93).

4.2.2.6. GC/MS tömegspektrográfias vizsgálatok

A GC/MS tömegspektrometriás vizsgálatokat Finnigen-Matt GCQ „Ion-trapp”készüléken 70 eV emissziós feszültségen végeztük. A fragmentációs adatokat m/z 40-650 tömegtartományban vettük fel. 30 m hosszú RESTEK-5 kapillárkolonnában, háromlépcsős kolonnatér programmal 42,5 perces analízisidővel készültek a felvételek. 99,9999 hélium gázzal 67:1 splitter arányú, 1 ml/min áramlású vivőgázzal végeztük az elválasztást. A mintákból kloroformos etilalkoholos extraktumokat készítettünk. 8-8 g teadrog 60+30 perces 30-30 ml-es frakcionált hideg oldószeres extrakcióját követően 40 °C-on Rotavapor készülékben 1-2-ml-re betöményítettük, majd ebből 2 μl -t vittünk fel a készülékre (93).

4.2.3. Mikro- és makroelemek koncentrációjának meghatározása

4.2.3.1. Mintaelőkészítés

Növények és kivonataik, továbbá az állati szövetminták (máj, plazma, vörösvértest) elemtartalmának meghatározását végeztük el. A mintákból 0,5-1,0 g-ot mértünk be teflonbombába, majd 5 ml 65 %-os salétromsav és 2 ml hidrogén peroxid elegyében roncsoltuk. A feltárt mintákat 25 ml-es mérőlombikba öntöttük, bidesztillált vízzel jelíg töltöttük. A makroelemek koncentrációjának meghatározásához tízszeres hígítású oldatokat készítettünk. Minden növényi mintából három párhuzamos bemérés, ill. mérés történt, a szöveti minták esetében az állatok száma (n= 5, 10) határozta meg a párhuzamos minták számát. A kapott eredményekből átlagot és szórást számoltunk (204).

4.2.3.2. Elemanalízis ICP-OES-rel

A meghatározást induktív gerjesztésű plazma optikai-emissziós spektrométerrel (ICP-OES) végeztük Thermo Jarrell Ash Corporation gyártmányú AtomScan 25 ICP-vel. A készülékben 2 kW teljesítményű rádiófrekvenciás generátor (27,12 MHz) által indukált 8-10000 °K-os argonplazma gerjesztődik. Optikai rendszerében Czerny-Turner vákuummonokromátor és két fotoelektron sokszorozó (R 427 és R 889) található. A mérési tartomány 160 nm-től 850 nm-ig terjed. A készülék standardizálásához Merck atomabszopciós és ICP standardokból készült oldatokat használtunk. Két pontos kalibrálást, 3x3 másodperces integrálási időt, háttérkorrekciót és automatikus vaklevonást alkalmaztunk.

4.2.4. Redoxi-paraméterek meghatározása

4.2.4.1. Szabadgyökfogyó-kapacitás

A meghatározást Berthold Lumat 9501 luminométerrel, $\text{H}_2\text{O}_2/\text{OH}\cdot$ -luminol-mikroperoxidáz rendszerben végeztük, Blázovics és munkatársai (14) módszere alapján. Alkalikus pH-n a luminolt az oxidálószerből (H_2O_2) nehézfémionok, illetve hem-proteinek (mikroperoxidáz) hatására képződő oxigén- vagy hidroxil-gyökök (Fenton-reakció) instabil peroxidokon keresztül, fénykibocsátás közben amino-ftálsavvá bontják. A rendszer a reakció során 425 nm-en monokromatikus fényt bocsát ki, melynek intenzitása a keletkező szabad gyökök mennyiségével arányos. Amennyiben mintánknak szabadgyök-neutralizáló (scavenger) kapacitása volt, jelenlétében a mintát

nem tartalmazó $\text{H}_2\text{O}_2/\text{OH}\cdot$ -luminol-mikroperoxidáz rendszer által emittált fény mennyiséghez (háttérfényhez) képest alacsonyabb fényintenzitást mértünk, melyet RLU (Relative Light Unit) %-ban fejeztünk ki.

4.2.4.2. Hidrogén-donor aktivitás

A hidrogén-donor aktivitást Hatano (90) által módosított Blois (19) módszerével 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) stabil, szabad gyök jelenlétében vizsgáltuk, melynek metanolos oldata 517 nm-en abszorbancia maximumot mutat. H-donor molekula jelenlétében az abszorbancia csökken. Mintaoldat (M): a drogok 10 mg/ml-es vizes oldatából hígítási sort készítettünk, az így nyert oldatok 4 ml-éhez 1 ml 9 %-os DPPH oldatot (9 mg DPPH 100 ml metanolos oldata) adtunk, majd összekeverés után szobahőn inkubáltuk 30 percig. A minta vak oldat (M_V) DPPH-t nem tartalmazott (4 ml minta + 1 ml víz). A kontrolloldat (K) 4 ml vizet és 1 ml DPPH oldatot foglalt magában. Az abszorbanciát metanol vakkal szemben 517 nm-en mértük. A legmagasabb abszorbancia értéket a kontrolloldat adta. A minta H-donor aktivitását a kontrollhoz viszonyítva, gátlás %-ban fejeztük ki.

$$\text{gátlás \%} = [K - (M - M_V)] / K \times 100$$

4.2.4.3. Redukálóképesség

A biológiai minták redukálóképességét a $\text{Fe (III)} \rightarrow \text{Fe (II)}$ átalakuláson alapuló, *Oyaizu* módszerrel határoztuk meg (164). A vizsgálati minták különböző koncentrációjú vizes oldatainak 1 ml-t elegyítettük 2,5-2,5 ml 0,2 M foszfát-puffer (pH=6,6) és 1%-os $\text{K}_3\text{Fe(CN)}_6$ -oldat keverékével, majd 50 °C-on 20 percig inkubáltuk. Ezt követően 2,5 ml 10%-os triklórecetsav hozzáadása után 10 percig 3000 rpm-en centrifugáltuk. A felülúszóból 2,5 ml-t 2,5 ml bidesztillált vízzel (BDV) és 0,5 ml friss 0,1 %-os FeCl_3 -oldattal összeráztunk, majd 700 nm-n, vak oldattal szemben spektrofotometriáltuk. A vakoldat annyiban különbözött a mintaoldattól, hogy a minta helyett azonos mennyiségű BDV-t használtunk. A minta redukálóképességét aszkorbinsavat (AS) ekvivalensben határoztuk meg, azaz megállapítottuk, hogy egységnyi mennyiségű minta hány μmol aszkorbinsav redukálóképességével egyenértékű.

4.2.4.4. Komplexképző aktivitás

A minták komplexképző aktivitását *Shimada* módszere alapján (196) határoztuk meg. A módszer lényege, hogy a réz (II)-ionok hexamin pufferben tetrametilmurexid jelenlétében 485 nm-en abszorbanciamaximumot adnak. A hexaminnál erősebb

komplekképző vegyületek (pl. EDTA) a fémionokat kiszorítják a komplexből. A reakció során kialakult komplex vegyület maximumhelye a vizsgált komplexképző anyag koncentrációjától és erősségétől függően 485 nm-től 530 nm felé tolódik el. A komplexképző aktivitást a két hullámhosszon mért abszorbanciaérték hányadosával fejeztük ki (Abs_{485}/Abs_{530}). A kontroll, mely nem tartalmaz komplexképző vegyületet, a legmagasabb értéket adta.

4.2.4.5. Totál antioxidáns státusz

A meghatározás metmioglobinnal hidrogén peroxid hatására keletkező ferrimioglobin gyök és egy kromogén vegyület, a 2,2-azinobisz-(3-etilbenzotiazolin-6-szulfonsav) (ABTS) reakcióján alapszik. A reakció eredményeként kékeszöld színű $ABTS^{\cdot+}$ gyök keletkezik, mely 660 nm-en detektálható. Antioxidáns hatású vegyületek a ferrimioglobin gyök befogása révén, meggátolják a színes $ABTS^{\cdot+}$ gyök képződését, csökkentve a mérhető abszorbancia értékét. Standard vegyületként Trolox-ot (szintetikus E-vitamin származék; 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametil-kromán-2-karboxilsav) használtunk. A meghatározásokat a Randox által forgalmazott TAS diagnosztikai készlettel végeztük COBAS MIRA automata laboratóriumi analizátor segítségével.

4.3. Humán *in vitro* vizsgálatok

4.3.1. Minta-előkészítés

A minták (*Hibiscus sabdariffa* szárított csészelevelei, Beiquishen tea) mindegyikéből 1-1 g-ot alufóliázott Erlenmeyer lombikokba helyeztünk, felöntöttük 100 ml forrásban lévő bidesztillált vízzel, lefedtük, majd 15 percet követően a mintákat leszűrtük, a szűrletet bidesztillált vízzel 100 ml-re kiegészítettük. Ezt követően fiziológiás sóoldattal 10x-, 100x- és 1000x-es hígításokat végeztünk.

4.3.2. Lymphocyták szeparálása

A lymphocytákat 17 egészséges donor perifériás vénás keringéséből származó, heparinnal alvadást gátló vérből, Ficoll-Paque gradiensen centrifugálással (2000 rpm; 10 perc) szeparáltuk. A sejtek életképességét, mely 98%-nál nagyobb volt, tripánkékekkel vizsgáltuk. Ezt követően a sejteket 10 % hőinaktivált főtális borjúsérumot, 25mM HEPES-puffert és antibiotikumokat tartalmazó RPMI 1640 tápfolyadékban reszuszpendáltuk és 2×10^6 sejt/ml tartalmú szuszpenziót készítettünk (23).

4.3.3. Lymphocyták blasztosodásának vizsgálata

A szuszpenziót lapos aljú titrációs lemezek egy-egy rezervoárjába pipettáztuk, 4-4 párhuzamos kultúrát készítve. A fitohemagglutinint (PHA) 5 és 10 µl/ml és pokeweed mitogént (PWM) 5 µl/ml dózisban adtuk a sejtekhez. Lektin nélküli kontrollkultúrákat minden vizsgálatnál külön inkubáltunk. A tálcákat 37 °C-on 72 órán át 5% CO₂ tartalmú nedves atmoszférában helyeztük el. Nyolc órával a befejezés előtt a kultúrákat 0,5 µCi [³H]-timidinnel 24 óráig jeleztük. A sejteket szűrőpapírkorongra szűrtük Dynatech készülékkel. Az izotóp aktivitást folyadékszintillációs számlálóban (Nuclear Chicago, Isocap 300, USA) határoztuk meg. Az eredményeket percenkénti beütésszámban (cpm) fejeztük ki, négy párhuzamos kultúra átlagértékét véve figyelembe (82).

4.4. *In vivo* vizsgálatok

Állatkísérleteinkben összesen (előkísérletekkel együtt) 169 hím és 120 nőstény Wistar albino patkánnyal végeztünk vizsgálatokat, melyeket a TOXICOOP-tól szereztünk be. Eltérő eredetű májkárosodások állatkísérletes modelljein, a természetes eredetű hatóanyagok hatásmechanizmus, ill. hatásspektrum tanulmányozását folytattuk számos, a szervezet antioxidáns – szabad gyök egyensúlyát vizsgáló módszer alkalmazásával. Májkárosodást étrendi úton (zsírdús diéta) és hepatotoxikus vegyszerrel (tioacetamiddal) idéztünk elő. A kontrollcsoportba tartozó állatok standard tápot (Ssniff R-Z, Ssniff Spezialdiäten GmbH, Németország) kaptak. A zsírdús diéta, melyet hiperlipémia kialakulása érdekében adtunk az állatoknak, standard táphoz kevert 2% koleszterint, 0,5% kólsavat és 20% napraforgóolajat tartalmazott. A hatóanyagokat itatóvízbe, tápba keverve vagy gyomorszondán keresztül juttattuk be az állatokba. A dózis számolás a metabolikus index alapján történt. Az állatokat mély narkózisban a vena cava kanülálásával elvéreztettük és szerveiket a vizsgálatokhoz előkészítettük. A vért a további vizsgálatokhoz vákuumcsövekben felfogtuk. Narkotikumként 35 mg/ttkg i.p. Nembutalt alkalmaztunk. Az állatok testtömegét naponta mértük és rögzítettük.

A kezelések további részletezését az 'Eredmények' adott fejezeteiben ismertetem, tekintettel a kísérleti protokollok jelentős eltéréseire.

Az állatokat a Semmelweis Egyetem II. Anatómiai, Szövet- és Fejlődéstani Intézet állatházában tartottuk és kezeltük.

A kísérletek során az állatok ellátása és gondozása „Az állatok védelméről és kíméléséről” c. 1998. évi XXVIII. Törvény által előírtakkal összhangban történt. Engedély számok: TUKEB 186/1998, TUKEB 175/1998, TUKEB 69/2000.

Metabolikus dózis-számítás

A Metabolikus dózis-számítás vonatkoztatási alapját a testfelület adja. Az emlősök testfelülete egyenesen arányos az anyagcsere-testmérettel (MBS-Metabolic Body Size), mely az élő tömeg 0,75-dik hatványa: $F \text{ (dm}^2\text{)} = 10 \times S^{0,75} \text{ (kg)}$

A Detralex három dózisával dolgoztunk: a terápiás dózist (2 tableta/nap), valamint a terápiás dózis ötszörösét és hétszörösét alkalmaztuk. Az embernél alkalmazott dózis patkányra számolásánál az 1 testtömeg kg-ra megadott mennyiséget szoroztuk 4,3-mal, és elosztottuk a patkány tömegével (111).

4.4.1. Biológiai minták előkészítése

4.4.1.1. Májhomogenizátum készítése

Kísérleteinkben 190-210 g-os hím Wistar patkányokat és 160-180 g nőstény Wistar patkányokat alkalmaztunk. Az állatok vena cava posterior kanülálásán keresztüli kivéreztetését követően, az eltávolított májakat jeges hűtés mellett további aprítással és izotóniás KCl oldattal tisztítottuk meg, majd Potter-Elvehjem készülékben homogenizáltuk. A májhomogenizátumok fehérjetartalmát 10 mg/ml-re állítottuk be izotóniás KCl-oldattal.

4.4.1.2. Májmikroszóma izolálása

A mikroszóma preparálása *Cinti és mtsai* (44) módszere alapján történt. A módszer lényege: a szöveti homogenizátumból az endoplazmás retikulum (mikroszóma frakció) aggregálódik Ca^{2+} -ionnal. A fent említett módon eltávolított májak nagy lebenyeiből (lobus sinister lateralis) kimetszett 1 g-os darabot desztillált vízzel vérmentesre mostuk, majd – 20 °C-on megfagyasztottuk. Kiolvadást követően 1 g májat 2 ml 1,15% KCl-Tris pufferben (pH 7,4) homogenizáltunk, majd 9000 g-n 15 percig, 0 °C-on centrifugáltuk. A felülúszó 1,25 ml-éhez 8 ml CaCl_2 -t adtunk, ezt követően 20000 g-n, 15 percig, 0 °C-on centrifugáltuk. A mikroszómát 4 ml KCl-Tris pufferben homogenizáltuk.

4.4.1.3. Bélmucosa-homogenizátum készítése

Vizsgálatainkhoz a patkányok különböző bélszakaszaiból nyert nyálkahártya-homogenizátumot használtuk. Mintát vettünk a duodenumból, a jejunumból, az ileumból és a colonból. A bélszakaszok azonosítása és kivágása után, azokat izotóniás KCl-oldattal bélsármentesre mostuk, majd a bél külső felszíne felőli erőteljes nyomással eltávolítottuk a bélnyálkahártyát (13).

4.4.1.4. Szérum

Állatkísérleteink során a vena cava posterior punkciójával nyert natív vért használtunk a metabolitok és enzimaktivitások meghatározásához. A natív vért 2800 rpm-en 10 percig centrifugáltuk, a sejtmentes felülúszót (szérumot) leszívtuk és a további feldolgozásig 20 °C-on tároltuk.

4.4.1.5. Plazma

Az állati szervezet redox-homeosztázisát vizsgáló meghatározásokhoz trinátriumcitráttal alvadésgátolt vért használtunk. Az antikoagulált vért 2800 rpm-en 10 percig centrifugáltuk, a sejtmentes felülúszót (plazma) leszívtuk és a további feldolgozásig 20 °C-on tároltuk.

4.4.1.6. Vörösvértest

A vena cava posterior punkciójával nyert trinátriumcitráttal alvadésgátolt vért 2800 rpm-en 10 percig centrifugáltuk, a sejtmentes felülúszót (plazma) leszívtuk. A maradék vörösvértest masszát a thrombocyták és a fehérvérsejtek eltávolítása érdekében háromszor mostuk jeges vízben tartott izotóniás sóoldattal. Minden mosás között 10 percig 2800 rpm-mel centrifugáltuk. Az így nyert tiszta masszát hemoglobinra nézve azonos koncentrációjúra (10 mg/ml-ra) állítottuk be.

4.4.2. Metabolit és enzimaktivitás meghatározások

4.4.2.1. Metabolit és enzimaktivitások meghatározása szérumból

A metabolit és enzimaktivitások meghatározása szérumból standard módszerek alapján történt spektrofometriáson, Hitachi 717 klinikai automatával. Meghatároztuk az aszpartát-aminotranszferáz (AST), alanin-aminotranszferáz (ALT), az alkalikus-foszfataz (ALP), albumin (ALB), amiláz (AMY), totál protein (TP), glukóz (GLU), koleszterin (CHOL), HDL-koleszterin (HDL), triglicerid (TG), húgysav (UA)

paramétereket diagnosztikus készletek (Dialab, Randox, Roche) segítségével a gyártó útmutatásai alapján.

4.4.2.2. Glutation-peroxidáz meghatározása májhomogenizátumból és vörösvértestből

A glutation peroxidáz meghatározása patkány májhomogenizátumból és vörösvértest-hemolizátumból történt *Paglia és Valentine* módszere alapján (166), Randox diagnosztikus készlet segítségével, a gyártó útmutatója alapján. A meghatározás lényege: a glutation peroxidáz, foszfát pufferben (pH 7,2), a glutationt kumén hidroperoxid segítségével oxidálja. A glutation reduktáz az oxidált glutationt NADPH jelenlétében azonnal visszaredukálja, melyet $\text{NADPH} \rightarrow \text{NADP}^+$ átalakulás kísér. Az abszorbancia-csökkenés mérése 340 nm-en történt. A 10 mg/ml-es szérum marha albuminra beállított májhomogenizátum centrifugálását 10 percen át 4000 rpm-en végeztük, majd ezt követően a tiszta felülúszó oldatot leszívtuk. Az enzimmeghatározást ebből a tiszta oldatból végeztük.

4.4.2.3. Szuperoxid-dizmutáz meghatározása májhomogenizátumból és vörösvértestből
A biológiai minták szuperoxid-dizmutáz (SOD) meghatározása Randox diagnosztikus készlet segítségével, a gyártó útmutatója alapján történt. A módszer lényege: a xantin és xantin-oxidáz reakciója során keletkező $\text{O}_2^{\cdot -}$ reakcióba lép a 2-(4-jodofenil)-3-(4-nitrofenol)-5-feniltetrazolium kloriddal, melynek során vörös színű formazán keletkezik. A SOD fenti reakciót gátló hatását mértük 505 nm-en. A meghatározás vörösvértestből és 10 g/ml-es májhomogenizátumból a 4.3.2.2. pontban leírtak szerint előállított tiszta felülúszóból történt.

4.4.2.4. Enzim meghatározások májmikroszómából

4.4.2.4.1. Citokróm-P450-tartalom meghatározása

A meghatározást *Greim* (84) módszerével végeztük. A mikroszóma frakciót CO-dal telítettük, majd Na-ditionittal redukáltuk. A 400-500 nm közötti tartományban a Na-ditionit nélküli (vak) és a Na-ditionitot tartalmazó minták differencia spektrumát regisztráltuk. A koncentrációt a 450 és 490 nm-en kapott abszorbancia értékek különbsége alapján, $91 \text{ mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$ extinkciós koefficiens segítségével számoltuk. A mérést Hitachi U-3300 spektrométerrel végeztük.

4.4.2.4.2. Citokróm-b5 koncentráció meghatározása

A citokróm-b5 mennyiségének meghatározása *Greim* (84) módszere alapján történt. A 4.3.1.2. pont szerint előkészített minták (CO+ditionit) differencia spektrumából a 425 és 490 nm-en kapott abszorbancia értékek különbsége is olvasható, melyből a koncentrációt a $161 \text{ mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$ extinkciós koefficienssel számoltuk. A mérést Hitachi U-3300 spektrométerrel végeztük.

4.4.2.4.3. Citokróm-c-reduktáz meghatározása

A mikroszóma mintához oxidált citokróm-c-t adtunk és küvettába mértük. A NADPH hozzáadásával indítjuk el a reakciót, mely során a keletkező redukált citokróm c 550 nm-en mérhető spektrofotométerrel. 10 sec alatt mért abszorbancia érték változásából, $19,1 \text{ mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$ extinkciós koefficienssel számoltuk a koncentrációt. A mérést Hitachi U-3300 spektrométerrel végeztük. Az enzimaktivitást az 1 perc alatt keletkezett metabolit mennyiségét μmol -ban kifejezve, 1 mg fehérjére vonatkoztatva határoztuk meg. A meghatározást *Masters és mtsai* (136) munkája alapján végeztük.

4.4.2.4.4. P4501A-enzim aktivitásának meghatározása

A mérést *Burke* (27) módszere alapján végeztük el. Az inkubáló elegyből metil-alkohollal, ill. triklórecetsavval a fehérjét kicsaptuk, majd 2500 g-n, 30 percig 4°C -on centrifugáltuk. A továbbiakban a felülúszóval dolgoztunk. A szubsztrátként használt etoxiresorufin 15 perces inkubálás során resorufinná deetilálódik. A metabolit mennyisége fluoriméterrel detektálható. A gerjesztő hullámhossz 535 nm, az emissziós hullámhossz 585 nm volt. Az enzimaktivitást az 1 perc alatt keletkezett metabolit mennyiségét pmol -ban kifejezve, 1 mg fehérjére vonatkoztatva határoztuk meg. A meghatározást Hitachi F-4000 fluoreszcens spektrofotométerrel végeztük.

4.4.2.4.5. P4502E1-enzim aktivitásának meghatározása

Az enzim aktivitásának meghatározását *Reinke és Moyer* (181) módszere alapján végeztük, Beckman DU-30 spektrofotométerrel. Az inkubáló elegyből metil-alkohollal, ill. triklórecetsavval a fehérjét kicsaptuk, majd 2500 g-n, 30 percig 4°C -on centrifugáltuk. Ezt követően a felülúszóval dolgoztunk tovább. A szubsztrátként használt p-nitrofenol 15 perces inkubálás során p-nitro-katekollá hidroxilálódik. A metabolit mennyisége spektrofotométerrel mérhető 505 nm-en. Az enzimaktivitást az 1 perc alatt keletkezett metabolit mennyiségét pmol -ban kifejezve, 1 mg fehérjére vonatkoztatva határoztuk meg.

4.4.2.4.6. FMO1-enzim aktivitásának meghatározása

Az enzimaktivitás meghatározását *Pike és mtsai* (171) alapján kis módosítással végeztük, Merck Hitachi Lachrom HPLC-vel. Az inkubáló elegyből metil-alkohollal, ill. triklórecetsavval a fehérjét kicsaptuk, majd 8500 g-n, 10 percig 0°C-on centrifugáltuk. A metabolit mennyiségét a felülúszóból határoztuk meg. A szubsztrátként használt benzidamin 5 perces inkubálást követően benzidamin-N-oxidá alakul. A metabolit mennyisége HPLC-vel mérhető UV detektálással 306 nm-en. Az módszer paraméterei: izokratikus elúció, Purospher C18e oszlop, eluens összetétel: 58/42=metil-alkohol/0,1M ammónium-acetát puffer, 15 perces futtatás. Az enzimaktivitást az 1 perc alatt keletkezett metabolit mennyiségét pmol-ban kifejezve, 1 mg fehérjére vonatkoztatva határoztuk meg.

4.4.3. Szöveti redoxi-paraméterek meghatározása

4.4.3.1. Konjugáltdién-tartalom

A szövetnedves májhomogenizátumok konjugáltdién-koncentrációját *AOAC* módszer alapján határoztuk meg (5). A mintákat izo-oktánnal (1g minta/5 ml izo-oktán) 2 percen keresztül intenzíven extraháltuk Vortex készülékkel, majd az extrakciót tovább folytattuk szobahőmérsékleten, levegőtől elzárva, sötét helyen, 24 órán keresztül. A minta izo-oktános fázisát 232 nm-en fotometráltuk.

4.4.3.2. Hidrogén-donor aktivitás

A biológiai minták H-donor aktivitását a 4.2.4.2. pontban leírtak szerint határoztuk meg. A vizsgálatokhoz 50-50 µl plazmát, 10 mg/ml-es szérum marha albuminra beállított májhomogenizátumot és bélmucosa-homogenizátumot használtunk. Az abszorbanciát a 30 perces 37 °C-os inkubációt, majd a 10 perces centrifugálást (3000 rpm-en) követően olvastuk le Specord UV-Vis spektrofotométerrel (19, 90).

4.4.3.3. Redukálóképesség

A minták redukálóképességének meghatározása a 4.2.4.3. pontban ismertetett *Oyaizu* módszerrel történt (164). A vizsgálatokhoz 200 µl biológiai mintát (plazma, 10 mg/ml-es májhomogenizátum, bélmucosa-homogenizátum) használtunk. A minták redukálóképességét aszkorbinsav ekvivalensben fejeztük ki (µmol AS/g protein).

4.4.3.4. Szabadgyökfogyó-kapacitás

A biológiai minták szabadgyökfogyó-kapacitásának jellemzését H₂O₂/OH⁻-luminol-mikroperoxidáz rendszerben végeztük, a 4.2.4.1. pontban leírtak szerint. A vizsgálatokhoz 170 µl 10 mg/ml fehérjekoncentrációra beállított májhomogenizátumot, 90 µl 10 mg/ml-es bélmucosa-homogenizátumot, 150 µl plazmát, 50 µl 1 mg/ml hemoglobin tartalmú vörösvértestet használtunk (14).

4.4.3.5. Szabad szulfhidrilcsoport-koncentráció

A szabad SH-csoportok (mmol/l) meghatározása *Ellmann*-reagens (5,5'-ditiobis-2-nitrobenzoésav) jelenlétében, *Sedlak és Lindsay* által módosított *Ellmann*-módszerével történt (192). 440 nm-en detektáltuk a keletkező 2-nitro-5-merkaptó-benzoésavat. Standardként a redukált glutationt használtuk. Ezzel a módszerrel a szabad SH-csoportok együttesen kerültek meghatározásra plazmában és 10 mg/ml fehérjetartalmú májhomogenizátumban.

4.4.3.6. Malondialdehyd-koncentráció

A plazma és a májhomogenizátumok malondialdehyd-koncentrációját *Pyles* módszerével határoztuk meg spektrofotometriásan (175). 150 µl 10 mg/ml-es fehérjekoncentrációjú májhomogenizátumhoz 350 µl Desferalt tartalmazó fiziológiás sóoldatot (5 µl Desferal + 345 µl fiziológiás sóoldat), majd 2 ml TBA-reagenst (40,5 ml 20%-os ecetsav, 40,5 ml 0,8%-os tiobarbitursav, 13,2 ml 8,2 %-os lauril szulfát, 5,8 ml BDV/100 ml reagens) adtunk. Az elegyet 80 percig főztük, majd jeges vizes hűtést követően 2 ml extrakciós oldattal (n-butanol:BDV:piridin, 15:3:1 arányú keverékével) elegyítettük. 3000 rpm-s 15 perces centrifugálást követően a felülúszó abszorbanciáját 510, 532 és 560 nm-en határoztuk meg. A malondialdehyd koncentrációt az alábbi egyenlet alapján számoltuk és mg/g fehérje-ben fejeztük ki:

$$MDA_{532} = 1,22 [A_{532} - (0,56 \times A_{510}) + (0,44 \times A_{560})]$$

4.4.4. Szöveti minták elemtartalmának meghatározása

Makro- és mikroelem meghatározást végeztünk szövetnedves májhomogenizátumból, plazmából és 1 mg/ml hemoglobin tartalmú vörösvértestből a 4.2.3.1. és 4.2.3.2. pontban leírtak alapján (204).

4.4.5. Fénymikroszkópos feldolgozás

Az eltávolított májak nagy lebenyeiből (lobus sinister lateralis) kimetszett kb. 0,5 cm³ darabkákat 6%-os semleges formalinban fixáltuk, majd paraffinba ágyasztuk és 5 µm vékonyágú szeleteket metszettünk, melyeket hematoxin-eozinnal festettünk.

4.4.6. Egyéb meghatározások

4.4.6.1. Fehérjetartalom

A vizsgálati minták (szérum, plazma, májhomogenizátum, májmikroszóma) fehérjetartalmát Lowry módszerével határoztuk meg (129). A színintenzitást 650 nm-en mintát nem tartalmazó vakkal szemben olvastuk le. Standardként marha albumint használtunk. Az eredményeket mg/ml-ben fejeztük ki.

4.4.6.2. Vörösvértest hemoglobinkoncentrációjának meghatározása

A vörösvértest hemoglobintartalmát Hemisol reagens és Hemisol standard (Humán Oltóanyagtermelő és Gyógyszergyártó Rt. Gödöllő) segítségével ciánhemoglobin formában a gyártó leirata alapján határoztuk meg. A hemoglobintartalmat 1 mg/ml-re állítottuk be fiziológiás sóoldattal.

4.4.6.3. Vérvkép

A mennyiségi vérvkép vizsgálata K₂-EDTA-val antikoagulált teljes vérből történt. Meghatározásra került: hematokrit (HCT), hemoglobin koncentráció (HGB), átlagos sejt-térfogat (MCV), vörösvértestszám (RBC), fehérvérsejtszám (WBC).

4.4.6.4. Teljes vér-viszkozitás mérés

A vizsgálathoz 2 x 2,5 ml heparinnal alvadásgátolt vért használtunk, melynek egyikét 20 percen keresztül 3000 rpm-en centrifugáltuk. A mérés elve: a felülről megvilágított mérőhenger kapillárisába juttatott folyadékoszlop meniscusának helyzetváltozását 40 fotótranzisztor érzékeli és a számítógépes program a meniscus hely-idő függvényét, az ún. folyási görbét határozza meg. A newtoni folyadék (plazma) esetén a folyásgörbe jó közelítéssel exponenciális függvény. A teljes vér, mint nem newtoni (Casson) folyadék esetén a folyási görbe az elméleti exponenciális görbétől eltér. Az eltérés mértékéből lehet meghatározni a viszkozitás változását a kapilláris csőben kialakuló sebességgradiens függvényében. Teljes vér mérésekor a program 300 mPA nyírófeszültségnél és 90 1/s sebességgradiensnél számítja ki a viszkozitást. A meghatározást HEVIMET-40 kapillár viszkoziméterrel végeztük.

4.5. Statisztikai analízis

Eredményeink kiértékelését megelőzően elvégeztük adataink normalitás vizsgálatát a Kolmogorov-Smirnov teszt segítségével. A csoportok varianciáját F-próbával vizsgáltuk. A megfigyelések normális eloszlású, azonos varianciájú két független csoportjának összehasonlítására a kétmintás t-próbát alkalmaztuk. Kettőnél több független minta kiértékelése varianciaanalízissel (ANOVA) történt. A varianciaanalízis után végrehajtott Tukey HSD post hoc teszttel adtuk meg, mely kezelések okozzák a szignifikáns eltéréseket. A szignifikanciát 95 %-os valószínűségi szinten adtuk meg. Az összetartozó minták vizsgálatára, ha a normalitás vagy varianciák homogenitása miatt nem volt használható t-próba, a nem paraméteres Wilcoxon párosított tesztet használtuk. A táblázatokban szereplő értékek a mérési eredmények átlaga és szórása ($\bar{x} \pm SD$). Az ábrákon a mérési eredmények átlaga és a szórások láthatók ($\bar{x} \pm SD$, SEM). Az eredményeink kiértékeléséhez a Statistica 6.0 programcsomagot (StatSoft. Inc. USA) használtuk.

Az orvosi szakkifejezéseket az Akadémiai Kiadó által megjelentetett Orvosi helyesírási szótár (1992) alapján írtam.

5. EREDMÉNYEK ÉS ÉRTÉKELÉSÜK

5.1. *IN VITRO* VIZSGÁLATOK

A távol-keleti országokból érkező és a kereskedelmi forgalomból szabadon beszerezhető gyógynövény-készítmények összetevőiről és azok hatásairól kevés információnk van. Ebben a tanulmányunkban néhány hazánkban népszerű és könnyen hozzáférhető teakeverék vizsgálatát végeztük el. Tanulmányoztuk a minták ásványi és nyomelem-tartalmát, valamint a szervezet redox-homeosztázisában jelentős szerepet betöltő bioaktív komponensek jelenlétét. Mivel az antioxidáns védekező mechanizmus aktivitása függ a nyomelem-státusztól, melyet nagymértékben befolyásolnak a növényekben jelenlévő természetes komplexképző anyagok, vizsgálatainkkal arra is kerestük a választ, vajon ezeknek a komplexképző vegyületeknek a mennyisége változik-e a teakeverékek áztatási idejének növelésével.

5.1.1. A 'MECSEK TISZTÍTÓ' ÉS A 'TIEGUANYIN GYOMOR' TEAKEVERÉK ÖSSZEHASONLÍTÓ *IN VITRO* VIZSGÁLATA

Kísérleteinkben a Magyarországon termesztett gyógynövényekből álló 'Mecsek Tisztító' teakeveréket (Mecsek teakeverék), illetve a Kínából származó 'Tieguanyin Gyomor' teakeveréket (Tieguanyin teakeverék) vizsgáltuk meg a fenti szempontok alapján. A teakészítmények összetételét a 'Módszerek' fejezet, 'Anyagok' alfejezetében ismerttettem. A termékismertető alapján a Mecsek teakeverék összetevőinek vizelethajtó, anyagcseretermékek ürítését fokozó hatása elősegíti a salakanyag eltávolítását. Alkalmas betegségek megelőzésére, úgynevezett "tisztító" kúrák végzésére. A Tieguanyin teakeverék esetében emésztést segítő hatását emelik ki, valamint a krónikus gyomorfekély konvencionális kezelésének jó kiegészítőjeként ajánlják.

5.1.1.1. Főbb bioaktív hatóanyagok tartalmi meghatározása

Először a szervezet redox-homeosztázisát elsődlegesen befolyásolni képes hatóanyagokat határoztuk meg a teakeverékekben. A meghatározások eredményeit a 1. táblázat foglalja össze. Eredményeink alapján megállapítottuk, hogy a Tieguanyin teakeverék polifenol- és cserzőanyag-tartalma szignifikánsan magasabb volt a Mecsek

teakeverékhez viszonyítva, a flavonoid-tartalom tekintetében azonban nem mutatkozott számottevő különbség. A növényi cserzőanyagokat (tanninokat) kémiai szerkezetük alapján két fő csoportra oszthatjuk: hidrolizálható cserzőanyagokra, valamint kondenzált tanninokra (proantocianidinek). A cserzőanyagok mindkét csoportja gátolja az aszkorbinsav és a linolénsav autoxidációját, a lipoxigenáz-függő peroxidációt, gátolják továbbá *in vitro* a máj mitokondriumokban, ill. mikroszómákban lezajló lipidperoxidációs folyamatokat. A cserzőanyagok a peroxidációban keletkező szabad lipid-gyököket proton átadással semlegesítik, melynek során tannin-gyökké alakulnak, melyek terminálják a lipidek autoxidációs láncreakcióját (29). A cserzőanyagok fehérjékhez, bázikus vegyületekhez (pl. alkaloidok) kötődnek, vagy nehézfém-ionokkal csapadékot képeznek, oldhatatlanokká válnak. Magas koncentrációban kicsapják a fehérjéket, illetve gyulladáshoz vezető folyamatokat generálnak a bélcsatornában. A cserzőanyagok az endogén intestinaalis fehérjék (pl. emésztőenzimek) megkötésével gátolják azok működését, ezáltal nem csak a fehérjék lebontásában támad zavar, hanem egyéb makronutriensek (keményítő, lipidek) esetében is (127). Mindezekből következik, hogy a magas cserzőanyag-tartalmú készítmények kedvezőtlen hatásúak lehetnek a bélcsatornára.

1. táblázat: A Tieguanyin és a Mecsek teakeverék teljes polifenol-, flavonoid- és cserzőanyag-tartalma (átlag ± SD)

	polifenol-tartalom	flavonoid-tartalom (g/100g)	cserzőanyag-tartalom
Tieguanyin teakeverék	31,6 ± 4,46*	0,46 ± 0,04	19,0 ± 2,27*
Mecsek teakeverék	11,0 ± 3,55	0,49 ± 0,01	10,2 ± 3,57

5.1.1.2. A Mecsek és a Tieguanyin teakeverék ásványi elemtartalmának vizsgálata

A növényi drogok biológiai hatása a szerves és a szervetlen komponensek együttes hatásának tulajdonítható. Így fontos az ásványi elemek vizsgálata is. A Mecsek teakeverék és a Tieguanyin teakeverék elemtartalom meghatározásának mérési eredményeit a 2. táblázat tartalmazza. A két minta értékelését egymáshoz, valamint irodalmi adatok alapján az ásványi elemek növényvilágban előforduló átlagos mennyiségeihez viszonyítva végeztük el.

Az eredmények azt mutatták, hogy a kínai teakeverék más növényekhez viszonyítva nagyobb koncentrációban tartalmazott alumíniumot és ólmot. A magyar teakeverékben kiugró értéket csak a magnézium esetében tapasztaltunk. A két minta egymáshoz viszonyított elemtartalmait tekintve a Mecsek teakeverék szignifikánsan nagyobb mennyiségben tartalmazott kalciumot, káliumot, magnéziumot, nátriumot és foszfort, míg a Tieguanyin teakeveréknek bárium-, réz-, vas-, mangán-, nikkel-, kén-, titán- és cinktartalma volt jelentősen nagyobb; ezen kívül a kínai teakeverékben kobalt, króm és molibdén is detektálható mennyiségben volt jelen.

2. táblázat: A Tieguanyin és a Mecsek teakeverék ásványi elemkoncentrációja (átlag \pm SD, n=3)

elemek	Mecsek teakeverék (mg/kg)	Tieguanyin teakeverék (mg/kg)	ásványi elemek előfordulása a növényvilágban (mg/kg)
Al	61,27 \pm 2,51	1420 \pm 34,47 [#]	200*
B	17,11 \pm 0,99	14,24 \pm 5,02	5 – 40**
Ba	21,98 \pm 2,06	27,45 \pm 1,48 [#]	< 170**
Ca	11959 \pm 1518 [#]	4482 \pm 20,77	10 – 30000*
Cd	< k.h.	< k.h.	0,07 – 0,3**
Co	< k.h.	0,39 \pm 0,05	0,01-0,4*
Cr	< k.h.	0,79 \pm 0,17	0,02 – 0,2*
Cu	8,74 \pm 0,81	18,43 \pm 0,46 [#]	1 – 100**
Fe	101,8 \pm 14,15	423,1 \pm 6,61 [#]	> 100**
K	19941 \pm 1932 [#]	15653 \pm 211,4	20 – 60000*
Mg	6628 \pm 420,4 [#]	3124 \pm 70,45	< 5000*
Mn	179,2 \pm 12,72	1161 \pm 9,99 [#]	1 – 1000*
Mo	< k.h.	0,46 \pm 0,03	0,1 – 4**
Na	932,5 \pm 61,36 [#]	228,4 \pm 1,99	10 – 50000***
Ni	1,79 \pm 0,20	3,78 \pm 0,41 [#]	0,1 – 4**
P	3144 \pm 173,3 [#]	2401 \pm 10,24	3000 – 4000*
Pb	3,65 \pm 0,42	6,49 \pm 0,88 [#]	< 5*
S	2837 \pm 167,5	3274 \pm 9,90 [#]	1000 – 5000*
Ti	1,51 \pm 0,50	3,63 \pm 0,22 [#]	0,15 – 80**
Zn	38,8 \pm 2,79	46,56 \pm 0,89 [#]	1,2 – 73**

(< k.h.: kimutatási határ alatt)

[#]jelzés az egymástól szignifikánsan eltérő átlagértékeket mutatja, a nagyobb értéket jelölve

*Mengel (1976) (140); **Kataba-Pendias és mtsai (2000) (112); ***Guil-Guerrero (1998) (85)

A gyógynövényekben lévő alumínium, króm, vas, mangán, titán együttes előfordulása jelezheti a nem megfelelő gyűjtési körülményeket, de a savas talajon nőtt növényre is jellemző lehet. Szakirodalmi adatok azt mutatják, hogy a savas talajon nőtt

növények mangánkoncentrációja nagyobb az átlagos növényi koncentrációtól (204). A kínai teakeverékben mért magas mangánkoncentráció alapján feltételezhető, hogy a teakeveréket alkotó gyógynövények savas talajból származtak. Ezt a feltételezést támasztja alá Duan és munkatársainak tanulmánya is, akik arról számoltak be, hogy a kén-dioxid szennyezettség és a savas eső súlyos problémákat okoz Kínában. 1995-ben a felszíni vizek közel 10%-át veszélyeztette az elsavasodás. A savas esők következtében az erdők és a szántóföldek savasodása többek között a gyökérzetten keresztül is hat. A talajstabilitás, a talaj kémiai egyensúlya felborul, ennek következtében többek között csökken a növény által felvehető kalcium, magnézium, kálium mennyisége, valamint nő a nehézfémek kioldódásának lehetősége, ami mérgezést idézhet elő (59). A nagy alumíniumtartalom a növényekben kalcium- és magnéziumhiányt indukálhat (112). Ezt figyelhettük meg a vizsgált teakeverékek esetében is: a kínai tea rendkívül magas alumíniumtartalma alacsony kalcium- és magnéziumszintet idézett elő a növényben.

5.1.1.3. Hatóanyag-, ásványi- és nyomelem-kioldódás vizsgálatok, antioxidáns kapacitás meghatározása az áztatási idő függvényében

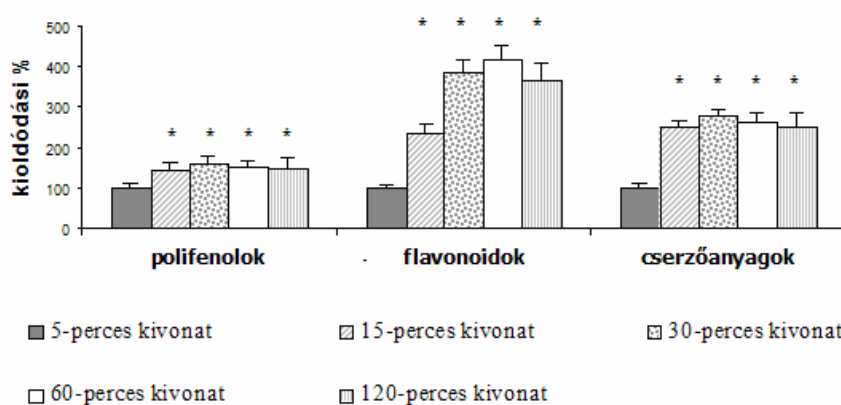
A gyógynövények és gyógyteakeverékek terápiás felhasználása szempontjából döntő a farmakológiai hatásban résztvevő vegyületek kioldódása. Ezért a teakeverékek részleges fitokémiai vizsgálatát követően a belőlük készített vizes kivonatok kerültek vizsgálataink középpontjába. A kísérletek során a kioldódott hatóanyag mennyiségek meghatározásán kívül kíváncsiak voltunk az áztatási idő befolyásoló szerepére is. A statisztikai vizsgálatokat az 5-perces (leggyakrabban ajánlott áztatási idő) oldathoz viszonyítva végeztük el. A kivonatkészítést a 4.2.1. fejezetben ismerttettem.

A két minta hatóanyag-kioldódása hasonló és eltérő sajátosságokat is mutatott. A Tieguanyin teakeverék esetében a bioaktív hatóanyagok kioldódása áztatási idő-függő volt, bár a 15. percet követően láthatóan csekély mértékben növekedett a polifenolok és a cserzőanyagok mennyisége a kivonatban. A flavonoid-tartalom a 30. perc után nem mutatott jelentős eltérést a 60- és a 120-perces oldatokban (5. ábra).

A Mecsek teakeverék polifenol- és cserzőanyag-komponensei hasonló kioldódási sajátosságokat mutattak a kínai teával, miszerint a 15. percet követően oldatba ment hatóanyagok mennyisége nem változott számottevően az adott körülmények között, ami azt jelenti, hogy a hatóanyag-kioldódás függetlenné vált az áztatási időtől. A Mecsek

teakeverék esetében a flavonoidok mennyisége nem tért el lényegesen a különböző áztatási idejű oldatokban (6. ábra).

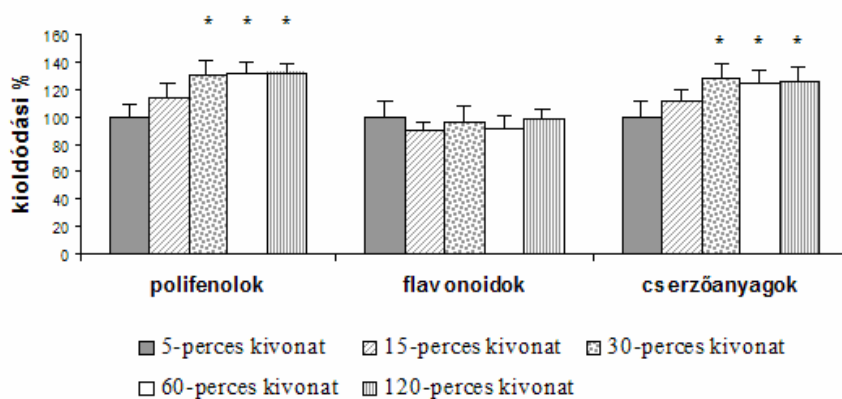
5. ábra: A Tieguanyin teakeverék különböző áztatási idejű kivonatainak hatóanyag kioldódása (átlag \pm SD, n=5)



* szign. vs 5-perces kivonat

A kioldódási %-ot az 5-perces kivonat kioldódott hatóanyag-tartalmához viszonyítva számoltuk.

6. ábra: A Mecsek teakeverék különböző áztatási idejű kivonatainak hatóanyag kioldódása (átlag \pm SD, n=5)



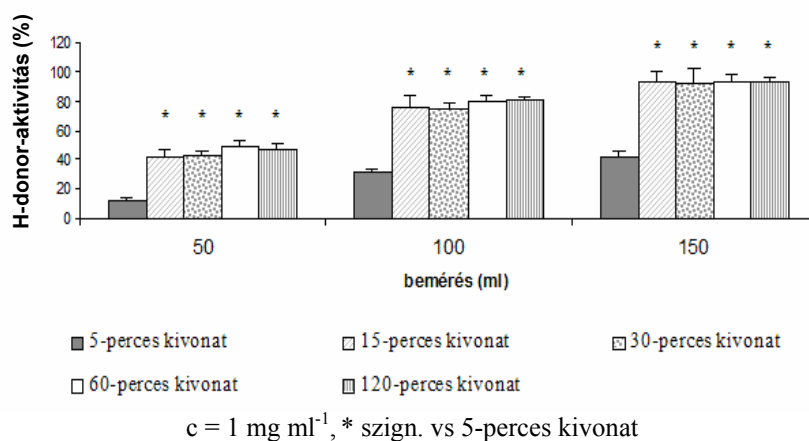
* szign. vs 5-perces kivonat

A kioldódási %-ot az 5-perces kivonat kioldódott hatóanyag-tartalmához viszonyítva számoltuk.

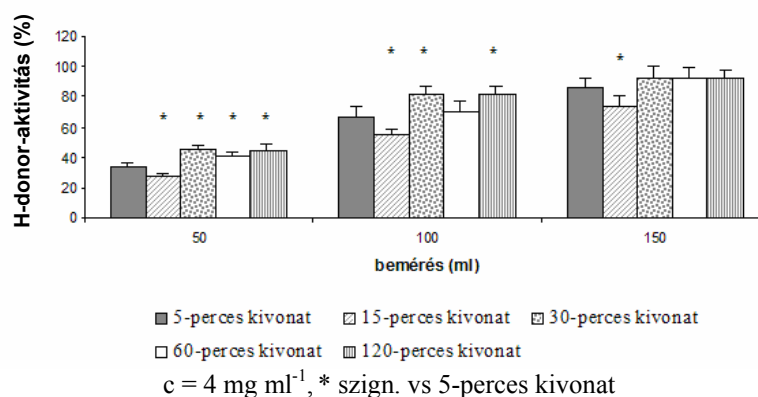
A hatóanyag-kioldódásokat számos körülmény befolyásolja, ilyen például a molekulák mérete, szerkezete, az aglikonhoz kapcsolódó cukormolekula minősége, szaponinok jelenléte, valamint az ásványi elemekkel alkotott komplexek tulajdonságai. Fontos a szerves és szervetlen komponensek kioldódást elősegítő, megfelelő arányának kialakulása a növényben (125).

A polifenolos vegyületek, antioxidáns képességüknek köszönhetően, számos oxidatív károsodással járó elváltozásban nyújtanak hatékony segítséget. Mindkét teakeverékből készült tea antioxidánsként viselkedett a koncentráció és az áztatási idő függvényében *in vitro*. A Tieguanyin teának nagyobb hidrogén-donor aktivitása, redukálóképessége és szabadgyökfogó-kapacitása volt, mint a Mecsek teának, a jelentősebb polifenol és cserzőanyag-tartalom következtében. A két teakeverék forrázatának redoxi paramétereit vizsgálva azt kaptuk, hogy a Tieguanyin teakeverék különböző áztatási idejű kivonatainak hidrogén-donor aktivitása, redukálóképessége és szabadgyökfogó-kapacitása a hatóanyag-kioldódás mértékének megfelelően változott, jelentős különbséget mutatva az 5-perces és a többi áztatási idejű kivonat között (7-10. ábra; 3. és 4. táblázat).

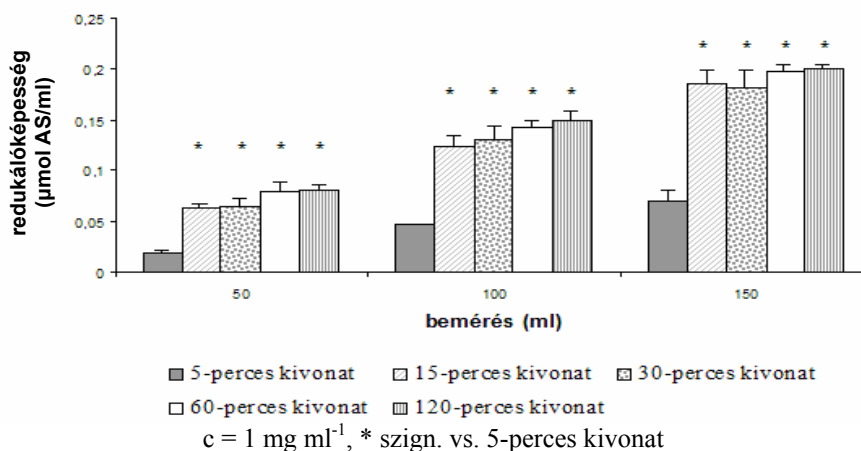
7. ábra: A Tieguanyin teakeverék különböző áztatási idejű kivonatainak H-donor aktivitása (átlag \pm SD, n=5)



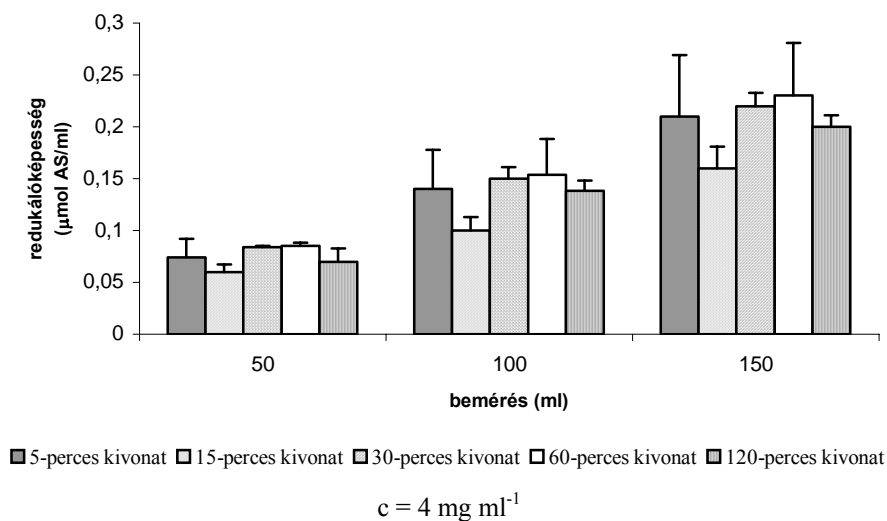
8. ábra: A Mecsek teakeverék különböző áztatási idejű kivonatainak H-donor aktivitása (átlag \pm SD, n=5)



9. ábra: A Tieguanyin teakeverék különböző áztatási idejű kivonatainak redukálóképessége (átlag \pm SD, n=5)



10. ábra: A Mecsek teakeverék különböző áztatási idejű kivonatainak redukálóképessége (átlag \pm SD, n=5)



A polifenolok antioxidáns tulajdonsága komplex, több hatás együttes eredője. Mintáink hidrogén-donor aktivitását 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil stabil, szabad gyök jelenlétében tanulmányoztuk, mely módszer alkalmas természetes és szintetikus antioxidánsok oxidábilis csoportjainak kvantifikálására. A teakeverékek redukálóképességét a Fe(III)-Fe(II) átalakulás alapján határoztuk meg. Megállapítottuk, hogy a Tieguanyin és a Mecsek teakeverékből készült kivonatoknak hidrogén-donor aktivitása és redukálóképessége volt. Mindezekből az következik, hogy mintáink tartalmaztak olyan hatóanyagokat, melyek szabad gyök inhibitorok, elsőrendű, azaz

lánccmegszakító antioxidánsként viselkednek elsősorban a lipid-hidroperoxid gyökökkel szemben, melyek legfőbb propagátorai a lipidek autooxidációjának. Redukáló hatású vegyületek is jelen vannak kivonataikban, melyek a lipidperoxidáció gátlásában másodrendű, preventív antioxidánsként viselkednek. Ezek a vegyületek egyrészt megakadályozhatják a szabadgyökös láncreakciók beindulását, másrészt részt vehetnek az oxidáció során keletkező toxikus átmeneti vagy végtermék nem toxikus vegyületekké alakításában (205). Feltételezzük azonban, hogy a redukáló hatással bíró vegyületek nagyobb koncentrációban részt vehetnek a szervezetben létrejövő redukzív stressz létrehozásában is.

3. táblázat: A Tieguanyin teakeverék különböző áztatási idejű kivonatainak szabadgyökfogyó-kapacitása (átlag \pm SD, n=5)

minták c = 5 mg ml ⁻¹	térfogat		
	50 μ l	100 μ l	150 μ l
	(RLU%)		
5-perces kivonat	206,6 \pm 6,0	29,1 \pm 1,0	24,8 \pm 5,8
15-perces kivonat	130,4 \pm 20,8*	1,3 \pm 0,11*	0,09 \pm 0,02*
30-perces kivonat	116,8 \pm 3,7*	0,44 \pm 0,13*	0,06 \pm 0,02*
60-perces kivonat	29,0 \pm 5,9*	0,24 \pm 0,12*	0,04 \pm 0,003*
120-perces kivonat	27,1 \pm 3,0*	0,25 \pm 0,22*	0,02 \pm 0,01*

*szign. vs 5-perces kivonat

4. táblázat: A Mecsek teakeverék különböző áztatási idejű kivonatainak szabadgyökfogyó-kapacitása (átlag \pm SD, n=5)

minták c = 10 mg ml ⁻¹	térfogat		
	50 μ l	100 μ l	150 μ l
	(RLU%)		
5-perces kivonat	412,4 \pm 47,87	128,20 \pm 47,82	14,38 \pm 14,96
15-perces kivonat	399,27 \pm 39,71	110,20 \pm 34,80	14,13 \pm 11,34
30-perces kivonat	323,63 \pm 53,01	55,79 \pm 44,55	2,98 \pm 2,64
60-perces kivonat	311,81 \pm 15,36	73,13 \pm 20,42	2,77 \pm 0,78
120-perces kivonat	274,55 \pm 11,74	30,58 \pm 6,77	1,38 \pm 0,31

A forrásokban jelenlévő ásványi elemtartalmakat az 5. és 6. táblázat foglalja össze. A Tieguanyin teakeverék kivonataiban nagyobb mennyiségben detektáltunk alumíniumot, rezet, vasat, mangánt, míg a Mecsek teakeverék vizes oldataiban a kalcium, a kálium, a magnézium és a nátrium koncentrációja bizonyult jelentősebbnek.

Mindkét tea esetében megfigyelhető volt az áztatási idő-függő fémkioldódás, azonban a kalcium, a réz és a kálium koncentrációja a 30. perctől nem változott jelentősen.

5. táblázat: Tieguan Yin teakeverék különböző áztatási idejű kivonatainak ásványi elemtartalma (átlag \pm SD, n=3)

minták	elemek										
	Al	Ca	Cu	Fe	K	Mg	Mn	Na	P	S	Zn
	(mg/l)										
5-perces kivonat	2,74 $\pm 0,03$	7,02 $\pm 0,13$	0,04 $\pm 0,05$	0,18 $\pm 0,03$	146,6 $\pm 1,49$	7,56 $\pm 0,04$	2,88 $\pm 0,02$	2,04 $\pm 0,05$	12,03 $\pm 0,06$	12,88 $\pm 0,09$	0,20 $\pm 0,01$
15-perces kivonat	2,96* $\pm 0,02$	7,00 $\pm 0,04$	0,05 $\pm 0,01$	0,19* $\pm 0,01$	152,3* $\pm 1,27$	7,79* $\pm 0,03$	3,19* $\pm 0,03$	2,76* $\pm 0,05$	12,20 $\pm 0,93$	12,96 $\pm 0,44$	0,19 $\pm 0,01$
30-perces kivonat	3,00* $\pm 0,06$	7,28* $\pm 0,06$	0,05 $\pm 0,004$	0,20* $\pm 0,01$	159,6* $\pm 0,32$	8,77* $\pm 0,02$	3,63* $\pm 0,02$	2,67* $\pm 0,11$	13,47* $\pm 0,18$	13,63* $\pm 0,42$	0,22* $\pm 0,002$
60-perces kivonat	3,06* $\pm 0,03$	7,97* $\pm 0,11$	0,05 $\pm 0,004$	0,23* $\pm 0,01$	166,0* $\pm 2,17$	9,54* $\pm 0,05$	4,12* $\pm 0,02$	2,96* $\pm 0,13$	13,96* $\pm 0,12$	13,55* $\pm 0,26$	0,21 $\pm 0,004$
120-perces kivonat	3,24* $\pm 0,02$	8,05* $\pm 0,14$	0,06* $\pm 0,01$	0,25* $\pm 0,004$	164,4* $\pm 6,10$	9,81* $\pm 0,06$	4,41* $\pm 0,05$	3,18* $\pm 0,01$	14,72* $\pm 0,14$	14,31* $\pm 0,20$	0,23* $\pm 0,002$

* szign. vs 5-perces kivonat

6. táblázat: Mecsek teakeverék különböző áztatási idejű kivonatainak ásványi elemtartalma (átlag \pm SD, n=3)

minták	elemek										
	Al	Ca	Cu	Fe	K	Mg	Mn	Na	P	S	Zn
	(mg/l)										
5-perces kivonat	0,46 $\pm 0,02$	20,3 $\pm 0,51$	0,025 $\pm 0,001$	0,047 $\pm 0,002$	166,5 $\pm 6,23$	10,65 $\pm 0,15$	0,24 $\pm 0,02$	3,04 $\pm 0,13$	12,37 $\pm 0,19$	12,01 $\pm 0,17$	0,056 $\pm 0,004$
15-perces kivonat	0,62* $\pm 0,02$	25,7* $\pm 0,31$	0,032* $\pm 0,001$	0,056* $\pm 0,001$	186* $\pm 2,91$	12,78* $\pm 0,03$	0,34* $\pm 0,002$	4,08* $\pm 0,06$	15,9* $\pm 0,17$	16,62* $\pm 0,45$	0,087* $\pm 0,003$
30-perces kivonat	0,73* $\pm 0,02$	29,4* $\pm 0,75$	0,029* $\pm 0,001$	0,073* $\pm 0,004$	174,5* $\pm 1,24$	12,80* $\pm 0,02$	0,49* $\pm 0,04$	3,35* $\pm 0,24$	15,20* $\pm 0,15$	15,81* $\pm 0,12$	0,118* $\pm 0,009$
60-perces kivonat	0,84* $\pm 0,03$	32,4* $\pm 3,72$	0,032* $\pm 0,001$	0,089* $\pm 0,002$	194,3* $\pm 7,07$	12,72* $\pm 0,06$	0,62* $\pm 0,02$	3,59* $\pm 0,17$	17,80* $\pm 0,33$	15,90* $\pm 0,19$	0,127* $\pm 0,001$
120-perces kivonat	0,83* $\pm 0,07$	32,1* $\pm 0,69$	0,031* $\pm 0,001$	0,114* $\pm 0,003$	202,1* $\pm 1,20$	13,04* $\pm 0,04$	0,64* $\pm 0,02$	3,75* $\pm 0,09$	19,53* $\pm 0,97$	17,08* $\pm 0,19$	0,132* $\pm 0,012$

*szign. vs. 5-perces kivonat

A US Recommended Dietary Allowances (179) jó elemforrásnak tekint egy kivonatot, ha meghatározott mennyisége (1 csésze, vagy 1 liter) az ajánlott napi bevétel 10%-át meghaladó koncentrációban tartalmaz ásványi anyagot. Ez alapján a Mecsek teakeverék 60- és 120-perces kivonata kielégítő kálium-forrásnak tekinthető (RDA_(K): 2000 mg/nap/felnőtt). Figyelemre méltó, hogy a Tieguan Yin teakeverék 5-perces

forrázatában is már olyan nagy a mangánkoncentráció, hogy a tea 1 literének elfogyasztásával az ajánlott napi bevétel 100%-a juthat be a szervezetbe ebből a fémből (RDA_(Mn): 2-5 mg/nap/felnőtt).

A Tieguanyin és a Mecsek teakeverékek *in vitro* vizsgálatát követően vizsgáltuk azok kúraszerű fogyasztásának hatását egészséges emlős szervezetre patkányban (5.3.1. fejezet).

5.1.2. BEIQISHEN TEAKEVERÉK ÉS HIBISCUS SABDARIFFA L. IN VITRO VIZSGÁLATA

In vitro vizsgálatainkat két, ugyancsak népszerű mintával folytattuk. Tanulmányunkban a kairói Hibiscus sabdariffa L. (H. sabdariffa) szárított csészelevéldrog és a kínai eredetű, magyarországi kereskedelmi forgalomban lévő Beiqishen teakeverék, valamint vizes kivonataik főbb hatóanyagainak feltérképezését, ásványi elemvizsgálatát és antioxidáns kapacitásának meghatározását végeztük el. A kivonat készítést a 4.2.1. fejezetben ismertettem.

A Beiqishen teakeverékhez mellékelt ismertető alapján a készítmény az egészség megőrzésére és a betegségek megelőzésére szolgáló, ún. frissítő teakészítmény, melyet elsősorban közép- és időskorúaknak ajánlanak.

A subtrópusi Hibiscus sabdariffa L. virága üdítő italok és növényi készítmények népszerű alapanyaga Szudánban, Egyiptomban, Dél-kelet Ázsiában, Amerika trópusi területein, valamint számos európai országban. Készítenek belőle még jam-et, szószokat és borokat is (61, 150).

5.1.2.1. A főbb bioaktív hatóanyagok tartalmi meghatározása, valamint antioxidáns kapacitásvizsgálat

Eredményeink azt mutatták, hogy a Beiqishen teakeveréknek nagyobb antioxidáns kapacitása volt, mint a H. sabdariffa drognak, szignifikánsan magasabb polifenol-, cserzőanyag- és flavonoid-tartalmának köszönhetően (7. táblázat; 11. ábra). Ez utóbbi mintának azonban proantocianidin-tartalma (12% cianidin kloridra kifejezve) volt jelentős, melyet a Beiqishen teakeverékben nem detektáltunk. A proantocianidin a csészelevéldrogból készült vizes kivonat antioxidáns kapacitása szempontjából az egyik

legfontosabb alkotórésze (60, 109, 147). Az antocianinok hatékonyabb antioxidánsok, mint az aszkorbinsav (226), továbbá különböző fémionokkal (vas, magnézium) komplexet alkotnak (216). Az irodalomból ismert, hogy a *H. sabdariffa* csészeleveleiből izolált antocianinok apoptózist indukálhatnak humán leukémia HL-60 sejtekben a p38 MAP-kináz aktiválásával (217, 218).

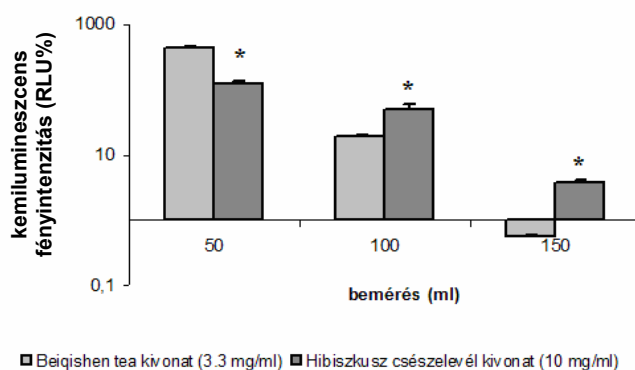
A két teakeverék 15-perces forrázatának antioxidáns kapacitását is vizsgáltuk, mely támpontot adhat az élő szervezet redox-homeosztázisára gyakorolt hatásról.

7. Táblázat: *H. sabdariffa* csészelevéldrog és kivonat, valamint a *Beiqishen* teakeverék és kivonat főbb bioaktív hatóanyagai (átlag ± SD, n=5)

	H. sabdariffa csészelevéldrog (g/100g)	H. sabdariffa csészelevel kivonat (mg/100ml)	Beiqishen teakeverék (g/100g)	Beiqishen teakeverék kivonat (mg/100 ml)
polifenol-tartalom	9,25 ± 0,624	60,2 ± 0,39	23,21 ± 0,52*	130 ± 10,44*
flavonoid-tartalom	0,10 ± 0,004	0,94 ± 0,05	0,47 ± 0,04*	1,27 ± 0,001*
cserzőanyag-tartalom	2,74 ± 0,147	21,3 ± 0,008	9,33 ± 0,78*	30,2 ± 0,45*

* vs *H. sabdariffa* minták

11. ábra: A *H. sabdariffa* csészelevéldrog és a *Beiqishen* teakeverék vizes kivonatának szabadgyökfogyó-kapacitása a koncentráció függvényében (átlag ± SD, n=5)



*szign. vs. *Beiqishen* teakeverék kivonat

Az 11. ábra a minták scavenger kapacitását mutatja. A mintákból készült források csökkentették a $H_2O_2/OH\cdot$ -luminol-mikroperoxidáz rendszer fényintenzitását, mely gyökfogyó képességüket igazolta. A hidrogén-peroxid és a hidroxilgyök számos biológiai folyamatban, így például apoptózisban, lymphocyták proliferációjában, szekunder messenger szerepet tölt be (156, 158). Mindazon vegyületek, melyek e két

gyök befogására képesek, befolyással bírhatnak olyan folyamatokban, melyekben a szabad gyökök szerepe bizonyított. Mindkét forrázat esetében megfigyelhető volt a szabadgyökfogó-kapacitás koncentrációfüggése is.

Szignifikáns eltérést tapasztaltunk a kivonatok totál antioxidáns státuszában (TAS). A kínai tea TAS értéke háromszor magasabb volt a csészelevél vizes kivonatában tapasztaltnál ($6,98 \pm 0,15$ vs. $2,08 \pm 0,1$).

A forrázatok komplexképző-képessége azonban nem mutatott jelentős eltérést (8. táblázat). A Beiqishen teakeverék és a H. sabdariffa szárított csészelevéldrogból készült kivonatok polifenolos vegyületeinek komplexképző tulajdonságát rézionok jelenlétében tanulmányoztuk. Mindkét tea esetében szignifikánsan kisebb értékeket kaptunk a komplexképző anyagot nem tartalmazó kontrollhoz képest, mely a minták komplexképző tulajdonságát bizonyította. Az átmeneti féminokkal komplexet képző vegyületek is másodrendű antioxidánsoknak tekinthetők (149).

8. táblázat: A H. sabdariffa csészelevéldrog és a Beiqishen teakeverék vizes kivonatának komplexképző tulajdonsága (átlag \pm SD, n=5)

	H. sabdariffa csészelevél kivonat	Beiqishen teakeverék kivonat
kontroll	3,50 \pm 0,03	
0,2 ml	2,66 \pm 0,009	2,63 \pm 0,01
0,5 ml	2,14 \pm 0,002	2,21 \pm 0,02
1,0 ml	1,71 \pm 0,001	1,86 \pm 0,01

A minták illóolaj-összetételének kvalitatív és kvantitatív analízisét gázkromatográfiás és gázkromatográfiával összekapcsolt tömegspektrometriás módszerrel végeztük el. A kapott eredmények a 9. és 10. táblázatban szerepelnek. A H. sabdariffa csészelevéldrog domináns illóolaj komponensei a t-anetol (74,6%), egy 248 Ms-jú (11,7%) vegyület (NIST) és egy 264 Ms-jú (6,5%) transz-farnezil-észter volt, továbbá tartalmazott még esztragolt (2,5%), fenkont (1,1%), nyomokban pedig (+)-limonént és p-cimolt (9. táblázat). Warnet és munkatársai kimutatták, hogy az anetol-ditioltion (ADT), melyet általában koleretikus gyógyszerként írnak fel, 1 órával az acetaminofen (450 mg/kg i.p.) beadása előtt adva, májvédő hatást mutatott, melyet a

szérum aminoszférazok és a máj glutation-reduktáz, glutation-peroxidáz és glutation-S-tranzferáz aktivitása jelzett (228).

A Beiqishen teakeverék illóolaj-összetétele: (+)-limonén (21%), dibutil-ftalát (9,5%), eugenol (3,5%), esztragol (3,2%), timol (2,6%), p-cimen (1,7%), β-ocimen (1,4%), karvakrol (1,12%), valamint 10% 248 Ms-jú, és 16% 264 Ms-jú ismeretlen (NIST) vegyület (10. táblázat) (17).

9. táblázat: *H. sabdariffa* csészelevéldrog illóolaj összetétele

GC		GC/MS		komponens
t _R (min)	GC%	Ms	formula	
5,11	nyb	136	C ₁₀ H ₁₄	p-cimol
5,29	nyb	136	C ₁₀ H ₁₆	(+)-limonén
7,58	1,1	152	C ₁₀ H ₁₆ O	fenkon
8,35	2,5	148	C ₁₀ H ₁₂ O	esztragol
9,3	74,6	148	C ₁₀ H ₁₂ O	t-anetol
12,91	0,6	ismeretlen	ismeretlen	ismeretlen
13,1	1	204	C ₁₅ H ₂₄	ismeretlen
14,68	0,7	ismeretlen	ismeretlen	ismeretlen
18,31	11,7	248	ismeretlen	ismeretlen
19,09	6,5	264	C ₁₇ H ₂₈ O ₂	transz-farnezil-észter

GC: gázkromatográfia, GC/MS: gázkromatográfia/tömegspektrometria, t_R : retenciós idő, Ms: molekulatömeg, nyb: nyomokban

10. táblázat: *Beiqishen* teakeverék illóolaj összetétele (17)

GC		GC/MS		komponens
t _R (min)	GC%	Ms	formula	
4,50	21,0	136	C ₁₀ H ₁₆	(+)-limonén
7,38	1,4	136	C ₁₀ H ₁₆	β-ocimen
12,69	1,7	134	C ₁₀ H ₁₄	p-cimol
16,75	3,2	148	C ₁₀ H ₁₂ O	esztragol
17,15	2,6	150	C ₁₀ H ₁₄ O	thimol
17,42	1,1	150	C ₁₀ H ₁₄ O	karvakrol
17,71	3,5	164	C ₁₀ H ₁₂ O ₂	eugenol
20,37	10,0	248	ismeretlen	ismeretlen
21,95	16,0	264	ismeretlen	ismeretlen
24,10	9,5	278	C ₁₆ H ₂₂ O ₄	dibutil-ftalát

GC: gázkromatográfia, GC/MS: gázkromatográfia/tömegspektrometria, t_R : retenciós idő, Ms: molekulatömeg

A Beiqishen teakeverék és a *H. sabdariffa* csészelevéldrog elemtartalom meghatározásának mérési eredményeit a 11. táblázat foglalja össze. A Beiqishen teakeverék más növényekhez viszonyítva nagyobb koncentrációban tartalmazott

alumíniumot, krómot, kobaltot, mangánt és nikkelt. A H. sabdariffa csészelevéldrogban az alumínium és a kobalt nagy koncentrációját mértük, valamint jelentős mennyiségben volt bór és magnézium is jelen. A két minta egymáshoz viszonyított elemtartalmait tekintve, a H. sabdariffa csészelevéldrog szignifikánsan nagyobb koncentrációban tartalmazott bórt, báriumot, kalciumot, kobaltot és magnéziumot, míg a Beiqishen teakeverék alumínium-, króm-, réz-, vas-, mangán-, nikkelt-, foszfor-, kén-, titán- és cinktartalma volt jelentősen nagyobb.

11. táblázat: H. sabdariffa csészelevéldrog és kivonat, valamint a Beiqishen teakeverék és kivonat ásványi elemösszetétele (átlag \pm SD, n=3)

elemek	H. sabdariffa csészelevéldrog (mg/kg)	H. sabdariffa csészelevél-kivonat (mg/l)	Beiqishen teakeverék (mg/kg)	Beiqishen teakeverék kivonat (mg/l)	ásványi elemek előfordulása a növényvilágban (mg/kg)
Al	625,4 \pm 2,45	1,25 \pm 0,001	1713 \pm 199 [#]	3,06 \pm 0,051 ^{##}	200*
B	69,79 \pm 10,09 [#]	0,50 \pm 0,003 ^{##}	12,9 \pm 0,73	0,12 \pm 0,01	5 – 40**
Ba	44,29 \pm 0,96 [#]	0,10 \pm 0,002	28,43 \pm 0,71	0,07 \pm 0,004	< 170**
Ca	17731 \pm 760,56 [#]	34,12 \pm 4,25 ^{##}	6460 \pm 372	14,45 \pm 0,117	10 – 30000*
Cd	< k.h.	< k.h.	< 0,1	< 0,003	0,07 – 0,3**
Co	1,05 \pm 0,004 [#]	0,005 \pm 0,002	0,78 \pm 0,08	0,002 \pm 0,001	0,01-0,4*
Cr	< k.h.	< k.h.	3,29 \pm 0,58	0,004 \pm 0,003	0,02 – 0,2*
Cu	4,39 \pm 0,03	0,02 \pm 0,003	21,32 \pm 0,25 [#]	0,082 \pm 0,001 ^{##}	1 – 100**
Fe	240,5 \pm 18,59	0,13 \pm 0,019	395,5 \pm 79,4 [#]	0,22 \pm 0,003 ^{##}	> 100**
K	24011 \pm 567,7	218,3 \pm 10,55 ^{##}	19233 \pm 2391	169,7 \pm 4,73	20 – 60000*
Mg	10276 \pm 2916 [#]	34,25 \pm 4,156 ^{##}	2252 \pm 57	10,29 \pm 0,02	< 5000*
Mn	388,2 \pm 29,39	1,08 \pm 0,144	1129 \pm 172 [#]	3,23 \pm 0,03 ^{##}	1 – 1000*
Mo	< k.h.	< k.h.	< k.h.	< k.h.	0,1 – 4**
Na	231,8 \pm 1,14	2,44 \pm 0,222	287,6 \pm 45,1	3,11 \pm 0,15 ^{##}	10 – 50000***
Ni	3,21 \pm 0,38	0,02 \pm 0,001	6,77 \pm 0,58 [#]	0,044 \pm 0,004 ^{##}	0,1 – 4**
P	1016 \pm 155,5	5,64 \pm 0,465	2468 \pm 44 [#]	14,04 \pm 0,36 ^{##}	3000 – 4000*
Pb	< k.h.	< k.h.	< 1,33	< 0,015	< 5*
S	1554 \pm 67,51	7,06 \pm 0,850	3315 \pm 55 [#]	13,39 \pm 0,276 ^{##}	1000 – 5000*
Ti	7,24 \pm 0,19	< k.h.	11,13 \pm 0,86 [#]	0,002 \pm 0,001	0,15 – 80**
Zn	28,59 \pm 0,54	0,08 \pm 0,006	37,22 \pm 4,45 [#]	0,172 \pm 0,004 ^{##}	1,2 – 73**

< k.h.: kimutatási hatás alatt

^{#,##} jelzés az egymástól szignifikánsan eltérő átlagértékeket mutatja, a nagyobb értéket jelölve

*Mengel (1976) (140); **Kataba-Pendias és mtsai (2000) (112); ***Guil-Guerrero (1998) (85)

A Tieguanyin és a Mecsek teakeverék esetében már megjegyeztük, hogy a növényekben lévő alumínium, króm, vas, mangán és a titán együttes előfordulása jelezheti a nem megfelelő gyűjtési körülményeket, azonban a savas talajon nőtt

növényre is jellemző lehet. A Beiqishen teakeveréknél ugyancsak felmerül, hogy a teakeveréket alkotó gyógynövények savas talajból származtak, miután a készítmény mangántartalma meghaladta az átlagos növényi koncentrációkat. A Beiqishen teakeverékben csaknem háromszor nagyobb az alumíniumkoncentráció (1713 ± 199) a H. sabdariffa csészelevéldrogban mért értékhez képest ($625,4 \pm 2,45$), melynek következményeként a kalcium és a magnézium mennyisége számottevően kisebb (Ca: 6460 ± 372 ; Mg: 2252 ± 57) az egyiptomi droghoz (Ca: $17731 \pm 760,56$; Mg: 10276 ± 2916) viszonyítva.

A vizes kivonatokban mérhető mennyiségben találtunk ásványi elemeket. A H. sabdariffa csészelevéldrogból nyert vizes kivonat kálium, magnézium és mangán tekintetében jó elemforrásnak bizonyult, a felsorolt fémekből a forrázat az ajánlott napi szükséglet 10%-nál többet tartalmazott ($RDA_{(K)}$: 2000 mg/nap/felnőtt; $RDA_{(Mg)}$: 350 mg/nap/felnőtt; $RDA_{(Mn)}$: 2-5 mg/nap/felnőtt). A Beiqishen teakeverék 15-perces forrázatába a mangán kivételével, nem oldódott ki említésre méltó mennyiségű elemtartalom, azonban a mangán koncentrációja olyan magas volt, hogy a tea 1 literének elfogyasztásával az ajánlott napi mangánmennyiség 100 %-a juthat a szervezetbe ($RDA_{(Mn)}$: 2-5 mg/nap/felnőtt), hasonlóan a Tieguanyin teához.

Eredményeink igazolták, hogy a vizsgált teakeverékekből készült kivonatok antioxidáns hatása különböző mechanizmusok útján jut érvényre, úgymint elsőrendű és másodrendű antioxidáns hatás, komplexképző és szabadgyök-befogó képesség.

Miután *in vitro* vizsgálataink a Beiqishen teakeverék és a Hibiscus sabdariffa vizes kivonatok antioxidáns tulajdonságát mutatták, kíváncsiak voltunk, hogy van-e a mintáknak immunreaktivitást befolyásoló hatása.

5.2. HUMÁN *IN VITRO* VIZSGÁLATOK

5.2.1. A BEIQISHEN TEAKEVERÉK ÉS A HIBISCUS SABDARIFFA VIZES KIVONATÁNAK HATÁSA HUMÁN LYMPHOCYTÁK PROLIFERÁCIÓJÁRA

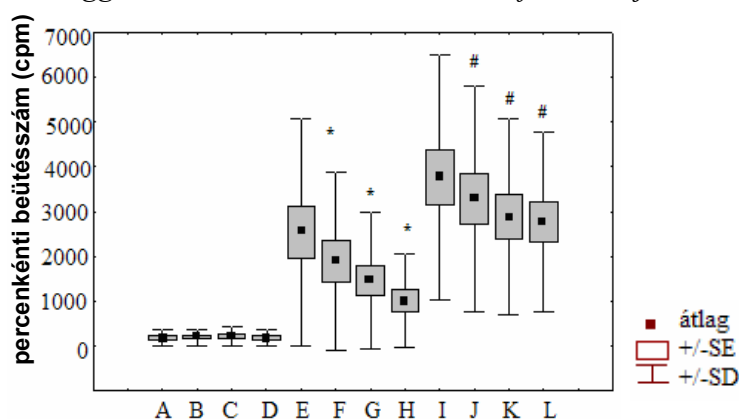
A flavonoidok jól ismert növényi gyulladásgátló anyagok, melyeknek immunmoduláló hatása van (24). E hatás megnyilvánul a fagocitózis modulációjában, a neutrofil funkció megváltoztatásában, a hisztamin felszabadulás gátlásában, és különösen a lymphocyta proliferáció módosításában (38). Számos vizsgálati eredmény utal arra, hogy a flavonoidok gátolják a konkanavalin-A és a fitohemagglutinin által indukált lymphocyta blasztosodást a flavonoidok koncentrációjától függően (95, 142). Middleton és munkatársai több flavonoidról is kimutatták, hogy szuppresszálják a citotoxikus T-sejt hatás kialakulását (142). A B-lymphocyta funkciójára gyakorolt hatásról azonban csak néhány közlemény számol be. Kakumu és munkacsoportja azt találta, hogy a cianidanol nagyobb koncentrációban gátolta a pokeweed mitogén-indukált humán lymphocyták immunglobulin-szintézisét *in vitro* (110).

Kísérletünk célja az volt, hogy humán *in vitro* vizsgálatok során tanulmányozzuk az antioxidáns hatást mutató *Hibiscus sabdariffa* L. szárított csészeleveléből és a Beiqishen teakeverékből készült forrázatok, három különböző koncentrációjának (1, 10, 100 µg/ml), immunmoduláló hatását lymphocyták spontán és mitogén-indukált blasztos transzformációjára. A vizsgálatban 17 egészséges önkéntes vett részt (12 nő; 5 férfi; átlagéletkor: 33 ± 5 év). A lymphocytákat heparinnal alvadésgátolt vénás vérből szeparáltuk a 'Módszerek' 4.3.2. fejezetében ismertetett módon. A poliklonális mitogének a lymphocyták nagyrészét aktiválják függetlenül azok antigén specificitásától. A fitohemagglutinin (PHA) – melyet babból (*Phaseolus vulgaris*) nyernek – hatására transzformálódó sejtek nagyobb része T-lymphocyta. A T-lymphocyta fontos szerepet játszik a különböző antigénnel szemben megnyilvánuló sejt-mediált immunreakcióban. Az általunk alkalmazott másik lektin a pokeweed mitogén (PWM) volt, melyet korábban B-sejt mitogénnek tartottak, később azonban kiderült, hogy a B-lymphocyta hatás indirekt módon, a T-lymphocyták közvetítésével jön létre (37). A PWM-et, mint poliklonális B-sejt stimulátort számos funkcionális tesztben alkalmazzák, a *Phytolacca americana*-ból izolálják (82).

A már ismert kutatások eredményeivel összhangban azt tapasztaltuk, hogy mintáink gátolták a mitogén-indukált T- és B-lymphocyta proliferációt. Az 12. ábra a H.

sabdariffa csészelevél-kivonatok hatását mutatja be a lymphocyták spontán és PHA által indukált blaszt-transzformációjára. Miután a kapott adatok nem normális eloszlásúak voltak, az egymástól szignifikánsan különböző eredmények megállapítására a Wilcoxon tesztet alkalmaztuk ($p < 0,05$). Az ábrán jól látható, hogy a különböző koncentrációjú csészelevél források egyike sem befolyásolta a spontán létrejövő blasztosodást. Ezzel szemben a tea, mind az 5 $\mu\text{g/ml}$ PHA, mind a 10 $\mu\text{g/ml}$ PHA által előidézett lymphocytá prolifrációt szignifikánsan csökkentette mindhárom dózisban.

12. ábra: *Hibiscus sabdariffa* csészelevél-kivonat hatása a lymphocyták spontán és fitohemagglutininnel indukált blaszt-transzformációjára



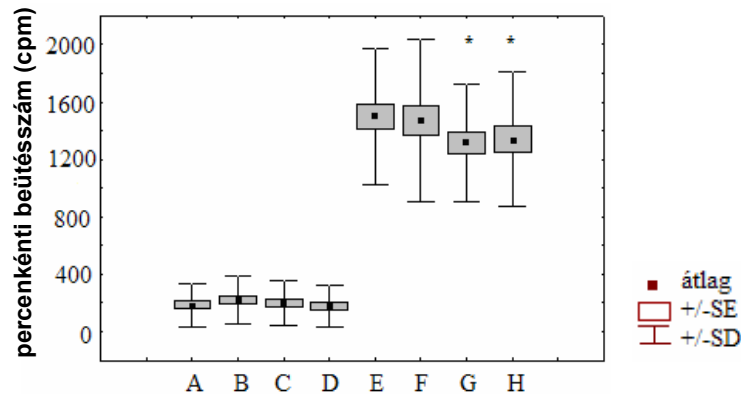
A: spontán blaszt-transzformáció; B, C, D: tápoldat + hibiszkusz csészelevél vizes kivonata 1, 10 és 100 $\mu\text{g/ml}$ dózisban; E: 5 $\mu\text{g/ml}$ fitohemagglutinin; F, G, H: 5 $\mu\text{g/ml}$ fitohemagglutinin + hibiszkusz csészelevél vizes kivonata 1, 10 és 100 $\mu\text{g/ml}$ dózisban; I: 10 $\mu\text{g/ml}$ fitohemagglutinin; J, K, L: 10 $\mu\text{g/ml}$ fitohemagglutinin + hibiszkusz csészelevél vizes kivonata 1, 10 és 100 $\mu\text{g/ml}$ dózisban; $n = 8$

*sign. vs. E; # sign. vs. I; $p < 0,05$

Hasonló eredményt tapasztaltunk a PWM-mel indukált lymphocytá-aktivációban is (13. ábra), ahol a csökkentő hatást a hibiszkusz csészelevél 10 és 100 $\mu\text{g/ml}$ koncentrációjú kivonatai váltották ki.

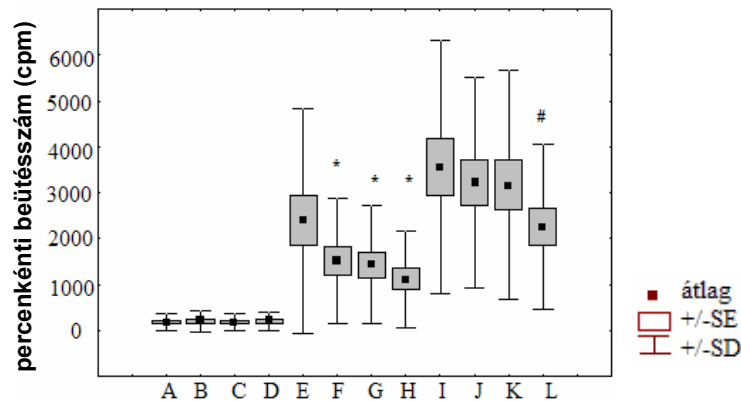
A kínai Beiqishen tea lymphocyták prolifrációjára gyakorolt hatását a 14. és a 15. ábra demonstrálja. A tea a spontán blasztosodásra, hasonlóan a hibiszkusz teához, nem volt hatással. Az 5 $\mu\text{g/ml}$ PHA által indukált blasztosodást jelentősen csökkentette a kínai teakeverék mindhárom koncentrációjú forrása, míg ez a hatás a 10 $\mu\text{g/ml}$ PHA esetében csak a 100 $\mu\text{g/ml}$ dózisú Beiqishen teánál volt megfigyelhető. A PWM által előidézett blasztosodásra szintén szignifikáns gátló hatást gyakoroltak a kínai teakeverékből készített kivonatok.

13. ábra: *Hibiscus sabdariffa* csészelevél-kivonat hatása a lymphocyták spontán és pokeweed mitogénnel indukált blasz-transzformációjára



A: spontán blasz-transzformáció; B, C, D: tápoldat + hibiszkusz csészelevél vizes kivonata 1, 10 és 100 µg/ml dózisban; E: 5 µg/ml pokeweed mitogén; F, G, H: 5 µg/ml pokeweed mitogén + hibiszkusz csészelevél vizes kivonata 1, 10 és 100 µg/ml dózisban; n = 9, * sign. vs. E; p < 0,05

14. ábra: A Beiqishen tea hatása a lymphocyták spontán és fitohemagglutininnel indukált blasz-transzformációjára

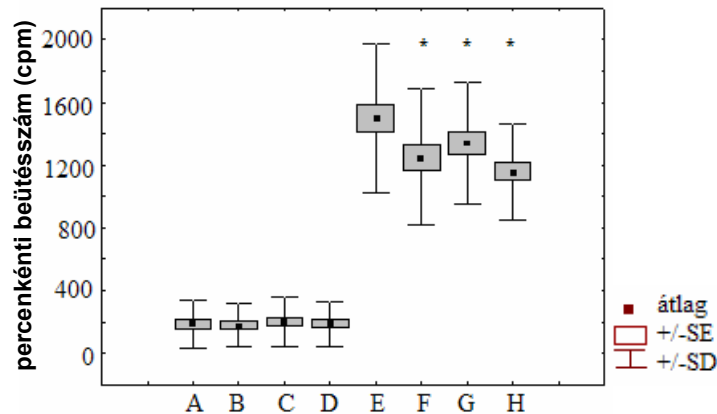


A: spontán blasz-transzformáció; B, C, D: tápoldat + Beiqishen tea 1, 10 és 100 µg/ml dózisban; E: 5 µg/ml fitohemagglutinin; F, G, H: 5 µg/ml fitohemagglutinin + Beiqishen tea 1, 10 és 100 µg/ml dózisban; I: 10 µg/ml fitohemagglutinin; J, K, L: 10 µg/ml fitohemagglutinin + Beiqishen tea 1, 10 és 100 µg/ml dózisban; n = 8, *sign. vs. E; # sign. vs. I; p < 0,05

A T-lymphocyták proliferációja és aktivációja szoros kapcsolatban áll a sejt intracelluláris redox-státuszával. Számos tanulmány számol be arról, hogy a különböző, antioxidáns tulajdonságú komponensek, ideértve a szabadgyök-befogókat és a fémkelátorokat is, gátolhatják a lymphocyták proliferációját. A T-lymphocyták aktivációjakor reaktív szabad oxigéngyökök keletkeznek, melyek fontos szerepet játszanak a jelátvitelben, mint szekunder messengerek. A T-lymphocyták optimális működéséhez, a proliferációhoz és különösen a DNS-szintézishez, elengedhetetlen a glutation és más redukáló ekvivalens jelenléte. A lymphocyták proliferációja redukált

környezetet kíván az optimális növekedéshez, azonban valószínűleg a T-sejt proliferáció korai szakaszában átmeneti pooxidáns állapot szükséges (94, 156).

15. ábra: Beiqishen tea hatása a lymphocyták spontán és pokeweed mitogénnel indukált blaszt-transzformációjára



A: spontán blaszt-transzformáció; B, C, D: tápoldat + Beiqishen tea 1, 10 és 100 µg/ml dózisban; E: 5 µg/ml pokeweed mitogén; F, G, H: 5 µg/ml pokeweed mitogén + Beiqishen tea 1, 10 és 100 µg/ml dózisban; n = 9, * sign. vs. E; p < 0,05

Annak ellenére, hogy a kínai teakeveréknek lényegesen magasabb polifenol- és cserzőanyag-tartalma volt, a H. sabdariffa csészelevéldrogból készült tea gátló hatása kisebb koncentrációban is megnyilvánult a Beiqishen teához viszonyítva. A flavonoidok B- és T-lymphocytára gyakorolt hatásában valószínűleg nemcsak antioxidáns karakterüknek van szerepe, hanem egyéb mechanizmusok is jelentősek lehetnek a hatáskifejtésben. Az egyik ilyen képesség a protein-kinázokra (pl. protein-kináz C, protein tirozin-kináz) kifejtett gátló hatásuk (1).

A vizsgálat egyik fontos megfigyelése volt, hogy a minták egyike sem gátolta a lymphocyták spontán blasztosodását, amiből következik, hogy az alkalmazott koncentrációkban a kivonatoknak nem volt citotoxikus hatásuk.

5.3. *IN VIVO* EXPERIMENTÁLIS VIZSGÁLATOK

5.3.1. A TIEGUANYIN ÉS A MECSEK TEA KÚRASZERŰ FOGYASZTÁSÁNAK HATÁSA AZ EGÉSZSÉGES SZERVEZETRE PATKÁNYBAN

Az *in vitro* vizsgálatok alapján a Tieguanyin és a Tisztító teakeverékek kivonatainak szabadgyök-befogó aktivitása, redukálóképessége, és hidrogén-donor aktivitása volt. Ez alapján feltételezhető hatékonyságuk a felborult antioxidáns – szabad gyök egyensúly helyreállításában, a lipidperoxidáció folyamatában betöltött első- és másodrendű antioxidáns tulajdonságuk következtében. Az egészséges emlős szervezetben azonban a szabadgyök-képződés és -eliminálás a szervezet védelmi rendszerének köszönhetően szabályozottan, az egyensúly megtartásával megy végbe. Felvetődött, tehát a kérdés, hogy ezt a kiegyensúlyozott állapotot a kúraszerűen fogyasztott gyógyteák, hogyan befolyásolják.

Miután a gyógynövénytermékek minden egyes hatóanyagának izolálása és szerkezetének funkciójának meghatározása rendkívül bonyolult és jelenleg még megoldhatatlan vállalkozás, általánosan elfogadott, hogy magát a készítményt vizsgálják hatástani szempontból.

A két teakeverék vizes kivonatainak hosszabb ideig (21 nap) tartó fogyasztását vizsgáltuk a szervezet redoxi paramétereire, a plazma és vörösvértest elemtartalmára és a májmikroszóma drogmatabolizáló enzimrendszerére patkányban. Fontos megemlíteni, hogy a kínai eredetű Tieguanyin teakeverék pontos összetétele nem volt ismert, miután a teadobozon és a dobozban talált információk erről nem adtak részletes tájékoztatást.

A Mecsek teánál a gyártó által ajánlott 30-perces forrázatot alkalmaztuk. Az *in vitro* vizsgálatok alapján ennek a kivonatnak az antioxidáns paraméterei már nem különböztek szignifikánsan a 60- és 120-perces forrázatok paramétereitől. A Tieguanyin tea esetében az *in vitro* vizsgálatokat figyelembe véve választottuk ki a 15-perces kivonatot. Ennek a forrázatnak már jelentős antioxidáns kapacitása volt és ez állt a legközelebb a gyártó által ajánlott 5-perces áztatási időhöz.

A kísérlet időtartama 21 nap volt, melynek során az állatok ad libitum itták a forrázatokat. A **K**-csoport (n = 5) standard tápot és ivóvizet kapott. A **KT**-csoport (n=7) standard táp mellett Tieguanyin teakezelésben részesült. A **KM**-csoport (n = 7) standard

tápot és Mecsek teát kapott. A teakészítés módja a 'Módszerek' 4.2.1. pontjában került leírásra.

5.3.1.1. A Tieguanyin és a Mecsek tea kúraszerű fogyasztásának hatása a vér különböző paramétereire

A Tieguanyin és a Mecsek teakeverék vizes kivonatainak hatását a szérumbiokémiai paramétereire a 12. táblázat tartalmazza. A hepatocelluláris károsodást jellemző enzimek közül az AST és az ALP aktivitásai szignifikáns emelkedést mutattak a Tieguanyin teát fogyasztó csoportban a kontrollhoz képest. Az AST enzimaktivitás-emelkedés a Mecsek teát ivó állatok szérumában is megfigyelhető volt, itt azonban mérsékeltebbnek bizonyult, azonban az ALP-aktivitás jelentősen meghaladta a kontrollértékeket, de kisebb mértékű volt a kínai teánál. Az AMY és a LDH szérumszintje is nagyobb volt a teákat fogyasztó csoportokban a kontrollhoz képest, azonban csak az AMY esetében volt szignifikáns az eltérés.

12. táblázat: A Tieguanyin és a Mecsek tea kúraszerű fogyasztásának hatása a szérumbiokémiai paramétereire (átlag ± SD)

	K	KT	KM
AST (U/l)	86 ± 24,38	118,8 ± 29,49*	105,1 ± 19,11
ALT (U/l)	43 ± 5,66	44,6 ± 6,19	41,3 ± 7,55
ALP (U/l)	286,2 ± 143,02	634,7 ± 159,14*	495,1 ± 169,6*
ALB (g/l)	25,8 ± 5,55	31 ± 1,79*	28,7 ± 1,11
AMY (U/l)	1382,5 ± 161,06	2102,8 ± 140,84*	2174 ± 146,6*
LDH (U/l)	848 ± 501,9	1082 ± 687	1026 ± 431,5
CHOL (mmol/l)	1,72 ± 0,36	1,82 ± 0,34	1,79 ± 0,19
GLUC (mmol/l)	6,9 ± 0,75	7,94 ± 0,76*	7,6 ± 0,21*
HDL (mmol/l)	0,47 ± 0,09	0,68 ± 0,10*	0,60 ± 0,04*
TG (mmol/l)	1,07 ± 0,42	1,02 ± 0,38	1,53 ± 0,45*
T.P. (g/l)	54,8 ± 6,16	54,67 ± 2,42	51,86 ± 2,80
U.A. (mmol/l)	61,9 ± 17,46	98,5 ± 26,81*	102,2 ± 18,18*

n = 19, * szign. vs K, p < 0,05

A 21 napos Tieguanyin- és a Mecsek-teakúra a szérumbiokémiai paramétereire nem befolyásolta, a HDL-koleszterin szintjében azonban markáns emelkedést idézett elő. A szérumbiokémiai paramétereire a 12. táblázat tartalmazza. A hepatocelluláris károsodást jellemző enzimek közül az AST és az ALP aktivitásai szignifikáns emelkedést mutattak a Tieguanyin teát fogyasztó csoportban a kontrollhoz képest. Az AST enzimaktivitás-emelkedés a Mecsek teát ivó állatok szérumában is megfigyelhető volt, itt azonban mérsékeltebbnek bizonyult, azonban az ALP-aktivitás jelentősen meghaladta a kontrollértékeket, de kisebb mértékű volt a kínai teánál. Az AMY és a LDH szérumszintje is nagyobb volt a teákat fogyasztó csoportokban a kontrollhoz képest, azonban csak az AMY esetében volt szignifikáns az eltérés.

szignifikáns emelkedést mutatott a kontrollértékekhez viszonyítva. Ez az emelkedő tendencia az albumin koncentrációjában is megfigyelhető volt, ebben az esetben azonban csak a kínai teánál volt jelentős a változás. A szervezet nem-enzimatikus védelmi rendszerébe tartozó vegyületek, mint a glükóz, húgysav és albumin szérumszintjének emelkedése jelezheti a szérum szabadgyökös reakcióinak megszorodását és az erre adott válaszreakciót.

A Tieguanyin- és a Mecsek-teakúra egymáshoz viszonyított szérumparáméterekre gyakorolt hatásai között nem találtunk szignifikáns különbségeket.

A 21 napos Mecsek teafogyasztás nem szignifikáns emelkedést idézett elő a WBC-ben, mely a Tieguanyin tea esetében nem volt megfigyelhető. A RBC, és a HGB koncentrációjának nagymértékű emelkedését, míg az MCV jelentős csökkenését tapasztaltuk mindkét teakúrát követően (13. táblázat).

13. táblázat: A Tieguanyin és a Mecsek tea kúraszerű fogyasztásának vérképre gyakorolt hatása (átlag \pm SD)

	K	KT	KM
WBC ($\times 10^3/\mu\text{l}$)	5,13 \pm 0,56	5,95 \pm 1,58	7,6 \pm 2,84
RBC ($\times 10^6/\mu\text{l}$)	5,7 \pm 0,37	6,24 \pm 0,26*	6,09 \pm 0,19*
HCT (%)	37,4 \pm 1,35	38,57 \pm 1,19	38,53 \pm 0,99
HGB (g/dl)	12,6 \pm 0,50	13,3 \pm 0,36*	13,3 \pm 0,38*
MCV (fl)	65,8 \pm 3,82	60,3 \pm 1,59*	60 \pm 0,98*

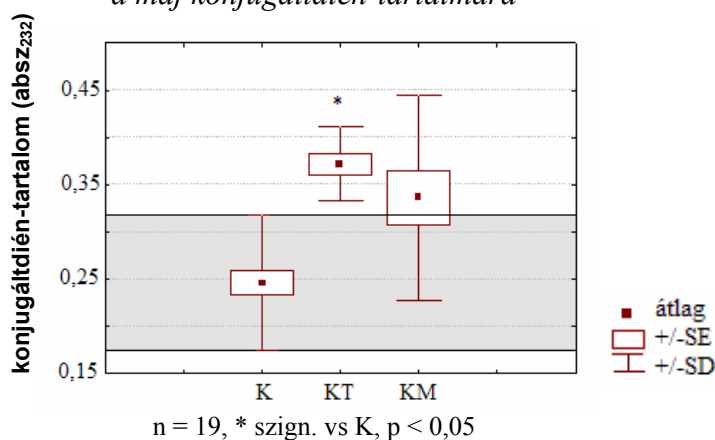
n = 19, * szign. vs K, p < 0,05

A vér-viszkozitás a Mecsek tea esetében szignifikánsan növekedett a kontrollhoz képest (K: 5,185 \pm 0,124 vs. KM: 5,658 \pm 0,259 mPa/s; p < 0,05). A Tieguanyin tea (KT: 5,463 \pm 0,356) kúraszerű itatását követően is megfigyelhető volt a viszkozitás-növekedés, azonban szignifikáns változást nem okozott a kontrollértékhez viszonyítva (nincs ábrázolva). A vérképben és a vér-viszkozitás változásában megfigyeltek valószínű magyarázatát az adja, hogy mindkét teakeverék összetevői között szerepelt diuretikus hatású komponens. Vizsgálatunk ezen eredményei felhívják a figyelmet a mértéktelen teafogyasztás vérkeringésre gyakorolt kedvezőtlen hatásaira.

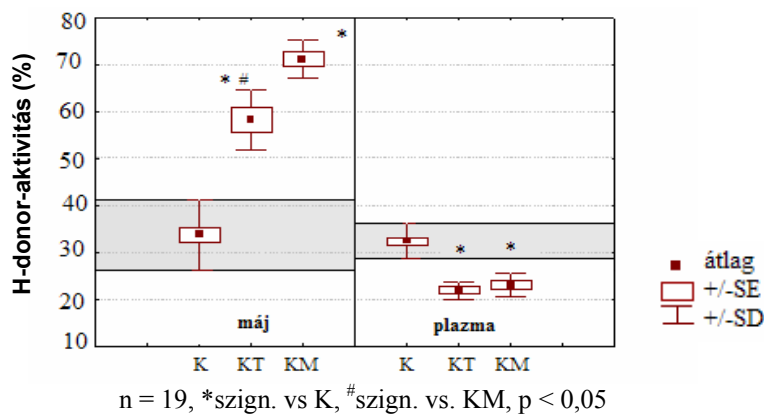
5.3.1.2. A Tieguanyin és a Mecsek tea kúraszerű fogyasztásának hatása a szöveti antioxidáns státuszra

Megállapítható volt, hogy mindkét tea növelte az egészséges máj konjugáltdién-tartalmát, melyet azonban jelentős H-donor aktivitás és redukálóképesség növekedés kísért. A Mecsek teát fogyasztó csoport májhomogenizátumaiban a diénkonjugátum-koncentráció emelkedése nem volt szignifikáns, míg a H-donor aktivitás és a redukálóképesség a kínai tea hatását is meghaladó mértékben emelkedett (16., 17. és 18. ábra).

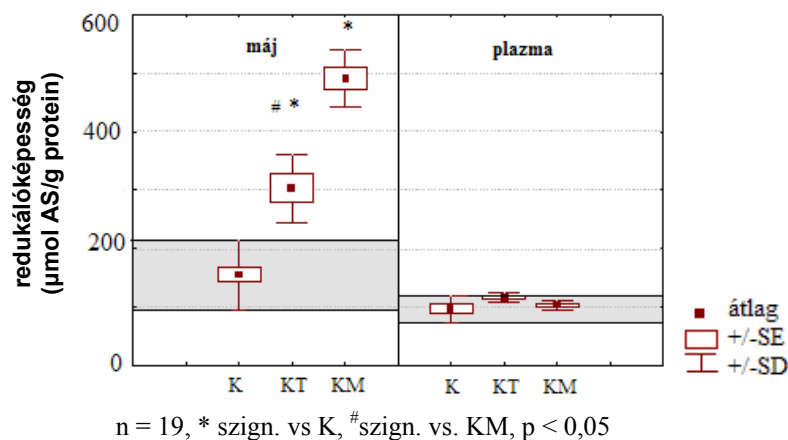
16. ábra: A Tieguanyin Mecsek tea kúraszerű fogyasztásának hatása a máj konjugáltdién-tartalmára



17. ábra: A Tieguanyin és a Mecsek tea kúraszerű fogyasztásának hatása a máj és a plazma H-donor aktivitására

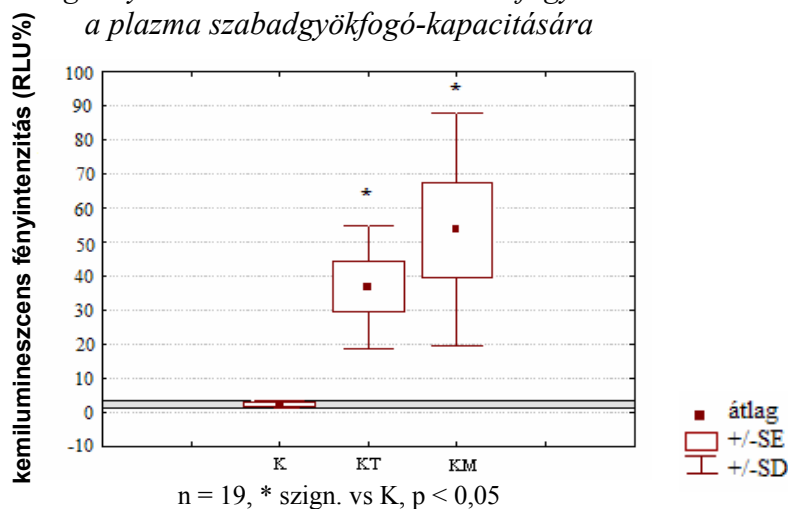


18. ábra: A Tieguanyin és a Mecsek tea kúraszerű fogyasztásának hatása a máj és a plazma redukálóképességére



A teákat ivó állatok plazmájában ugyanakkor a H-donor aktivitás szignifikáns csökkenését figyeltük meg, melyet alacsony szabadgyökfogó-kapacitás kísért, amit a magas RLU% jelzett. A redukálóképességben nem tapasztaltunk szignifikáns változást (17., 18. és 19. ábra).

19. ábra: A Tieguanyin és a Mecsek tea kúraszerű fogyasztásának hatása a plazma szabadgyökfogó-kapacitására



Az endogén antioxidáns védelem enzimatisz elemei közül a SOD- és a GSHpx-aktivitást vizsgáltuk májban és vörösvértestben. Az eredményeket a 20. és az 21. ábra mutatja be. A 21 napos teakúra a vörösvértestben nem befolyásolták a SOD-aktivitást. A GSHpx-aktivitást a Tieguanyin tea kismértékben csökkentette.

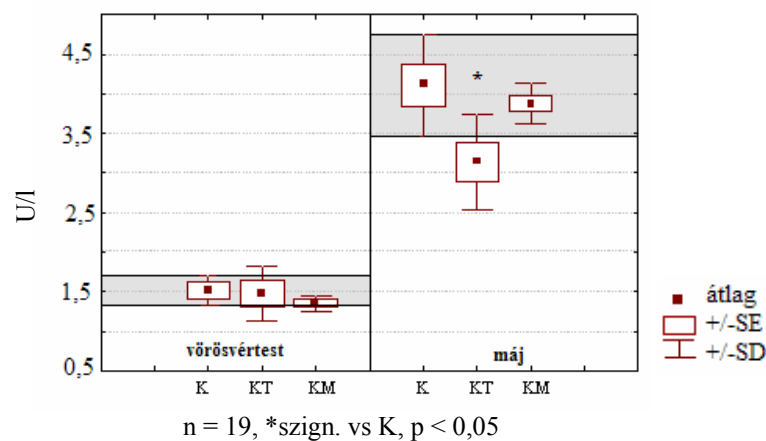
A májban ennél kifejezettebb eltéréseket tapasztaltunk. A máj-SOD a kínai teát fogyasztó csoportban szignifikánsan kisebb volt, azonban a magyar tea esetében nem változott. A máj GSHpx-aktivitás mindkét tea hatására növekedett.

A teakeverékek májra gyakorolt erőteljes hatása azt bizonyítja, hogy a készítmény-összetevők hatóanyagai vagy aktív degradátumai megjelentek a májban. A máj konjugáldién-tartalmának növekedése, az endogén antioxidáns védelem enzimatikus elemei közé tartozó szuperoxid-dizmutáz aktivitásának csökkenése és a glutation-peroxidáz aktivitás növekedése a szabad gyökök patológiás jelenlétére enged következtetni a 21 napos teakúrát követően.

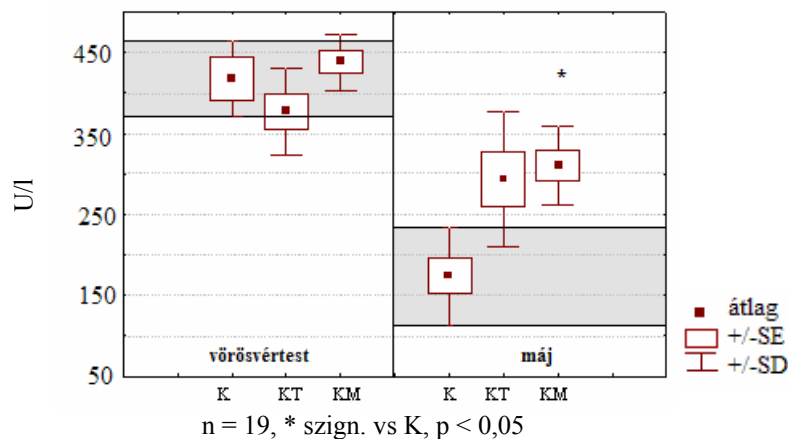
Fokozódó szabadgyök-képződést tapasztaltunk tehát a májban és a plazmában egyaránt, azonban az előbbi háttérben redukzív stressz, az utóbbi mögött oxidatív stressz állapot gyanítható, mely az eltérő funkciójú szövetek különböző antioxidáns védelmi rendszerének köszönhetően alakult ki. Ennek tisztázására további vizsgálatok szükségesek.

A máj és a plazma redox-homeosztázisára a Mecsek tea gyakorolt erőteljesebb hatást.

20. ábra: A Tieguanyin és a Mecsek tea kúraszerű fogyasztásának hatása a vörösvértest és a máj szuperoxid-dizmutáz aktivitására



21. ábra: A Tieguanyin és a Mecsek tea kúraszerű fogyasztásának hatása a vörösvértest és a máj glutation-peroxidáz aktivitására



5.3.1.3. A Tieguanyin és a Mecsek tea kúraszerű fogyasztásának hatása a plazma és a vörösvértest elemtartalmára

Az ásványi anyagok a biológiailag aktív hatóanyagokkal különböző stabilitási állandójú komplexeket hozhatnak létre. Az így létrejött kölcsönhatások erőssége és minősége döntően befolyásolja a fémek felszívódását, biohasznosulását, eliminációját, akkumulációját, valamint az adott szerv redox-homeosztázisában betöltött szerepét.

Az *in vitro* vizsgálatok alapján megállapítottuk, hogy a teakeverékekből készült kivonatok alumíniumtartalma jelentősen eltért egymástól (lsd. 5.1.1.3. fejezet). A Tieguanyin teakeverékből készült kivonat alumíniumkoncentrációja, az áztatási időtől függően, 4-6-szorosa volt a Mecsek teában mért mennyiségeknek. Ezért megvizsgáltuk a plazma és a vörösvértest alumíniumtartalmát, vajon találunk-e eltérést a teakúrát követően a két teakeverék között. *In vivo* eredményeink azonban azt mutatták, hogy mind a plazma, mind a vörösvértest alumíniumkoncentrációja kisebb volt a 21 napos teakúrát követően a kontrollértékekhez képest. A két kivonat alumíniumtartalma közti különbség sem nyilvánult meg a mintákban, sőt a vörösvértest alumíniumkoncentrációja szignifikánsan magasabb volt a Mecsek-teakúra után, mint a kínai teaitatást követően.

A Tieguanyin tea fogyasztás a plazma vaskoncentrációjában szignifikáns csökkenést idézett elő. A Mecsek tea növelte a réz- és a magnéziumtartalmat és csökkentette a vaskoncentrációt. A két teakúra közül a Mecsek teaitatás idézett elő nagyobb változást a plazma alumínium-, réz-, vas- és magnéziumkoncentrációjában.

A vörösvértest elemtartalmára azonban a Tieguanyin tea gyakorolt nagyobb hatást; az alumínium, vas, magnézium és cink mennyiségét jelentősen csökkentette. A 21 napig Mecsek teával kezelt állatok vörösvértestjében a magnéziumkoncentráció volt szignifikánsan kisebb a kontrollhoz képest (14. táblázat).

Eredményeink azt jelzik, hogy a Tieguanyin és Mecsek teával végzett hosszabb teakúra megzavarja a szövetek fémhomeosztázisát, mely következményesen a redox-homeosztázis felborulását eredményezi. Ismert, hogy a szervetlen elem komponensek a szerves hatóanyagokkal igen különböző stabilitási állandójú komplexeket alkotnak. A flavonoidokról tudjuk, hogy szerkezetüktől függően, komplexet képeznek átmenetifémekkel (232). E komplexek kölcsönhatása (szinergizmus, antagonizmus) jelentősen befolyásolja a fémek felszívódását és hasznosulásukat (198), ami magyarázatul szolgálhat az *in vitro* és *in vivo* vizsgálatok

során tapasztalt eltérő alumínium-koncentrációkra. Mindezek a komplex hatások állhatnak az eltérő szöveti fémelem-koncentrációk hátterében a két tea itatását követően.

14. táblázat: A Tieguanyin és a Mecsek tea kúraszerű fogyasztásának hatása a plazma és a vörösvértest elemkoncentrációira (µg/g plazma és 10 mg/ml hemoglobin tartalmú vörösvértest, átlag ± SD, n=5)

	K	KT	KM	K	KT	KM
	plazma			vörösvértest		
Al	1,953 ± 0,091	1,585 ± 0,146*	1,474 ± 0,144*	0,008 ± 0,003	0,003 ± 0,001*,#	0,005 ± 0,001
Cu	0,655 ± 0,004	0,651 ± 0,011#	0,675 ± 0,006*	< k.h.	< k.h.	< k.h.
Fe	2,029 ± 0,042	1,512 ± 0,010*#	1,308 ± 0,025*	30,3 ± 0,61	28,1 ± 3,77*#	30,3 ± 3,87
Mg	20,81 ± 0,290	20,89 ± 0,32#	21,81 ± 0,179*	0,082 ± 0,008	0,061 ± 0,001*#	0,069 ± 0,001*
Mn	< k.h.	< k.h.	< k.h.	< k.h.	< k.h.	< k.h.
Zn	1,015 ± 0,100	0,958 ± 0,020	0,994 ± 0,096	0,016 ± 0,002	0,013 ± 0,001*	0,014 ± 0,001
P	173,2 ± 23,17	128,0 ± 30,01	161,0 ± 8,797	41,35 ± 10,84	41,20 ± 1,692	42,25 ± 8,343
S	796,0 ± 48,99	773,5 ± 16,76	748,7 ± 21,59	135,5 ± 9,232	126,5 ± 6,140	130,2 ± 3,334

n = 19, < k.h. kimutatási határ alatt; * szign. vs. K; # szign. vs. KM, p < 0,05

5.3.1.4. A Tieguanyin és a Mecsek tea kúraszerű fogyasztásának hatása a májmikroszóma drogmetabolizáló enzimrendszerére

A gyógynövény-terápiák során gyakran felmerülő kérdés, hogyan módosul a drogmetabolizáló enzimrendszer működése. A kérdés aktualitását az adja, hogy számos gyógynövényből származó vegyület interakcióba léphet gyógyszer-molekulákkal a P450-enzimrendszer működésének következtében. A kölcsönhatás eredményeképpen a gyógyszerhatás módosul, tartós maradhat vagy rövid idő alatt lecsenghet, attól függően, hogy a növény hatóanyagai gátolják vagy indukálják a metabolizáló enzimek működését. A legtöbb esetben a gyógynövények alkalmazására gyógyszerek felhasználása mellett kerül sor. Fontosnak tartottuk ezért vizsgálatainkat az enzimrendszer tanulmányozására is kiterjeszteni a két tea kúraszerű alkalmazásakor.

A Tieguanyin és a Mecsek teakeverék vizes kivonatainak hatását P450-enzimek aktivitására a 15. táblázat mutatja be. A teafogyasztás a citokróm P450-tartalmat nem befolyásolta, a citokróm b₅-koncentráció mindkét tea esetén csökkent, a citokróm c-reduktáz és a P4502E1-aktivitás fokozódott, a P4501A-aktivitás a Tieguanyin tea

esetében enyhén emelkedett, míg a Mecsek tea 21 napos fogyasztása után csökkent a kontrollcsoport értékeihez viszonyítva. A változások egyik esetben sem érték el a matematikailag szignifikáns szintet.

15. táblázat: A Tieguanyin és a Mecsek tea kúraszerű fogyasztásának hatása P450-izoenzimek aktivitására (átlag ± SD)

	K	KT	KM
Citokróm-P450-tartalom (nmol/mg fehérje)	0,72 ± 0,10	0,80 ± 0,11	0,83 ± 0,10
Citokróm-b₅-koncentráció (nmol/mg fehérje)	0,28 ± 0,07	0,18 ± 0,05	0,17 ± 0,05
Citokróm c-reduktáz-aktivitás (µmol/min/mg)	0,019 ± 0,008	0,027 ± 0,009	0,027 ± 0,015
P4501A-aktivitás (pmol/min/mg)	30,04 ± 12,73	35,98 ± 10,31	20,05 ± 7,05
P4502E1-aktivitás (pmol/min/mg)	167,81 ± 75,66	179,5 ± 47,85	201,62 ± 33,01

n = 19

Eredményeink alapján elmondható, hogy a 21 napon keresztül tartó teaitatás, mellyel a mértéktelen teafogyasztás is jól modellezhető, a vizsgált teakeverékek esetében az egészséges máj működésében zavart okozott. A szervezet nem-enzimatikus védelmi rendszerébe tartozó vegyületek, úgymint a glükóz, húgysav és albumin szérumkoncentrációja emelkedést mutatott. A Tieguanyin tea erőteljesebb eltolódást okozott a vizsgált szérumparaméterekben. A vörösvértestszám és a hemoglobin koncentrációja szignifikáns emelkedését, míg az átlagos sejttérfogat markáns csökkenését tapasztaltuk mindkét teakúrát követően, melyet a teljes vér-viszkozitás emelkedése kísért. Fokozódó szabadgyök-képződést tapasztaltunk a májban és a plazmában egyaránt, azonban endogén védelmi rendszerük állapota eltért egymástól. A máj és a plazma redox-homeosztázisára a Mecsek tea gyakorolt erőteljesebb hatást. A Tieguanyin és a Mecsek teával végzett teakúra megzavarta a szövetek fémelem-homeosztázisát is. A kúraszerű teafogyasztás a májmikroszóma monooxigenázaira nem gyakorolt szignifikáns hatást.

5.3.2. PÁRHUZAMOS DIOZMIN-HESZPERIDIN-KEZELÉS HATÁSA A SZÖVETI REDOX-HOMEOSZTÁZISRA ÉTRENDI EREDETŰ ZSÍRMÁJBAN

A nem alkoholeredetű zsírmájbetegség egyre gyakrabban jelentkező állapot, mely irreverzibilis májbetegséghez vezethet. Az elhízás, mely a zsírmáj egyik fő okozója, elsődlegesen az egészségtelen táplálkozási szokások és a lipidekben gazdag étrend következménye. A helytelen táplálkozást zsírdús diéta etetésével modelleztük patkányban. Az általunk alkalmazott módszer alkalmas arra, hogy rövid idő alatt súlyos májelváltozást idézzon elő. Választásunk azért esett a nem vényköteles Detralexre, mert hatóanyagai olyan flavonoidok, melyeknek sokrétű hatása van az emlős szervezetre, azonban májra gyakorolt hatásuk kevésbé ismert *in vivo*. Ezen kívül hazánkban is gyakran alkalmazott szer vénás megbetegedések kezelésében, mely betegség nagyfokú elhízás esetén zsírmájbetegséggel is társulhat (165). Az étrendi heszperidin és diozmin a bélnyálkahártyán keresztüli felszívódás előtt a bélbaktériumok hatására, heszperetinné és diozmetinné deglikozilálódik, melyeknek további metabolizmusában a májnak fontos szerepe van. A diozmin-heszperidin tartalmú gyógyszer egyik hatóanyagát sem vizsgálták eddig zsírmájban.

Állatkísérletünk célja az volt, hogy vizsgáljuk a mikronizált citrus flavonoid hatóanyagokat (450 mg diozmin és 50 mg heszperidin) tartalmazó gyógyszer hatását a zsírmáj kialakulására, valamint a máj, plazma, vörösvértest és különböző bélszakaszok antioxidáns – szabad gyök egyensúlyára, a fémelem-homeosztázisra és a májmikroszóma monooxygenáz enzimrendszerének működésére. Vizsgálataink során fiatal, hím Wistar patkányokat (170-190 g; n = 60) *per os* kezeltünk 9 napon keresztül. A kezelés a gyógyszer alsó végtagok krónikus vénás elégtelenségében javasolt terápiás dózisnak (2 tablett/nap) felelt meg, melyet a metabolikus index alapján (lásd 4.4. fejezet) számítottunk át patkányra (60 mg/ttkg). A kísérlet befejezése a 10. napon történt. A terápia hasznosságának megítéléséhez, olyan módszereket alkalmaztunk, melyek alkalmasak a polifenolos vegyületek szövetben megjelenő hatásának tanulmányozására.

A kontrollesoport (**A-csoport**; n=10) standard tápot (Ssniff), a zsírdús táppal etetett csoport (**C-csoport**; n=10) 2% koleszterinnel, 20% napraforgóolajjal és 0,5% kólsavval kiegészített tápot, valamint mindkét csoport bidesztillált vizet kapott gyomorszondán

keresztül a gyógyszeres kezeléssel párhuzamosan. A **B-** és **D-csoport**ba tartoztak azok az állatok (n=20-20), melyek a normál (**B-csoport**) ill. zsírdús táp mellett (**D-csoport**) 60 mg/ttkg, bidesztillált vízben szuszpendált gyógyszert kaptak gyomorszondán keresztül. Minden csoport a tápot és az ivóvizet ad libitum fogyasztotta.

5.3.2.1. Párhuzamos diozmin-heszperidin-kezelés hatása a vér különböző paramétereire étrendi eredetű zsírmájban

A májkárosodás kifejlődését a szignifikánsan emelkedett enzimértékek (AST, ALP, LDH) jelezték a C-csoportban, melyet a gyógyszer csak az LDH esetében csökkentett. A vizsgált enzimek közül az amiláz aktivitása is szignifikánsan magasabb volt a kontrollértékhez viszonyítva a C-csoportban, melyre a gyógyszeres kezelés nem volt hatással. A standard tápot és a gyógyszert párhuzamosan fogyasztó csoport (B-csoport) enzimértékei nem különböztek A-csoport adataitól (16. táblázat).

16. táblázat: Enzim meghatározások (átlag ± SD)

szérum	A-csoport	B-csoport	C-csoport	D-csoport
AST (U/L)	97,91 ± 23	99,56 ± 15,85	115,3 ± 22,01*	122,06 ± 30,06
ALT (U/l)	45,56 ± 1,74	46 ± 12,87	46,73 ± 9,33	50,56 ± 5,88
ALP (U/l)	569,64 ± 104,32	610,5 ± 175,73	1532,3 ± 532,29*	1466,22 ± 353,95
LDH (U/l)	564,33 ± 125,51	474,2 ± 143,41	1119,86 ± 234,32*	698,08 ± 272,87 [#]
AMY (U/l)	2411,7 ± 252,33	2242,13 ± 186,17	2801,64 ± 323,93*	2755,44 ± 262,32

n = 60; * szign. vs A-csoport; [#] szign. vs C-csoport, p < 0,05

A szérumparaméterek hiperlipidémia kialakulását jelezték a zsírdús tápot fogyasztó csoportban. A 9 napig alkalmazott zsírdús diéta jelentősen emelte a szérum összkoleszterin-szintet, nem szignifikánsan növelte a triglicerid-koncentrációt, valamint szignifikánsan csökkentette a HDL-koleszterinszintet. A citrus flavonoidokat tartalmazó gyógyszeres kezelés nem szignifikánsan csökkentette a megemelkedett szérum koleszterin- és trigliceridszintet (17. táblázat). Számos tanulmány számolt be a heszperidin és a heszperetin lipidszintcsökkentő hatásáról állatkísérletekben (113, 143, 229). A narancs juice gazdag forrása a C-vitaminnak, a folsavnak és a flavonoidoknak, köztük a heszperidinnek is. A heszperidin koleszterincsökkentő hatása állatkísérletekben már ismert volt, amikor Kurowska és munkatársai azért végeztek humán tanulmányokat, hogy megállapítsák a narancs juice plazmalipidekre gyakorolt

hatását olyan egyéneken, akiknek mérsékelt hiperkoleszterinemiájuk volt. A napi 750ml juice-fogyasztás 21%-kal növelte a HDL-koleszterinszintjét, 18%-kal a folsavkoncentrációt, 16 %-kal csökkentette az LDL-HDL-koleszterin arányt (120). Egy másik humán vizsgálatban a glükozil-hesperidin (oldható hesperidin-származék) kedvezően csökkentette a szérum trigliceridszintet hipertrigliceridémiás egyénekben (143). Lee és munkatársai kimutatták, hogy hesperetin-kiegészítés (100 mg/kg) gátolta a HMG-CoA-reduktáz (3-metil-glutaril-CoA-reduktáz) és az ACAT (acil-koleszterin-aciltranszferáz) aktivitását patkányban, amiből arra következtetnek, hogy a hesperetin csökkenti a koleszterinbioszintézist (124). Ezekben a kísérletekben a kezelés 4-6 héten keresztül tartott. Vizsgálatainkban a kezelés 'short-term' jellege nem okozott szignifikáns lipidszintcsökkentő hatást.

A D-csoportba tartozó állatok szérumában a díozmin-hesperidin-kezelés a zsírdús diéta hatására jelentősen csökkent húgysavszintet a kontroll értékeit is meghaladó mértékben emelte. Egyik kezelés sem befolyásolta az albumin- és az összfehérje-koncentrációkat. A zsírdús táppal etetett állatok szérumglükóz szintje nem szignifikáns emelkedést mutatott, melyet a kezelés csekély mértékben tovább emelt.

17. táblázat: Metabolit meghatározások (átlag \pm SD)

szérum	A-csoport	B-csoport	C-csoport	D-csoport
CHOL (mmol/l)	1,81 \pm 0,272	1,95 \pm 0,36	5,08 \pm 3,52*	4,8 \pm 2,11
ALB (g/l)	24,5 \pm 3,58	25,41 \pm 2,53	25,91 \pm 3,89	24,89 \pm 2,76
GLUC (mmol/l)	6,89 \pm 0,48	6,95 \pm 0,44	7,11 \pm 0,58	7,3 \pm 0,49
TG (mmol/l)	0,86 \pm 0,16	0,88 \pm 0,41	1,21 \pm 0,61	0,78 \pm 0,42
HDL (mmol/l)	0,71 \pm 0,048	0,80 \pm 0,117	0,50 \pm 0,06*	0,49 \pm 0,1
U.A. (mmol/l)	128,92 \pm 26,71	115,88 \pm 39,78	99,91 \pm 29,83*	140,06 \pm 43,57 [#]
T.P. (g/l)	51,17 \pm 2,89	51,69 \pm 2,73	52,45 \pm 3,05	50,44 \pm 3,24

n = 60; * szign. vs A-csoport; [#] szign. vs C-csoport, p < 0,05

A kezelések nem okoztak szignifikáns változást a WBC, RBC és HGB koncentrációjában, valamint a HCT és az MCV értékében (18. táblázat).

18. táblázat: Párhuzamos diozmin-heszperidin-kezelés vérképre gyakorolt hatása étrendi eredetű zsírmájban (átlag ± SD)

	A-csoport	B-csoport	C-csoport	D-csoport
WBC ($\times 10^3/\mu\text{l}$)	1,5 ± 0,32	1,53 ± 0,39	1,04 ± 0,24	1,13 ± 0,28
RBC ($\times 10^6/\mu\text{l}$)	7,52 ± 0,38	8,14 ± 0,57	8,13 ± 0,60	7,91 ± 0,85
HCT (%)	45,41 ± 2,43	48,35 ± 2,84	48,15 ± 2,81	46,45 ± 4,06
HGB (g/dl)	15,8 ± 0,97	16,33 ± 0,66	14,79 ± 0,58	14,13 ± 0,57
MCV (fl)	60,38 ± 1,69	59,42 ± 2,02	59,50 ± 1,60	58,5 ± 1,68

n = 60

5.3.2.2. Párhuzamos diozmin-heszperidin-kezelés hatása a szöveti antioxidáns státuszra étrendi eredetű zsírmájban

Korábban bizonyítást nyert, hogy kísérletes zsírmájban a szabadgyökös reakciók jelentős szerephez jutnak (13, 77). Arra vonatkozóan is vannak tapasztalataink, hogy a növényi eredetű antioxidáns vegyületek késleltetni tudják a betegség progresszióját, sőt egyes esetekben regresszió érhető el alkalmazásukkal (13, 15, 68, 86). Tirkey és munkatársai 100 és 200 mg/kg per os adagolt heszperidin előkezelés protektív hatását vizsgálták szén-tetraklorid indukálta máj- és vesekárosodásban. A heszperidin csak 200 mg/kg dózisban volt képes a szén-tetraklorid okozta elváltozásokat kivédeni. Protektív hatását antioxidáns karakterével hozták összefüggésbe (212). Egy másik tanulmány a diozmin és metabolitjának, a diozmetinnek hatását tanulmányozta erythromycin okozta sejtmembrán károsodásban és tert-butilhidroperoxid indukálta oxidatív stresszben. A vizsgálat alapján csak a diozmetin védte ki a két toxikus ágens hatását a lipidperoxidáció gátlásán és a glutation tartalom növelésén keresztül (225). Lahouel és munkacsoportja szintén arról számolt be, hogy a 14 napon keresztül orálisan adagolt diozmin és kvercetin (60mg/kg/nap) redukálta a ciklofoszfamid, a vinblastin és a paracetamol által előidézett májkárosodást (122).

A kísérlet befejezése napján mért testtömeg, májtömeg és a kettő arányát mutatja be a 19. táblázat. Látható, hogy sem a 9 napos diozmin-heszperidin-kezelés, sem a zsírdús táp nem okozott változást a testtömegben. A májtömeg vizsgálatokor azonban jelentős növekedést figyeltünk meg a C-csoportban, melyet kis mértékben még tovább növelt a gyógyszer. A májtömeg/testtömeg arány a beteg állatokban májhipertrófiát jelzett, mely állapotban a diozmin-heszperidin-kezelés nem javított.

19. táblázat: Párhuzamos diozmin-heszperidin-kezelés hatása testtömeg, májtömeg, és a májtömeg/testtömeg arányra étrendi eredetű zsírmáj (átlag ± SD)

	Testtömeg (g)	Májtömeg (g)	Májtömeg/testtömeg (g/g)
A-csoport	281,2 ± 18,05	11,78 ± 1,42	0,042 ± 0,006
B-csoport	269,4 ± 17,13	11,18 ± 0,89	0,042 ± 0,004
C-csoport	276,9 ± 22,72	14,53 ± 1,49*	0,053 ± 0,007*
D-csoport	282,6 ± 30,93	15,87 ± 2,55	0,057 ± 0,013

n = 60; * szign. vs A-csoport, p < 0,05

A máj oxidációs állapotáról kapunk információt, amikor a lipidperoxidációs láncreakció iniciálásakor képződő konjugáltdién-tartalmat és a terminációt jellemző malondialdehid-koncentrációt vizsgáljuk. A zsírdús diétán tartott állatok májhomogenizátumában mind a konjugáltdién-tartalom, mind a malondialdehid-koncentráció szignifikáns emelkedését tapasztaltuk (20. táblázat), melyet az előbbi esetben a gyógyszeres kezelés nem befolyásolt, míg az utóbbi paramétert szignifikánsan csökkentette a citrus flavonoidok keveréke.

20. táblázat: Párhuzamos diozmin-heszperidin-kezelés hatása máj konjugáltdién- és malondialdehid-tartalmára étrendi eredetű zsírmájban (átlag ± SD)

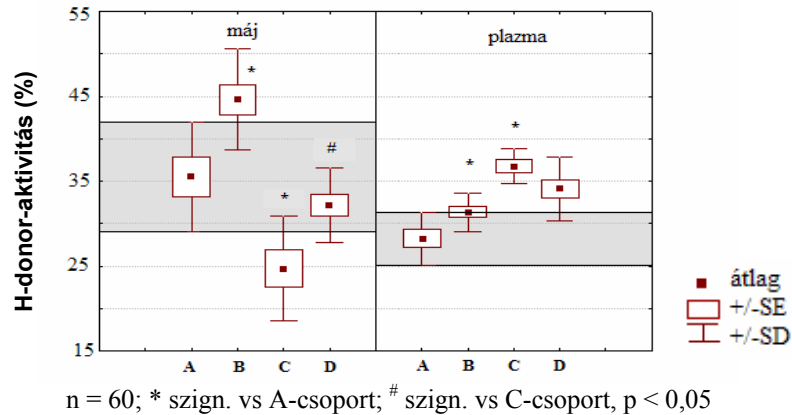
	A-csoport	B-csoport	C-csoport	D-csoport
Konjugáltdién-tartalom (absz₂₃₂)	0,27 ± 0,019	0,24 ± 0,009	2,60 ± 0,16*	2,78 ± 0,14
Malondialdehid-tartalom (mg/g fehérje)	0,03 ± 0,03	0,04 ± 0,06	4,03 ± 1,07*	2,53 ± 0,98 [#]

n = 60; * szign. vs A-csoport; [#] szign. vs C-csoport, p < 0,05

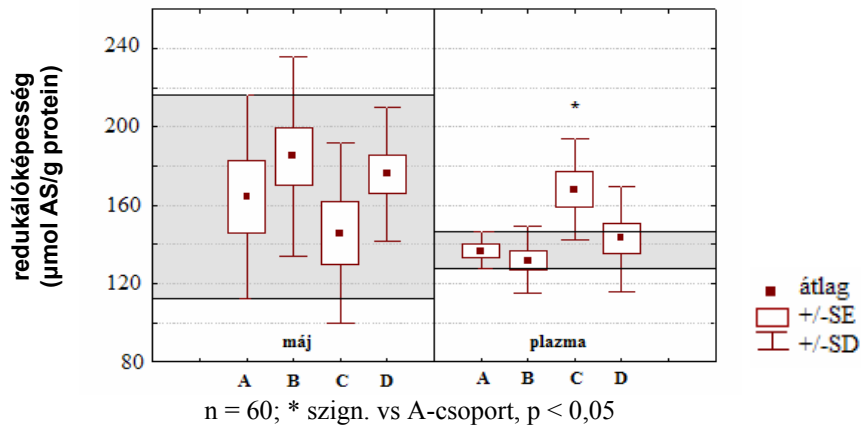
Az experimentálisan létrehozott zsírmájban a redukálóképesség, a H-donor aktivitás és a szabad SH-csoport koncentráció csökkent az egészséges májhoz viszonyítva, a két utóbbi esetben a változás szignifikáns volt. A plazmában ugyanezen paraméterek markáns emelkedését tapasztaltuk a kontrollcsoporthoz képest. Ezeket az eltéréseket a diozmin-heszperidin-kezelés mind a májban, mind a plazmában a kontrollértékhez közelítette (22., 23. és 24. ábra). Eredményeink megerősítik, hogy a különböző szövetekben eltérő a szabadgyökös folyamatok intenzitása, a szövetek antioxidáns védelme, mely a szervezetben betöltött funkciójuknak megfelelően alakul ki.

A B-csoport állatainak májában és plazmájában a H-donor aktivitás nagymértékben növekedett, a redukálóképesség és a szabad-SH koncentráció szignifikánsan nem változott (22., 23. és 24. ábra).

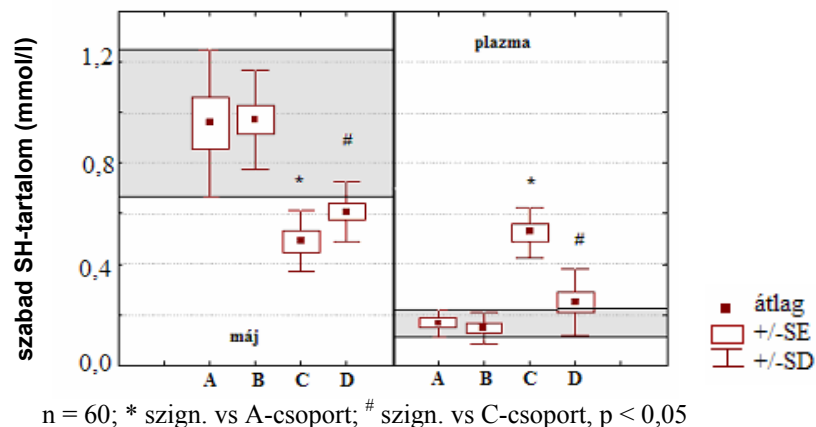
22. ábra: Párhuzamos diozmin-heszperidin-kezelés hatása a máj és a plazma H-donor aktivitására étrendi eredetű zsírmájban



23. ábra: Párhuzamos diozmin-heszperidin-kezelés hatása a máj és a plazma redukálóképességére étrendi eredetű zsírmájban



24. ábra: Párhuzamos diozmin-heszperidin-kezelés hatása a máj és a plazma szabad SH-tartalmára étrendi eredetű zsírmájban



A szabadgyökfogó-kapacitás a szervezetben keletkező vagy abba bejutó szabad gyökökkel szembeni multifaktoriális egymásra épülő védekező rendszerek optimális működését jelenti. Jellemzi a vizsgált biológiai rendszer szabadgyök-elimináló aktivitását, mely más-más antioxidáns vegyületeket és enzimaktivitás értékeket jelent attól függően, hogy sejtet, szubcelluláris partikulumot, sejtközötti teret vagy szövetet vizsgálunk (15). Eredményeink az experimentális zsírmájban a szabadgyökfogó-kapacitás drasztikus csökkenését mutatták a kontrollhoz képest, melyet a gyógyszer nem szignifikánsan növelt. Hasonló változást tapasztaltunk a zsírdús táppal etetett állatok plazmájában is, és bár szignifikáns volt az eltérés a kontrollhoz viszonyítva, lényegesen kisebb kapacitás csökkenés volt tapasztalható, mint a zsírmájban (21. táblázat).

21. táblázat: Párhuzamos diozmin-heszperidin-kezelés hatása a máj, plazma és vörösvértest szabadgyökfogó-kapacitására étrendi eredetű zsírmájban (átlag \pm SD)

	máj	plazma	vörösvértest
	kemilumineszcens fényintenzitás (RLU%)		
A-csoport	0,103 \pm 0,083	0,780 \pm 0,053	336,9 \pm 58,24
B-csoport	0,041 \pm 0,029*	0,992 \pm 0,145	382,8 \pm 46,95
C-csoport	97,05 \pm 26,29*	1,630 \pm 0,575	150,6 \pm 88,15*
D-csoport	78,03 \pm 42,49	1,308 \pm 0,737	118,81 \pm 33,55

n = 60; * szign. vs A-csoport, p < 0,05

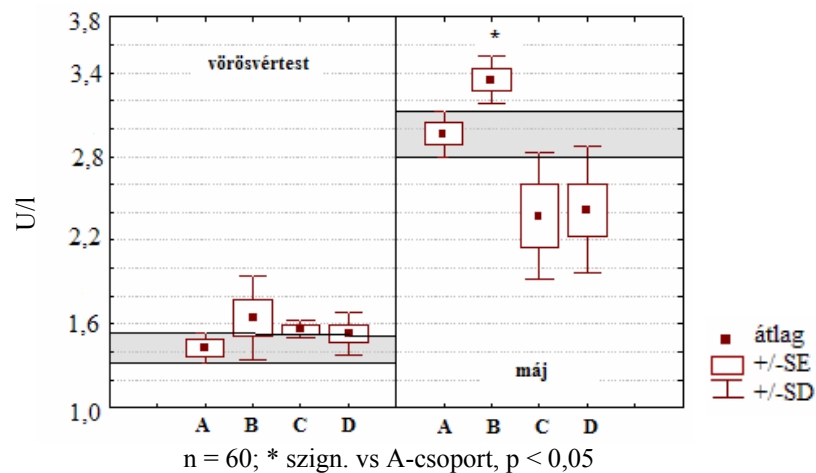
Ezek az eredmények arra engednek következtetni, hogy a zsírmájban létrejött szabadgyök okozta károsodás olyan nagymértékű volt, hogy az endogén antioxidáns védelmi rendszert teljesen kimerítette. A plazmában azonban az endogén antioxidáns védelem jelentős maradt a fokozódó szabadgyök-termeléssel szemben. A citrus flavonoidokat tartalmazó gyógyszer a máj csökkent működésű és a plazma fokozott működésű nem-enzimatis védelmi rendszerének állapotát az egészséges állatokban tapasztalt értékekhez közelítette.

A standard tápot és gyógyszert párhuzamosan kapott állatok májhomogenizátumában és plazmájában a hidrogén-donor aktivitás szignifikáns növekedését, a plazmában és a vörösvértestben a szabadgyökfogó-kapacitás csökkenését figyeltük meg. A plazmában tapasztalt jelenségre a plazma fémelem-analízise szolgáltatott magyarázatot.

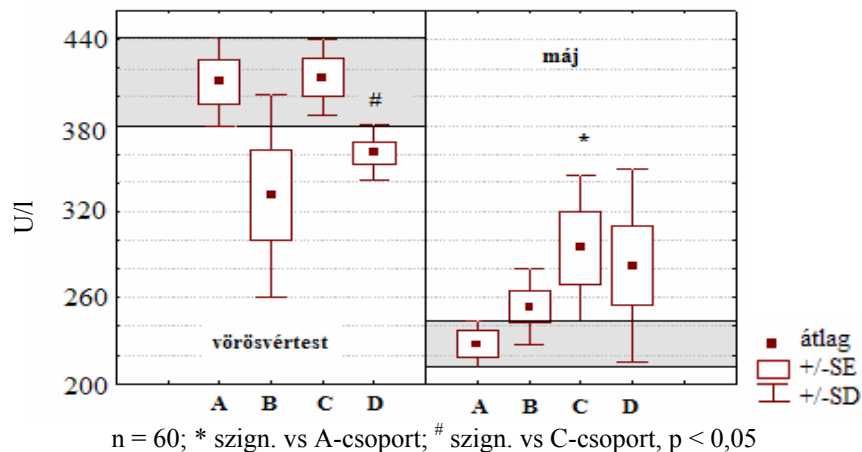
A vörösvérttestben – ellentétben a májban és plazmában tapasztaltakkal – markáns szabadgyökfogó-kapacitás növekedést tapasztaltunk a zsírmájjas csoportban (C-csoport), melyet a kemiluminszcens fényintenzitás jelentős csökkenése jelzett. A citrus flavonoidok nem idéztek elő statisztikailag szignifikáns változást ebben a rendszerben.

A vörösvérttestben a SOD-aktivitása jelentős emelkedést mutatott, míg a májban ugyanennek az enzimnek az aktivitása nagymértékben csökkent. A diozmin-heszperidin-kezelés egyik esetben sem volt hatással a beteg állatok SOD-aktivitására. A gyógyszerrel kezelt egészséges állatok vörösvérttestében és májában azonban a SOD-aktivitás emelkedését tapasztaltuk, mely csak az utóbbi esetben volt szignifikáns (25. ábra).

25. ábra: Párhuzamos diozmin-heszperidin-kezelés hatása a máj és a vörösvérttest szuperoxid-dizmutáz aktivitására étrendi eredetű zsírmájban



26. ábra: Párhuzamos diozmin-heszperidin-kezelés hatása a máj és a vörösvérttest glutation-peroxidáz aktivitására étrendi eredetű zsírmájban



5.3.2.3. Párhuzamos diozmin-heszperidin-kezelés hatása a duodenum-, jejunum-, ileum- és colon-mucosa redox-egyensúlyára étrendi eredetű zsírmájban

A bélrendszer redox-homeosztázisának biztosítása – hasonlóan a test többi szervéhez – az endogén antioxidáns védelem révén valósul meg. A szervezetbe jutó flavonoidok metabolizmusában a vékonybél és a vastagbél fontos szerepet játszik (180). A flavonoidok nagy koncentrációban lehetnek jelen az intestinumban, ezáltal jelentős befolyást gyakorolhatnak annak redox-homeosztázisára. Mindezek alapján célunk volt vizsgálni a zsírdús táp etetésével párhuzamosan adott diozmin-heszperidin hatását különböző bélszakaszok redoxi paramétereire.

A zsírdús táplálkozás módosítja a bél toknélküli nyirokrendszere sejtjeinek kommunikációját a kapcsolatot fenntartó citokinek termelése és felszabadulása befolyásolásán keresztül. A lipidekben gazdag táplálkozás és az alkoholfogyasztás következtében a bélmucosa jelentősen károsodott, ödémás és ulceratív képet mutat. A diffúz, felszíni epithelialis károsodás mértéke gyakran a mucosa 80%-ra kiterjed. Korábbi vizsgálatokban megfigyelték, hogy a bél három felső szakasza, a duodenum, a jejunum és az ileum antioxidáns védelme intenzívebb, mint a colon és rectum szakaszoké, melynek oka a szerkezeti felépítés és az ebből adódó funkcióbeli különbség (15, 16). Kísérletünkben megerősítettük az utóbbi megállapításokat. A diozmin-heszperidin tartalmú gyógyszer szignifikáns hatást csak a colonban tudott kifejteni. Ebben a bélszakaszban az egészséges állatok szabad SH-csoport koncentrációját a gyógyszeres kezelés a kontrollérték harmadrészére csökkentette, míg a redukálóképességet duplájára növelte. A többi, nem szignifikánsan változó, paraméter esetében is elmondható, hogy a gyógyszer flavonoidjai nem a kontroll irányába okoztak eltérést a colon mucosában (22. táblázat). Mindezen hatások háttérében az állhat, hogy a diozmin és a heszperidin felszívódása, mikrobiális hasítása és mikroszomális átalakulása során olyan eltérő szerkezetű metabolitok keletkeznek, melyek biokémiai hatásai lényegesen különböznek az eredeti molekulától. A jelenség okának pontos felderítéséhez további, a metabolitokat is érintő, vizsgálatok szükségesek.

22. táblázat: Párhuzamos diozmin-heszperidin-kezelés hatása különböző bélszakaszok redoxi paramétereirei étrendi eredetű zsírmájban (átlag ± SD)

	H-donor aktivitás (gátlás %)	szabad-SH-tartalom (mmol/l)	redukálóképesség (μmol AS/g fehérje)	szabadgyökfogyókapacitás (RLU%)
A-duodenum	65,08 ± 3,46	0,623 ± 0,235	0,494 ± 0,018	1,620 ± 0,735
B-duodenum	70,68 ± 3,32	0,660 ± 0,105	0,490 ± 0,042	10,22 ± 6,336
C-duodenum	85,57 ± 10,93	0,821 ± 0,333	0,662 ± 0,136	4,900 ± 4,045
D-duodenum	73,84 ± 10,72	0,729 ± 0,070	0,554 ± 0,072	63,79 ± 52,39
A-jejunum	85,70 ± 7,47 ^{&}	0,840 ± 0,013 ^{&}	0,669 ± 0,001	2,170 ± 1,754
B-jejunum	82,60 ± 11,09	0,640 ± 0,150	0,651 ± 0,140	42,18 ± 37,33
C-jejunum	69,59 ± 35,72	0,784 ± 0,118	0,494 ± 0,323	37,80 ± 31,09
D-jejunum	83,12 ± 13,13	0,673 ± 0,108 ^{&}	0,622 ± 0,112	52,56 ± 41,39
A-ileum	59,12 ± 8,881 ^{\$}	0,427 ± 0,056 ^{&,\$}	0,768 ± 0,044 ^{\$}	180,7 ± 37,96 ^{&,\$}
B-ileum	63,78 ± 12,40 ^{\$}	0,497 ± 0,127 ^{&}	0,528 ± 0,097 ^{\$}	168,4 ± 44,47 ^{&,\$}
C-ileum	64,36 ± 18,85	0,416 ± 0,115 ^{&,\$}	0,510 ± 0,146	153,1 ± 59,38 ^{&,\$}
D-ileum	68,28 ± 17,31	0,402 ± 0,100 ^{\$}	0,543 ± 0,122	114,4 ± 87,49
A-colon	7,60 ± 3,46 ^{&,\$,§}	0,224 ± 0,029 ^{&,\$}	0,088 ± 0,010 ^{&,\$,§}	234,6 ± 14,42 ^{&,\$}
B-colon	11,73 ± 2,62 ^{&,\$,§}	0,069 ± 0,059 ^{*,&,\$,§}	0,160 ± 0,025 ^{*,&,\$,§}	238,8 ± 23,89 ^{&,\$}
C-colon	19,18 ± 8,61 ^{&}	0,263 ± 0,020 ^{&,\$}	0,138 ± 0,074 ^{&,\$,§}	199,6 ± 15,32 ^{&,\$}
D-colon	25,26 ± 0,26 ^{&,\$}	0,140 ± 0,033 ^{#,&,\$,§}	0,177 ± 0,017 ^{&,\$,§}	184,49 ± 28,11 ^{&,\$}

n = 60, p < 0,05

szign. vs A-csoport; # szign. vs C-csoport; & szign. vs duodenum; \$ szign. jejunum; § szign. ileum

5.3.2.4. Párhuzamos diozmin-heszperidin-kezelés hatása a máj, a plazma és a vörösvértest elemtartalmára étrendi eredetű zsírmájban

A flavonoidok antioxidáns hatásukat többféle mechanizmus útján fejtik ki, melyek közül az egyik a flavonoid-fémion komplexek létrehozása elsősorban az oxigén metabolizmusban fontos szerepet játszó nyomelemekkel. Ennek kapcsán végeztük el mintáink fémelem-analízisét.

Az egészséges állatok májában a gyógyszer hatására megnőtt a réz-, a vas-, a magnézium-, a mangán- és a cinkkoncentráció, a plazmában a vas- és a cink-, a vörösvértestben a cink- és a kéntartalom változott szignifikánsan. A gyógyszerrel kezelt egészséges állatok májában elegendő antioxidáns volt jelen ahhoz, hogy

megakadályozza a szabad gyökök kóros mértékű felszaporodását, köszönhetően a gyógyszer hatására megnövekedett SOD-aktivitásnak is. Míg a plazma védelmi rendszere a vas katalizálta szabadgyök-képződést nem tudta kivédeni. A zsírdús táppal etetett állatok májmintáiban a foszfor és a vas kivételével mindegyik vizsgált elem markáns csökkenést mutatott, melyet a gyógyszeres kezelés minden esetben a kontrollhoz közelített. A B-csoportban a réz-, magnézium-, mangán-, cink- és vastartalom szignifikáns növekedést mutatott az A-csoporthoz viszonyítva (23.táblázat).

23. táblázat: Párhuzamos diozmin-heszperidin-kezelés hatása a máj ásványi elemtartalmára étrendi eredetű zsírmájban ($\mu\text{g/g}$ nedves szövet, átlag \pm SD, $n=5$)

elemek	A-csoport	B-csoport	C-csoport	D-csoport
Cu	2,13 \pm 0,01	2,52 \pm 0,08*	1,67 \pm 0,01*	1,93 \pm 0,01 [#]
Fe	48,06 \pm 2,73	56,33 \pm 1,20*	49,17 \pm 12,43	44,33 \pm 1,28
Mg	226,7 \pm 4,32	267,1 \pm 1,17*	99,6 \pm 1,32*	112,7 \pm 1,75 [#]
Mn	1,09 \pm 0,01	1,4 \pm 0,03*	0,86 \pm 0,05*	1,02 \pm 0,08 [#]
P	2098 \pm 344,4	2322 \pm 11,27	1855 \pm 33,07	2105 \pm 337,7
S	1666 \pm 4,58	1891 \pm 290,8	1307 \pm 10,77*	1457 \pm 117,5
Zn	14,88 \pm 0,59	17,74 \pm 0,73*	12,23 \pm 0,10*	13,42 \pm 0,16

$n = 60$; * szign. vs A-csoport; [#] szign. vs C-csoport, $p < 0,05$

A C-csoport plazmájában a vastartalom szignifikáns növekedése volt megfigyelhető, melyet a zsírdús diéta mellett alkalmazott citrus flavonoidok nagymértékben csökkentettek. A B-csoport plazmamintáiban a kontrollcsoporttól nagyobb cinkkoncentrációt detektáltunk. A D-csoport esetén a kén tartalom jelentősen csökkent a C-csoporthoz képest (24. táblázat).

24. táblázat: Párhuzamos diozmin-heszperidin-kezelés hatása a plazma ásványi elemtartalmára étrendi eredetű zsírmájban ($\mu\text{g/g}$, átlag \pm SD, $n=5$)

elemek	A-csoport	B-csoport	C-csoport	D-csoport
Cu	0,75 \pm 0,02	0,80 \pm 0,02	0,65 \pm 0,03	0,59 \pm 0,19
Fe	2,88 \pm 0,03	3,29 \pm 0,08*	9,62 \pm 0,20*	4,32 \pm 0,04 [#]
Mg	16,9 \pm 0,04	17,9 \pm 1,23	20 \pm 3,04	17,7 \pm 0,75
Mn	0,01 \pm 0,01	0,03 \pm 0,005	0,02 \pm 0,007	0,01 \pm 0,003
P	173,1 \pm 23,17	155,6 \pm 18,67	152,7 \pm 12,33	172,4 \pm 29,65
S	795,9 \pm 78,99	809,6 \pm 22,29	804,7 \pm 26,98	729,8 \pm 16,6 [#]
Zn	1,10 \pm 0,13	1,93 \pm 0,05*	0,91 \pm 0,30	0,94 \pm 0,02

$n = 60$; * szign. vs A-csoport; [#] szign. vs C-csoport, $p < 0,05$

A gyógyszerrel kezelt egészséges állatok vörösvérteteiben a cinktartalom jelentősen növekedett, a kéntartalom szignifikánsan csökkent a kontrollhoz képest. A C-csoportban csak a kén esetében figyeltünk meg szignifikáns csökkenést a kontrollhoz viszonyítva, melyet a gyomorszondán adagolt gyógyszer normalizált (25. táblázat).

25. táblázat: Párhuzamos diozmin-heszperidin-kezelés hatása a vörösvértést ásványi elemtartalmára étrendi eredetű zsírmájban ($\mu\text{g/g}$ 10 mg/ml hemoglobin tartalmú vörösvértést, átlag \pm SD, n=5)

elemek	A-csoport	B-csoport	C-csoport	D-csoport
Cu	0,02 \pm 0,01	0,03 \pm 0,004	0,02 \pm 0,003	0,02 \pm 0,003
Fe	23,1 \pm 2,21	22,6 \pm 0,62	24,5 \pm 3,44	24,1 \pm 1,73
Mg	1,49 \pm 0,02	1,40 \pm 0,02	1,51 \pm 0,02	1,58 \pm 0,02
Mn	0,002 \pm 0,001	0,006 \pm 0,004	0,002 \pm 0,001	0,003 \pm 0,001
P	41,3 \pm 10,84	44,2 \pm 5,92	37,2 \pm 7,27	49,9 \pm 16,12
S	135,5 \pm 9,23	117,7 \pm 0,61*	107,4 \pm 5,21*	137,7 \pm 10,3 [#]
Zn	0,24 \pm 0,02	0,32 \pm 0,01*	0,27 \pm 0,02	0,24 \pm 0,02

n = 60; * szign. vs A-csoport; [#] szign. vs C-csoport, p < 0,05

A máj, plazma és vörösvértést fémelem-analízis eredményei szintén jól demonstrálták a különböző szöveteket ért károsodások eltérő mértékét. A májban, két elem kivételével, az összes vizsgált elemtartalom szignifikánsan eltért a kontrollcsoport értékeitől, míg a plazmában és a vörösvértéstben egy-egy fém koncentrációjában tapasztaltunk jelentős változást. A diozmin-heszperidin tartalmú gyógyszer minden esetben a kontrollhoz közelítette az elemkoncentrációkat. Az irodalomból ismert, hogy a polifenolok stabil komplexet képezhetnek étrendi fémekkel és módosíthatják annak felszívódását a bélből (26). Santos és munkatársai tanulmányukban leírták, hogy a diozmin jól komplexálta a Cu-inokat, mely képesség egyik oka lehet az antioxidáns hatásának (186). Az egészséges és a beteg állatokban tapasztalt eltérő gyógyszerhatás a fémkoncentrációkra valószínűleg a különböző felszívódási körülményeknek köszönhető.

5.3.2.5. Párhuzamos diozmin-heszperidin-kezelés hatása a májmikroszóma drog-metabolizáló enzimrendszerére zsírmájban

A drog-metabolizáló enzimek aktivitása a máj patológiás elváltozásaival járó állapotaiban megváltozik (11). Munkánk során azt vizsgáltuk, hogy a diozmin és heszperidin hatóanyagokat tartalmazó gyógyszer milyen befolyást gyakorol az étrendi úton előidézett zsírmáj mikroszómaiban működő P450- és FMO1-enzimre.

Zsírmájban a drogmétabolizmus jelentősen csökkent (13). Fontos szempont tehát, hogy a szervezetbe jutott gyógyszer ezen az állapoton ne rontson. Az enzimrendszerek állapota meghatározó a flavonoidokat tartalmazó gyógyszerek farmakológiai hatása szempontjából is. A monooxigenáz enzimrendszerben fiziológias és patológiás körülmények között egyaránt képződnek szabad gyökök. Bogin és munkatársai leírták, hogy a májelzsírosodás patomechanizmusának korai fázisában a mikroszomális monooxigenáz enzimrendszer aktiválódik, majd a szignifikáns lipidakkumuláció következtében az enzimrendszer csökkenő induktivitást és aktivitást mutat (20). A zsírmájban toxikus koncentrációban képződő szabad gyökök károsítják magát a mikroszomális enzimrendszert is a membránok lipidperoxidációja következtében, ezért a membránkötött enzimek aktivitása csökken. A májmikroszómaiban három fő elektrontranszport rendszert írtak le, melynek elemei az monooxigenázok, a zsíracyl-KoA-deszaturáz és a lipidperoxidációért felelős enzimrendszerek. A lipidperoxidáció rendszer elsődlegesen a NADPH-citokróm P450-reduktáz (citokróm c-reduktáz) aktivitásától függ, mindhárom enzimrendszernek képes közvetlenül vagy közvetve elektronokat szolgáltatni (15).

Az általunk alkalmazott gyógyszer citrus flavonoid hatóanyagainak métabolizmusában a máj fontos szerepet játszik (49, 99). A citokróm P450-tartalom a 9 napos zsírdús diéta hatására jelentősen, de nem szignifikánsan csökkent, melyet a gyógyszeres kezelés nem szignifikánsan tovább csökkentett. A P4501A- és 2E1-enzimek aktivitása szignifikáns csökkenést mutatott a zsírdús diétán tartott csoportban a kontrollhoz képest, ezt a gyógyszeres kezelés nem befolyásolta. A zsírdús táp és a gyógyszer nem szignifikáns változásokat idézett elő a citokróm b₅-koncentrációban és a citokróm c-reduktáz aktivitásában (26. táblázat).

A flavin-monooxigenázok (FMO) számos kéntartalmú vegyület és más gyenge nukleofil oxidációjában vesznek részt. Az FMO, többnyire FMO1 formában van jelen a

patkányok májában és intestinumában (123). Az FMO1 aktivitásában a zsírdús diétán tartott állatok mikroszómájában tapasztaltunk szignifikáns változást, ahol csökkent az aktivitása a kontrollhoz viszonyítva, és ezt a hatást a gyógyszer nem tudta kivédeni.

26. táblázat: Párhuzamos diozmin-heszperidin-kezelés hatása P450-enzimek aktivitására étrendi eredetű zsírmájban

	A-csoport	B-csoport	C-csoport	D-csoport
Citokróm-P450-tartalom (nmol/g máj)	18,27 ± 6,420	16,19 ± 1,773	11,59 ± 3,563	8,870 ± 1,138
Citokróm-b₅-koncentráció (nmol/g máj)	3,255 ± 1,415	3,100 ± 1,636	5,178 ± 1,463	4,178 ± 0,898
Citokróm c-reduktáz-aktivitás (µmol/min/mg)	0,028 ± 0,011	0,018 ± 0,011	0,043 ± 0,008	0,039 ± 0,015
P4501A-aktivitás (pmol/min/mg)	32,12 ± 9,640	30,44 ± 5,574	3,368 ± 2,554*	4,047 ± 1,057
P4502E1-aktivitás (pmol/min/mg)	230,0 ± 64,17	257,2 ± 70,40	50,79 ± 26,63*	51,33 ± 56,93
FMO1-aktivitás (pmol/min/mg)	2252,3 ± 272,8	1887,8 ± 653,7	622,8 ± 308,6*	720,0 ± 273,68

n = 30; átlag ± SD; * szign. vs A-csoport, p < 0,05

Eredményeink alapján megállapítottuk, hogy a diozmin-heszperidin tartalmú gyógyszer, az alkalmazott dózisban és időtartamban, nem volt szignifikáns hatással a zsírmáj és az egészséges máj mikroszomális P450- és FMO-enzimrendszerére.

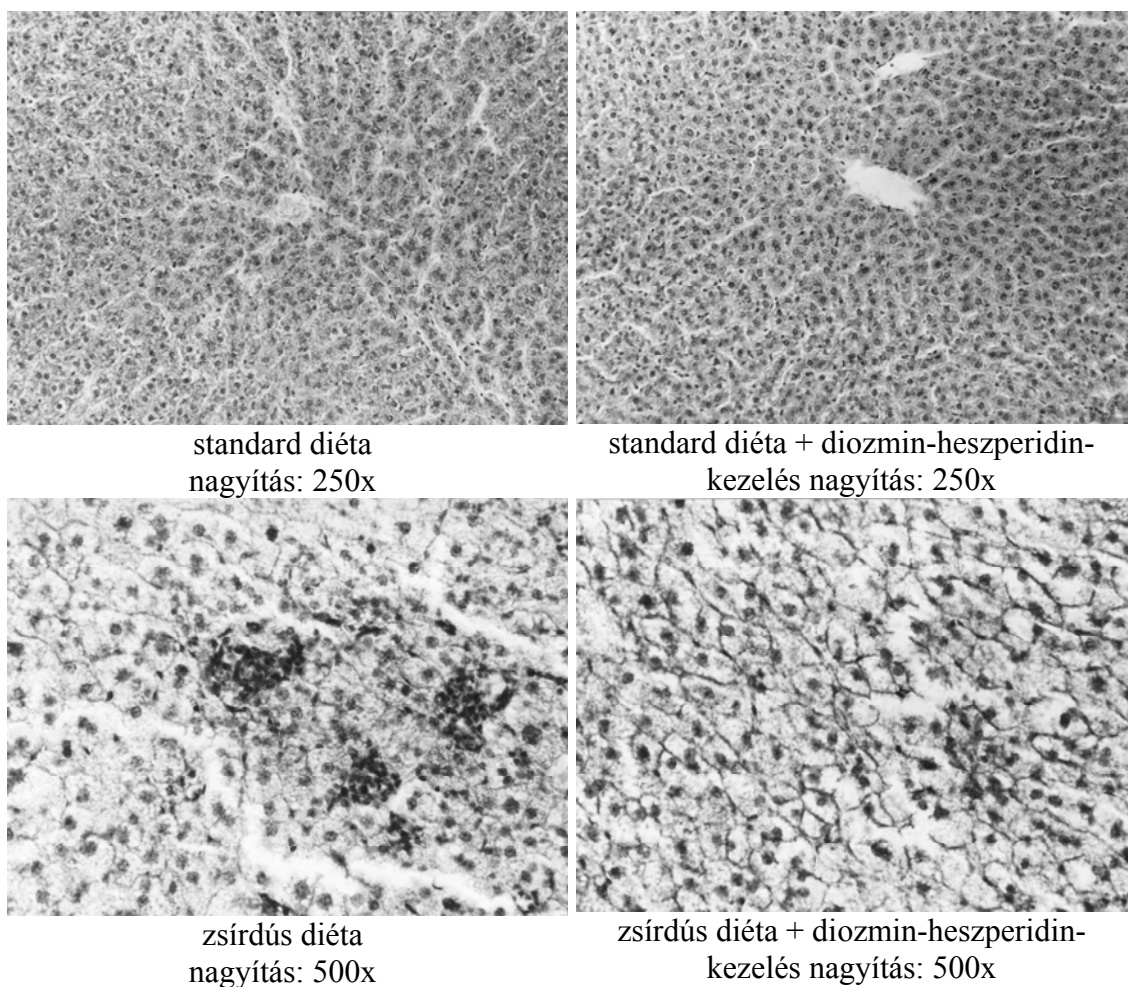
5.3.2.6. Párhuzamos diozmin-heszperidin-kezelés hatása a zsírmáj szöveti képre

A zsírmáj kialakulását morfológiai vizsgálatokkal igazoltuk. A máj hisztológiai vizsgálata a zsírdús diéta hatására kialakuló zsíros degenerációt mutatta. A májsejtek megduzzadtak, a sejthatárok összemosódtak, zsírcseppek felhalmozódása volt megfigyelhető, néhány sejt teljesen nekrotizált, valamint gyulladáshoz vezető folyamatokat is megfigyeltünk. A gyógyszerrel kezelt csoport májának szövettani képe hasonló elváltozást mutatott, azonban gyulladáshoz vezető folyamat alig volt látható. A standard diéta mellett adott gyógyszer a májszövetben nem okozott lényeges eltéréseket a kontrolltól (27. ábra).

Összefoglalásképpen elmondható: a zsírdús táp hatására kifejlődő májkárosodást a szignifikánsan megemelkedett enzimértékek jelezték. A gyógyszeres kezelés csak a LDH esetében ért el szignifikáns csökkenést. A zsírmáj kialakulását morfológiai vizsgálatokkal igazoltuk. A diozmin-heszperidin tartalmú gyógyszer nem szignifikánsan

csökkentette a zsírdús táp következtében megemelkedett szérumban a koleszterinszintet. A kezelések nem okoztak eltérést a vérképben. A diozmin-heszperidin-kezelés nem javított a zsírdús táppal etetett állatokban megfigyelhető májhipertrófián. A máj és a plazma hidrogén-donor aktivitása, redukálóképessége és szabad szulfhidril-csoport koncentrációja ellentétes irányú változásokat mutatott. A gyógyszeres kezelés a máj és a plazma nem-enzimatikus védelmi rendszerének állapotát az egészséges állatokban tapasztalt értékekhez közelítette étrendi eredetű zsírmájban. A diozmin-heszperidin tartalmú gyógyszer szignifikáns hatást, a vizsgált bélszakaszok közül, csak a colonban tudott kifejteni. A gyógyszer minden esetben normalizálta az elemkoncentrációkat. A citrus flavonoidok az alkalmazott dózisban és időtartamban nem gyakoroltak szignifikáns befolyást az FMO1- és a P450-enzimekre.

27. ábra: Párhuzamos diozmin-heszperidin-kezelés hatása a máj szöveti képére



5.3.3. NAGYDÓZISÚ DIOZMIN-HESZPERIDIN-KEZELÉS HATÁSA A SZÖVETI REDOX-STÁTUSZRA REGENERÁLÓDÓ ZSÍRMÁJBAN

A nem-alkoholeredetű zsírmájbetegség nem jár feltétlenül a máj alapvető funkcióinak irreverzibilis károsodásával. Ha a betegséget kiváltó ok megszűnik, akkor a máj fokozatosan leadja triglicerid-tartalmát, és a normál állapot tér vissza (67). A májsejtpusztulás – regenerálódás megromlott egyensúlya helyreáll. A szervezet egyensúlyra törekvését azonban bármely kívülről bejutatott vegyület képes megzavarni, mely a betegség stagnálásához vagy progressziójához vezethet.

Meyer tanulmányában a diozmin-heszperidin keverék gyógyszerbiztonsági jellemzőit vizsgálva arra jutott, hogy a terápiás dózis 180-szorosa orálisan vagy peritoneálisan adva Wistar és Sprague-Dawley patkányoknak, valamint Swiss egereknek nem okoz elhullást vagy toxicitást. Az orális LD₅₀ dózis több mint 3000 mg/ttkg-nak bizonyult egereken és patkányokon (141). Labrid és munkatársai is hasonló eredményre jutottak, akik a keverék hosszú időtartalmú alkalmazásának hatását vizsgálták. Wistar patkányoknak 13 héten át, macaco majmoknak 26 héten keresztül adták a terápiás dózis 35-szörösét, amely nem idézett elő toxikus tüneteket az állatokban (121). Az utóbbi évek vizsgálatai egyre nagyobb figyelmet szentelnek az antioxidáns vegyületek prooxidáns hatásának is, melyet elsősorban nagy dózisban alkalmazva figyeltek meg. A nagy dózisú antioxidáns kezelés antagonistát hatást fejthet ki, a sejtek védekező rendszerét gyengítheti, illetve bizonyos körülmények között patológias folyamatokat indíthat el. A flavonoidok mutagén és karcinogén hatása mögött azok prooxidáns tulajdonságát feltételezik (32, 80, 91). Számos *in vitro* tanulmány számol be a polifenolos vegyületek prooxidáns viselkedéséről, azonban kevés *in vivo* bizonyítékot találunk erre a hatásra. További kísérleteinket e téma vizsgálatának szenteltük.

Az előkísérletek során olyan dózist kerestünk, amely már értékelhető negatív eltérést idéz elő/prooxidáns hatást fejt ki a vizsgált szövetek redoxi paramétereiben eltérő eredetű májkárosodásban, és legközelebb áll a terápiás dózishoz. Ez a dózis jelentette a terápiás dózis 7-szeresét (425 mg/ttkg). Kísérletünknek három célja volt: I. tanulmányoztuk a nagy dózisú diozmin-heszperidin hatását egészséges szervezet szöveti redox-homeosztázisára; II. vizsgáltuk a nagy dózisú diozmin-heszperidin hatását a regenerálódó zsírmájra; III. kíváncsiak voltunk van-e különbség a nagy dózisú diozmin-

heszperid elő- és utókezelés között. A gyógyszert ezúttal tápba keverve adtuk az állatoknak, amit ad libitum fogyasztottak. A vizsgálatokhoz hím Wistar albino patkányokat (170-190 g) használtunk.

Az **1. csoport**ba tartozó állatok standard tápot és ivóvizet kaptak négy (n = 3), illetve hat héten (n = 4) keresztül. A négy és a hat hétig tartott kontrollállatok különböző paraméterei nem tértek el jelentősen, az ábrákon és táblázatokban egységes kontrollként kerültek feltüntetésre.

A **2. csoport** (n = 7) két hétig standard tápot, majd négy hétig gyógyszerrel kiegészített tápot (5 g Detralex/kg táp) kapott.

A **3. csoport** (n = 7) két hétig standard tápot, majd két hétig 2% koleszterinnel, 20% napraforgóolajjal és 0,5% kólsavval kiegészített tápot (zsírdús tápot) kapott.

A **4. csoportot** (n = 7) két hétig standard táppal, két hétig zsírdús táppal, ezután két hétig gyógyszerrel kiegészített táppal kezeltük.

Az **5. csoport** (n = 7) két hétig standard táppal, két hétig zsírdús táppal, majd ismét két hétig standard táppal volt etetve.

A **6. csoport** (n = 7) két hétig gyógyszeres tápot, két hétig zsírdús tápot, két hétig ismét gyógyszerrel kiegészített tápot kapott.

A kezelés sémája:

<u>Csoportok</u>	<u>Kezelések</u>		
1. csoport	Standard táp	Standard táp	
2. csoport	Standard táp	5 g Detralex / kg standard táp	
3. csoport	Standard táp	Zsírdús táp *	
4. csoport	Standard táp	Zsírdús táp	5 g Detralex / kg standard táp
5. csoport	Standard táp	Zsírdús táp	Standard táp
6. csoport	5 g Detralex/kg standard táp	Zsírdús táp	5 g Detralex / kg standard táp
	2 hét	2 hét	2 hét

*zsírdús táp: 2% koleszterinnel, 20% napraforgóolajjal és 0,5% kólsavval kiegészített standard táp

5.3.3.1. Diozmin-heszperidin elő- és utókezelés hatása a szérumparáméterekre regenerálódó zsírmájban

Az eredményeket a 27. táblázat szemlélteti. Kísérletünkben az AST-, ALT-aktivitás növekedését tapasztaltuk a nagy dózisú diozmin-heszperidin utókezelésben (4. csoport), illetve az elő- és utókezelésben egyaránt részesülő állatok (6. csoport) szérumában a zsírdús táppal etetett (3. csoport) és a regenerációs periódusban csak standard tápot fogyasztó csoporthoz, spontán regenerálódó zsírmáj-csoport (5. csoport) képest. A zsírdús diéta hatására megváltozott lipidparaméterek a regenerációs periódusban minden csoportban normalizálódtak. Zsírdús táp hatására a szérumhúgysav-szint nem szignifikáns csökkenést mutatott, mely a regeneráció alatt a csak standard tápot fogyasztó állatokban (5. csoport) a kontrollértékhez közelített. A 4. és 6. csoportban az egészséges állatokban mért érték 3-4-szeresét meghaladó húgysav-koncentrációkat detektáltunk.

27. táblázat: Enzim- és metabolitkoncentráció-meghatározások (átlag \pm SD)

	1. csoport	2. csoport	3. csoport	4. csoport	5. csoport	6. csoport
AST (U/l)	112 \pm 7,00	122,3 \pm 10,94	116,7 \pm 2,08	280 \pm 21,41 [#]	121,3 \pm 4,27 ^{&,\$}	212,8 \pm 31,33 [#]
ALT (U/l)	41,0 \pm 3,92	41,83 \pm 7,94	40 \pm 16,64	52,8 \pm 8,58	39,83 \pm 3,71 ^{&}	47,4 \pm 10,8
ALP (U/l)	599,3 \pm 39,2	734,0 \pm 154,9	1597 \pm 173,2 [*]	1124 \pm 342,5	812 \pm 95,3	1000,4 \pm 196,5
CHOL (mmol/l)	1,25 \pm 0,20	1,33 \pm 0,09	8,69 \pm 1,80 [*]	2,22 \pm 0,23 [#]	1,57 \pm 0,13 ^{#, &,\$}	2,37 \pm 0,19 [#]
TG (mmol/l)	1,16 \pm 0,40	0,86 \pm 0,17	0,53 \pm 0,38	1,10 \pm 0,35	1,18 \pm 0,43	1,08 \pm 0,41
GLUC (mmol/l)	6,88 \pm 0,51	5,82 \pm 0,89	7,56 \pm 0,88	6,55 \pm 1,04	6,25 \pm 0,24 ^{#, \$}	6,93 \pm 0,66
U.A. (mmol/l)	26,4 \pm 10,99	23,67 \pm 5,89	16,33 \pm 13,58	86,0 \pm 21,79 [#]	22,17 \pm 6,11 ^{&,\$}	61,2 \pm 19,37 [#]
T.P. (g/l)	53,6 \pm 4,88	46,67 \pm 6,12	55,33 \pm 3,21	57,6 \pm 2,79	58 \pm 3,52	60 \pm 2,12 [#]
ALB (g/l)	31,4 \pm 2,70	27,67 \pm 3,08	35 \pm 3,61	27,4 \pm 2,41 [#]	34 \pm 2,97 ^{&,\$}	28,8 \pm 2,17 [#]

n = 40; * szign. vs 1. csoport; # szign. vs 3. csoport; & szign. vs 4. csoport; \$ szign. vs 6. csoport, p < 0,05

Az összfehérje mennyisége nem változott a beteg állatok szérumában, azonban szignifikáns emelkedést mutatott a gyógyszeres elő- és utókezelésben egyaránt részesülő csoportban. Ezzel szemben az albumin szintje, a 4. és 6. csoportban jelentősen csökkent, mind a zsírmájban, mind pedig az 5. csoportban mértékhez képest. Az albumin és a húgysav a plazma endogén antioxidánsai közé tartoznak, ezek

koncentrációjában beálló változások befolyásolják annak szabad gyökökkel szembeni védekezőképességét.

A glükóz szintjében egyik csoport esetében sem tapasztaltunk eltérést. A standard tápon tartott állatokban a nagy dózisban adott citrus flavonoidok nem okoztak szignifikáns változást (2. csoport).

Az 1. és a 3. csoportba tartozó állatok vérképében szignifikáns eltéréseket nem észleltünk. A nagy dózisú diozmin-heszperidin elő- és utókezelés az RBC, HCT, HGB mennyiségének szignifikáns csökkenését okozta a spontán regenerálódó zsírmáj-csoporthoz képest (28. táblázat). Az RBC-, HCT-, HGB-koncentrációk nagyfokú csökkenése haemoliticus anaemia kialakulására utalt, melyet a plazma fémelem-analízise megerősített. Az elemanalízis a plazma szignifikáns vaskoncentrációjának növekedését mutatta. Galati és munkatársai tanulmányukban számos étrendi-eredetű flavonoid pookidáns hatását hasonlította össze patkány hepatocytában és vörösvértestben. Azt tapasztalták, hogy a flavonoidokkal való inkubáció a hepatocytában az aszkorbinsav oxidációját, míg a vörösvértestben a hemoglobin oxidációját és hemolízisét okozta (73).

28. táblázat: Diozmin-heszperidin elő- és utókezelés hatása a vérképre (átlag \pm SD)

	1. csoport	2. csoport	3. csoport	4. csoport	5. csoport	6. csoport
WBC $\times 10^3/\mu\text{l}$	4,42 \pm 1,32	5,16 \pm 1,12	4,77 \pm 0,31	4,15 \pm 0,61	4,15 \pm 1,4	3,25 \pm 0,88 [#]
RBC $\times 10^6/\mu\text{l}$	5,23 \pm 0,30	5,22 \pm 0,52	5,35 \pm 0,10	4,12 \pm 0,41 [#]	5,35 \pm 0,74 ^{&,\$}	4,05 \pm 0,32 [#]
HCT (%)	33,12 \pm 1,34	32,96 \pm 3,27	33,7 \pm 0,3	25,9 \pm 2,1 [#]	33,28 \pm 3,96 ^{&,\$}	25,75 \pm 2,01 [#]
HGB g/dl	10,84 \pm 0,34	10,78 \pm 1,27	10,53 \pm 0,47	8,05 \pm 0,7 [#]	10,77 \pm 1,28 ^{&,\$}	8,07 \pm 0,52 [#]
MCV fl	63,34 \pm 2,05	63,18 \pm 1,39	63,03 \pm 1,19	62,98 \pm 1,14	62,45 \pm 1,7	63,67 \pm 0,88

n = 40; átlag \pm SD; * szign. vs 1. csoport; # szign. vs 3. csoport; & szign. vs 4. csoport;
\$ szign. vs 6. csoport, p < 0,05

5.3.3.2. Diozmin-heszperidin elő- és utókezelés hatása a szöveti antioxidáns státuszra regenerálódó zsírmájban

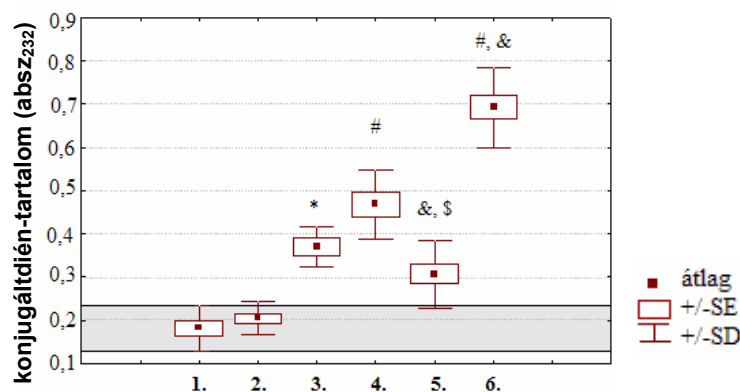
A 14 napos heszperidin-diozmin elő- és utókezelés, valamint a zsírdús diéta nem okozott változást a testtömegben. A májtömeg vizsgálatakor sem találtunk szignifikáns különbséget a csoportok között. A májtömeg/testtömeg arány azonban jelezte a beteg állatokban a májhipertrófiát, mely a regeneráció alatt a 4., 5., 6. csoportban a kontrollhoz közelített (29. táblázat).

29. táblázat: Diozmin-heszperidin elő- és utókezelés hatása testtömeg, májtömeg, és a májtömeg/testtömeg arányra zsírmájban (átlag ± SD)

	Testtömeg (g)	Májtömeg (g)	Májtömeg/testtömeg (g/g)
1. csoport	277,6 ± 20,39	9,76 ± 1,20	0,035 ± 0,002
2. csoport	262,5 ± 7,87	8,93 ± 0,87	0,034 ± 0,003
3. csoport	279,3 ± 33,56	12,47 ± 3,33	0,044 ± 0,007*
4. csoport	243,4 ± 38,08	9,86 ± 1,52	0,040 ± 0,001
5. csoport	297,5 ± 19,09 ^{&}	11,28 ± 1,64	0,038 ± 0,003
6. csoport	258,0 ± 18,17	10,82 ± 0,85	0,040 ± 0,002

n = 40; * szign. vs 1. csoport; & szign. vs 4. csoport, p < 0,05

28. ábra: Diozmin-heszperidin elő- és utókezelés hatása máj konjugáltdién-tartalmára regenerálódó zsírmájban



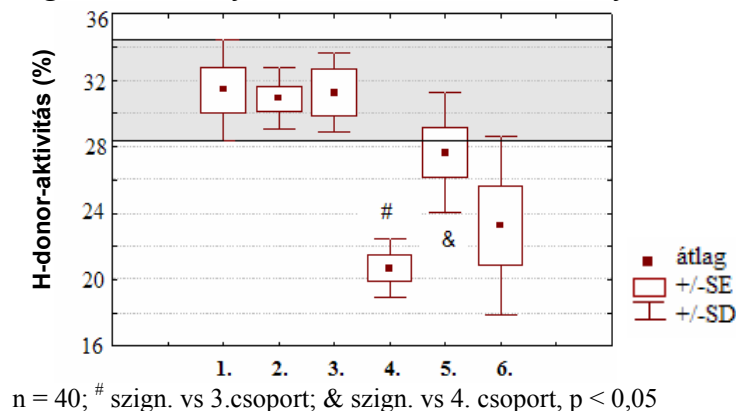
n = 40; *szign. vs 1. csoport; # szign. vs 3. csoport; & szign. vs 4.csoport; \$ szign. vs 6. csoport, p < 0,05

A májhomogenizátumok konjugáltdién-tartalma szignifikánsan megemelkedett a 3. csoportban, azonban ezt az emelkedést is meghaladta a 4. és 6. csoportban megfigyelt diénkonjugátum-koncentráció. A 5. csoportban kedvezőbb hatást tapasztaltunk, mert a

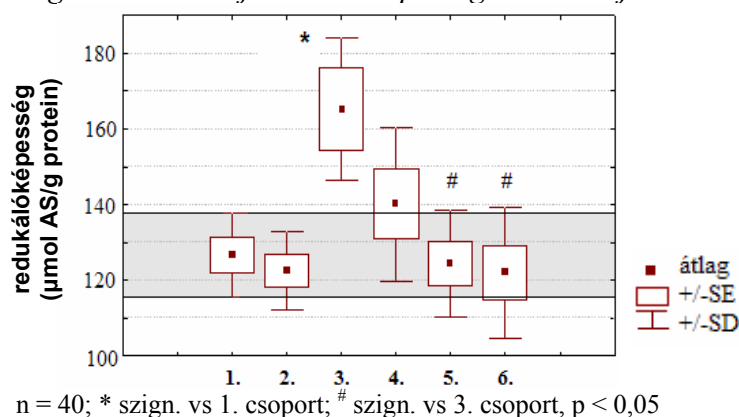
standard tápot önmagában alkalmazva, a spontán regenerálódó csoportban a zsírmájban tapasztalt értékek nem szignifikánsan csökkentek (28. ábra).

A 2. és 3. csoport H-donor aktivitása nem változott a kontrollhoz viszonyítva, azonban a 4., 5. és 6. csoportba tartozó állatok májhomogenizátumában csökkenést tapasztaltunk a 3. csoporthoz képest, mely a 4. és a 6. csoport esetében volt szignifikáns (29. ábra). A máj redukálóképessége jelentős emelkedést mutatott a 3. csoportban, ennek csökkenését figyeltük meg a 4., 5. és 6. csoportban, utóbbi kettőnél volt szignifikáns a változás (30. ábra).

29. ábra: Diozmin-heszperidin elő- és utókezelés hatása a regenerálódó máj H-donor aktivitására zsírmájban

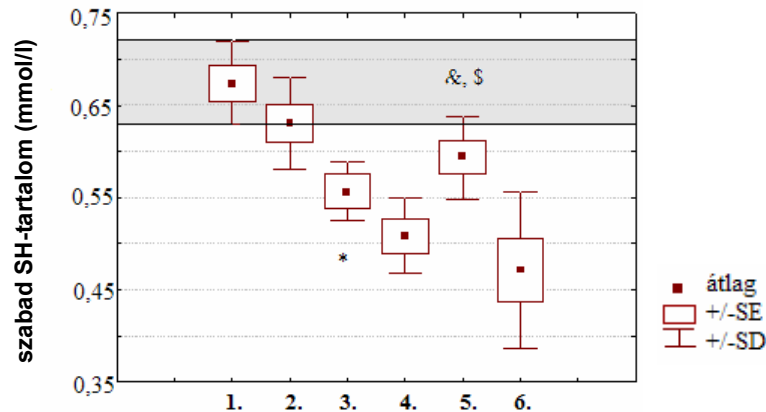


30. ábra: Diozmin-heszperidin elő- és utókezelés hatása a regenerálódó máj redukálóképességére zsírmájban



A nagy dózisú diozmin-heszperidin elő- és utókezelés a szabad SH-csoport koncentrációt kedvezőtlenül befolyásolta a zsírmáj regenerációs periódusában alkalmazva (31. ábra).

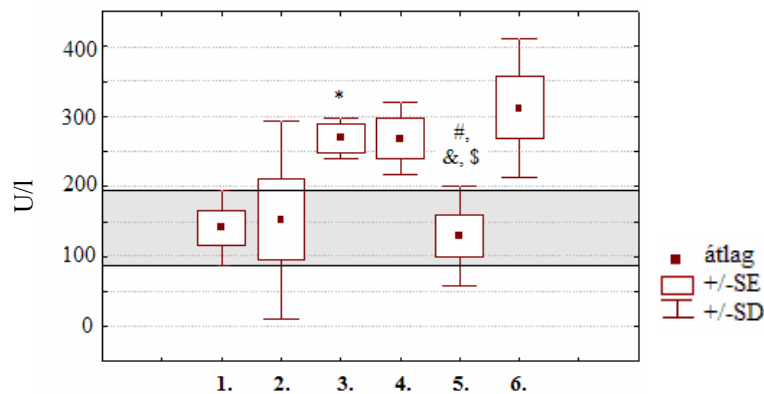
31. ábra: Diozmin-heszperidin elő- és utókezelés hatása a regenerálódó máj szabad SH-tartalmára zsírmájban



n = 40; *szign. vs 1. csoport; & szign. vs 4. csoport; \$ szign. vs 6. csoport, p < 0,05

A 3. csoportban tapasztalt, a kontrolltól szignifikánsan eltérő GSH-Px-aktivitást a gyógyszeres kezelés nem befolyásolta, míg a gyógyszerrel nem kezelt spontán regenerálódó csoportban az enzim aktivitása normalizálódott (32. ábra).

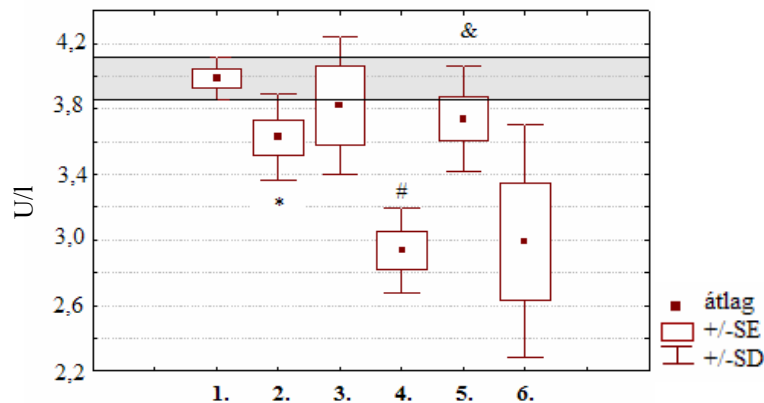
32. ábra: Diozmin-heszperidin elő- és utókezelés hatása a regenerálódó máj glutation-peroxidáz aktivitására zsírmájban



n = 40; * szign. vs 1. csoport; # szign. vs 3. csoport; & szign. vs 4. csoport; \$ szign. vs 6. csoport, p < 0,05

A SOD tekintetében a normál értékhez viszonyítva minden csoportban csökkenést tapasztaltunk, azonban az enzimaktivásra kifejtett csökkentő hatás a 4. és a 6. csoport állataiban volt a legkifejezettebb (33. ábra).

33. ábra: Diozmin-heszperidin elő- és utókezelés hatása a regenerálódó máj szuperoxid-dizmutáz aktivitására zsírmájban



n = 40; * szign. vs 1. csoport; # szign. vs 3. csoport; & szign. vs 4. csoport, p < 0,05

A regenerációs periódusban alkalmazott, tápba kevert diozmin-heszperidin utókezelésben részesült állatok (4. csoport) plazma H-donor aktivitása és szabadgyökfogó-kapacitása volt a legnagyobb az összes csoport közül. A csoportok közötti eltérések egyik esetben sem voltak szignifikánsak. A 4. és a 6. csoport plazmájának redukálóképessége szignifikánsan nagyobb volt a 3. csoporthoz viszonyítva és jelentősen meghaladta a kontrollcsoport értékeit is. A regenerációs fázisban a csak standard táppal etetett állatok (5. csoport) plazmájának redukálóképessége mérsékelt, nem szignifikáns emelkedést mutatott a 3. csoporthoz képest (30. táblázat).

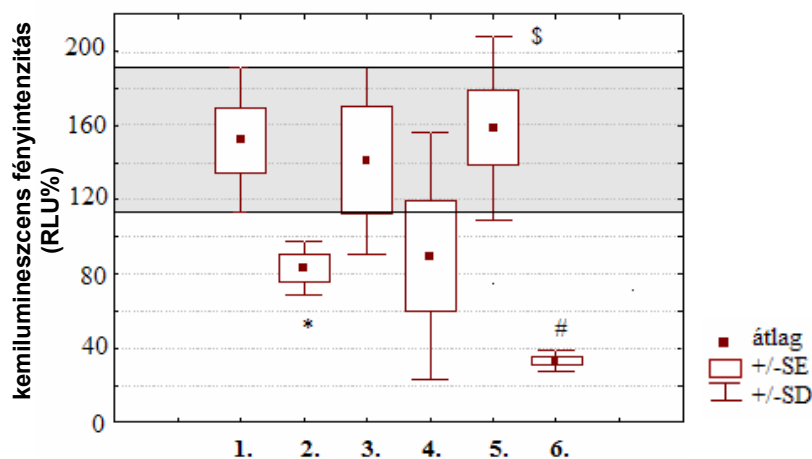
30. táblázat: Diozmin-heszperidin elő- és utókezelés hatása a plazma redukálóképességére, H-donor aktivitására, szabadgyökfogó-kapacitására

	1. csoport	2. csoport	3. csoport	4. csoport	5. csoport	6. csoport
Redukálóképesség ($\mu\text{mol AS/g protein}$)	0,083 \pm 0,016	0,069 \pm 0,012	0,077 \pm 0,013	0,276 [#] \pm 0,040	0,095 ^{&,\$} \pm 0,013	0,258 [#] \pm 0,033
H-donor aktivitás (gátlás %)	25,80 \pm 2,950	24,17 \pm 4,622	23,50 \pm 3,536	32,20 \pm 6,534	28,17 \pm 3,125	26,20 \pm 3,701
Szabadgyökfogó-kapacitás (RLU%)	15,34 \pm 9,658	18,77 \pm 9,162	12,77 \pm 2,318	8,093 \pm 2,708	13,17 \pm 7,335	19,95 \pm 9,566

n = 40; # szign. vs 3. csoport; & szign. vs 4. csoport; \$ szign. vs 6. csoport, p < 0,05

A vörösvértetek kemilumineszcens fényintenzitása a 3. és 4. csoportban nem változott szignifikánsan egymáshoz, valamint a kontrollhoz képest. A gyógyszerrel kezelt csoportokban azonban jelentősen csökkent, mely a vörösvértetek szabadgyökfogó-kapacitásának növekedését jelezte (34. ábra).

34. ábra: Diozmin-heszperidin elő- és utókezelés hatása a vörösvértet szabadgyökfogó-kapacitására zsírmájban



n = 40; * szign. vs 1. csoport; # szign. vs 3. csoport; \$ szign. vs 6. csoport, p < 0,05

5.3.3.3. Diozmin-heszperidin elő- és utókezelés hatása a máj és a plazma elemtartalmára regenerálódó zsírmájban

A zsírdús diétán tartott állatok májában a réz kivételével, valamennyi fém koncentrációja csökkent a kontrollállatokban mért értékekhez képest. Ezek közül szignifikáns változást csak a vastartalom esetében mértünk. A 4., 5. és 6. csoportban a lecsökkent elemtartalmak a kontrollhoz közeledtek (31. táblázat). A gyógyszeres kezelés a 2. csoportban szignifikánsan növelte a máj foszfortartalmát.

A 3. csoport plazmamintáiban csak a réz- és a vastartalomban figyeltünk meg szignifikáns eltérést a kontrollhoz képest. Ebben az esetben jelentős emelkedést tapasztaltunk a két fém koncentrációjában. A zsírdús diéta elhagyásával a réz plazmában mért mennyisége nem szignifikánsan csökkent a 4., 5. és 6. csoportban. A vastartalom további jelentős emelkedést mutatott a gyógyszeres kezelés hatására, míg az 5. csoportban normalizálódott. A 4. és 6. csoportban a plazma magnézium koncentrációja növekedett, míg az 5. csoportban csökkent a 3. csoportban mérthez képest (32. táblázat).

31. táblázat: Diozmin-heszperidin elő- és utókezelés hatása a máj ásványi elemtartalmára zsírmájban ($\mu\text{g/g}$ nedves szövet, átlag \pm SD, $n=5$)

elemek	1. csoport	2. csoport	3. csoport	4. csoport	5. csoport	6. csoport
Cu	2,09 \pm 0,10	2,14 \pm 0,03	1,99 \pm 0,33	2,20 \pm 0,22	2,35 \pm 0,22	2,0 \pm 0,18
Fe	159,0 \pm 24,04	136,7 \pm 1,53	81,0 \pm 1,41*	99,0 \pm 1,41 [#]	135 \pm 42,43	87,5 \pm 6,36
Mg	109,5 \pm 2,12	108,0 \pm 1,01	89,5 \pm 13,44	106,0 \pm 11,31	112,5 \pm 4,95	96,5 \pm 9,19
Mn	1,26 \pm 0,11	1,19 \pm 0,02	0,97 \pm 0,32	1,25 \pm 0,01	1,64 \pm 0,73	1,16 \pm 0,06
P	2005 \pm 40,31	2127 \pm 21,78*	1785 \pm 294	2223 \pm 127,3	2204 \pm 1,41	2043 \pm 187,4
S	1277 \pm 17,68	1288 \pm 13,43	1050 \pm 192,3	1326 \pm 39,60	1357 \pm 34,65	1234 \pm 109,6
Zn	16,5 \pm 0,71	15,0 \pm 1,00	13,0 \pm 1,41	14,0 \pm 1,41	16,00 \pm 1,42	13,5 \pm 0,71

$n = 40$; * szign. vs 1. csoport; [#] szign. vs 3. csoport; & szign. vs 4. csoport, $p < 0,05$

32. táblázat: Diozmin-heszperidin elő- és utókezelés hatása a plazma ásványi elemtartalmára zsírmájban ($\mu\text{g/g}$, átlag \pm SD, $n=5$)

elemek	1. csoport	2. csoport	3. csoport	4. csoport	5. csoport	6. csoport
Cu	1,18 \pm 0,12	1,07 \pm 0,25	1,48 \pm 0,03*	1,35 \pm 0,07	1,33 \pm 0,18	1,31 \pm 0,25
Fe	2,78 \pm 0,16	3,54 \pm 0,05*	4,11 \pm 0,12*	10,32 \pm 0,21 [#]	2,71 \pm 0,12 ^{#,&}	6,78 \pm 0,61 ^{#,&}
Mg	19,80 \pm 0,54	20,92 \pm 3,18	20,43 \pm 1,31	24,14 \pm 0,46 [#]	13,43 \pm 11,39 ^{#,&}	25,63 \pm 5,36
Mn	0,01 \pm 0,005	0,01 \pm 0,006	0,022 \pm 0,006	0,009 \pm 0,003	0,006 \pm 0,0003	0,006 \pm 0,003
P	148,9 \pm 157,3	147,7 \pm 25,91	163,4 \pm 37,91	201 \pm 25,38	152,6 \pm 10,11	210,5 \pm 32,21
S	918,8 \pm 49,47	845,2 \pm 34,48*	1041 \pm 26,54	1562 \pm 21,20	976,1 \pm 20,92	1645 \pm 157,8
Zn	1,16 \pm 0,09	0,97 \pm 0,05*	1,03 \pm 0,07	1,20 \pm 0,03	1,11 \pm 0,04	1,43 \pm 0,06

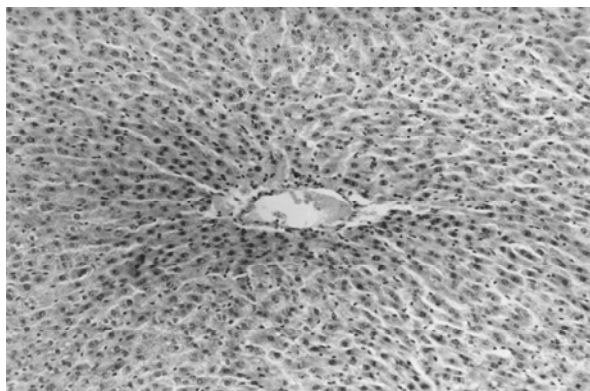
$n = 40$; * szign. vs 1. csoport; [#] szign. vs 3. csoport; & szign. vs 4. csoport, $p < 0,05$

5.3.3.4. Diozmin-heszperidin elő- és utókezelés hatása a regenerálódó máj szöveti képére

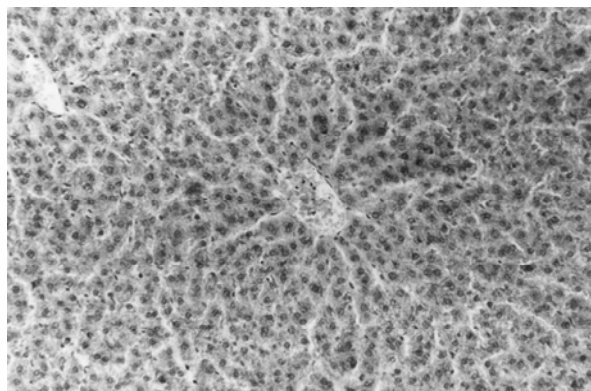
A standard diétát fogyasztó állatok szövetszövetmintáihoz hasonlítva a zsírdús diéta hatása jól megfigyelhető. A zsírdús diéta hatására kialakuló jellegzetes elváltozások a májszövetben (lipidvakuolumok, nekrozis a sejtekben) a diozmin-heszperidinnel utókezelt csoportban is tapasztalhatók, ám az elváltozások kisebb mértékűek voltak. A nekrotikus sejtek száma csökkent, azonban lymphocytás beszűrődések is megfigyelhetők voltak. A gyógyszeres elő- és utókezelésben egyaránt részesült állatok májszöveti képe a regeneráció periódusában szintén javult a zsírmájhoz képest, azonban ballonszerű hepatocytákat is megfigyeltünk ép sejthatárokkal. A regenerációs periódusban gyógyszerrel nem kezelt csoportban a hisztológiai vizsgálat a kontrollhoz hasonló képet mutatott. A standard diéta mellett adagolt diozmin-heszperidin hatására a

májszövetben nem láthatók jelentős változások, a sejtek alakjukat, szerkezetüket megtartották (35. ábra).

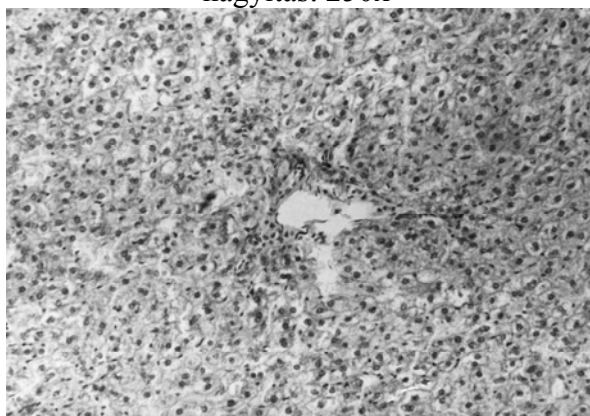
35. ábra: Diozmin-heszperidin elő- és utókezelés hatása a máj szöveti képére



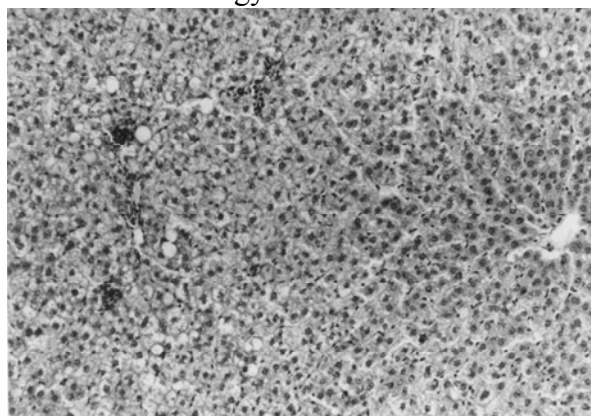
standard táp
nagyítás: 250x



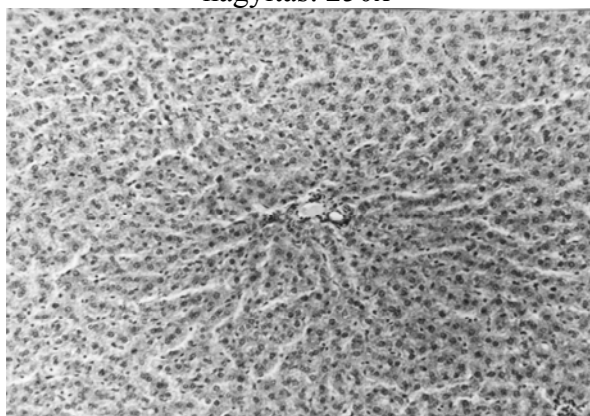
standard táp + diozmin-heszperidin-kezelés
nagyítás: 250x



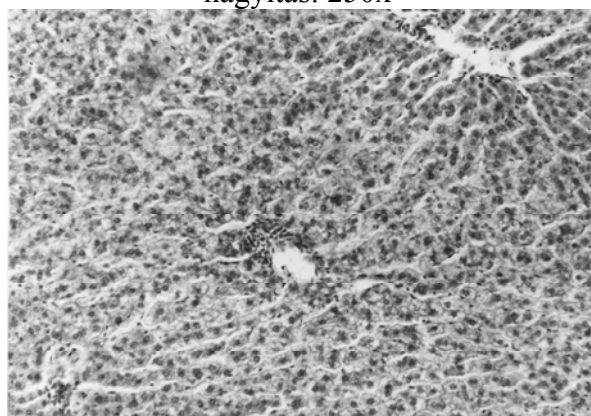
zsírdús táp
nagyítás: 250x



zsírdús táp + diozmin-heszperidin utókezelés
nagyítás: 250x



zsírdús táp + diozmin-heszperidin nélküli
utókezelés
nagyítás: 250x



zsírdús táp + diozmin-heszperidin elő- és
utókezelés
nagyítás: 250x

Összefoglalva eredményeinket elmondható, hogy a standard diéta mellett adagolt nagy dózisú diozmin-heszperidin a májban, a plazmában és a vörösvértestben is okozott szignifikáns eltéréseket az egyes vizsgált redoxi paraméterekben. A nagy dózisú elő- és utókezelések számos szöveti redoxi paramétert kedvezőtlen irányba befolyásoltak a zsírmáj regenerációs periódusában. Az elő- és utókezelésben egyaránt részesült állatok májában jelentősen nagyobb konjugáltdién-koncentrációt detektáltunk, mint a csak utókezelt csoportban, azonban a többi vizsgált paraméterben hasonló eltérést okoztak.

5.3.4. NAGYDÓZISÚ DIOZMIN-HESZPERIDIN-KEZELÉS HATÁSA TIOACETAMID-INDUKÁLT MÁJKÁROSODÁSRA

A tioacetamidot (TAA) széleskörűen használja a bőr-, textil- és papíripar, valamint a gyógyszeranalitika (83, 199, 211). Ezeken a területeken dolgozók folyamatosan kitéttek a hepatotoxikus vegyszer káros hatásainak, mely a bőrön, a nyálkahártyán és a légutakon keresztül könnyen bekerülhet a szervezetbe. A TAA hepatotoxicitásáért, a tioacetamid-S-oxidból származó aktív, viszonylag stabil metabolitok a felelősek, melyek a TAA monooxigenázok általi oxidációjakor keletkeznek (100, 221). A tanulmányok többsége a TAA által előidézett májkárosodás etiológiájában az oxidatív stressz szerepét mutatta ki patkányban és sejt kultúrákban. Ezek alapján a TAA fokozta a lipidperoxidációt, változást idézett elő az alacsony molekulatömegű és az enzimatis antioxidáns védelemben. Különböző antioxidáns kezelés (dimetilszulfoxid, N-acetilcisztein, aminoguanidin, rozmarin alkoholos kivonata, silymarin) protektív hatást mutatott tioacetamid-indukálta májkárosodásban (2, 25, 57, 75). Azonban a tioacetamid károsodás oxidatív stressz elméletét nem minden tanulmány tudta megerősíteni (235).

Kísérletünk célja volt a TAA (500 mg/l ivóvíz) hatását vizsgálni a máj, plazma és vörösvértest redox-homeosztázisára 1 hónapos használatát követően. Továbbá vizsgáltuk a nagy dózisú diozmin-heszperidin tartalmú gyógyszer (425 mg/ttkg) befolyását ebben a rendszerben a szöveti redox-homeosztázisra, a máj drog-metabolizáló enzimrendszerére, különböző szövetek elemtartalmára.

A vizsgálatokhoz nőstény Wistar albino patkányokat (160-180 g) használtunk. Az állatok mind a standard tápot, mind a gyógyszeres tápot ad libitum fogyasztották. A

kontrollcsoport (**K**; n=5) és a tioacetamiddal (500 mg TAA / l ivóvíz) kezelt csoport (**T**; n=5) mellett a **KD**-csoportba (n=5) tartoztak azok az állatok, melyek standard tápba kevert gyógyszert kaptak (5 g Detralex/kg táp); a **TD**-csoportban pedig a gyógyszerrel és TAA-val párhuzamosan kezelt állatok voltak (n=5). A kezelés 30 napon keresztül tartott.

5.3.4.1. Diozmin-heszperidin-kezelés hatása a vér különböző paramétereire tioacetamid-indukált májkárosodásban

A májműködésre jellemző enzimek közül csak az ALT vonatkozásában tapasztaltunk szignifikáns különbséget a T-csoport és a kontrollcsoport között, ez az érték azonban nem növekedést, hanem enzimaktivitás-csökkenést jelzett. Az AST aktivitás-fokozódás nem volt szignifikáns, és az ALP-szintje sem változott a tioacetamid-ítatás hatására. A gyógyszer mindhárom enzim aktivitását nem szignifikánsan csökkentette a kezelt csoportokban. A szérumban a koleszterin-, triglicerid-, glükóz-, húgysav-, összfehérje- és albumin-szintje csökkent értékeket mutatott a T-csoportban a kontrollhoz képest, mely értékekre a diozmin-heszperidin-kezelés nem volt hatással. A KD-csoportban csak a szérumban a glükóz-koncentráció volt jelentősen kisebb a kontrollcsoportban mérthez viszonyítva (33. táblázat).

33. táblázat: Enzim- és metabolit meghatározások (átlag ± SD)

	K	KD	T	TD
AST (U/L)	107,7 ± 17,01	100,5 ± 6,18	134,2 ± 23,13	113 ± 14,9
ALT (U/l)	43,6 ± 6,73	41,83 ± 7,94	33,6 ± 5,68*	30,5 ± 6,62
ALP (U/l)	230,2 ± 77,88	200,9 ± 41,82	232,8 ± 84,11	182,8 ± 47,74
CHOL (mmol/l)	1,25 ± 0,20	1,33 ± 0,09	0,99 ± 0,30	0,85 ± 0,13
TG (mmol/l)	1,16 ± 0,40	0,86 ± 0,17	0,40 ± 0,08*	0,48 ± 0,18
GLUC (mmol/l)	6,88 ± 0,51	5,82 ± 0,89	5,64 ± 0,63	5,26 ± 1,09
U.A. (mmol/l)	26,4 ± 10,99	23,67 ± 5,89	19,8 ± 3,03	25,4 ± 12,36
T.P. (g/l)	53,6 ± 4,88	46,67 ± 6,12	43,2 ± 4,49*	41,67 ± 1,21
ALB (g/l)	31,4 ± 2,70	27,67 ± 3,08	27,8 ± 2,49	26,5 ± 0,84

n = 20; *szign. vs K, p < 0,05

A máj központi szerve a szénhidrát-, lipid-, fehérje- és aminosav-anyagcserének, ezt a feladatát nem tudja ellátni májkárosodás esetén. A TAA károsító hatása a májfunkciók jelentős romlásában nyilvánult meg. A legtöbb szerző egyetért abban, hogy a TAA által előidézett cirrhosis patológiai jellegzetességei számos aspektusában hasonlítanak az alkohol-okozta májbetegségekre (34, 239). A TAA megváltoztatja a lipoprotein metabolizmust (238), a hosszú szénláncú telítetlen zsírsavak szintézisét, a májsejt lizoszómáinak lipid-karakterisztikáját (161), továbbá kedvezőtlenül befolyásolja az urea-ciklust (34) és az ornitin-aminotranszferáz-aktivitást, mely súlyos változásokat idéz elő a szérum aminosav-profiljában cirrhoticus patkányban (187).

A TAA-val kezelt csoportban az RBC, a HGB és HCT markáns csökkenését figyeltük meg, melyet a citrus flavonoidok javítottak, a kontrollhoz közelítettek, bár a változások nem voltak szignifikánsak. Az MCV értéke szintén alacsonyabbnak bizonyult a T-csoportban, melyet a gyógyszer tovább csökkentett, de egyik hatás sem érte el a matematikailag szignifikáns szintet. Az eredményeket a 34. táblázatban tüntettem fel. A TAA hemolízist okozó hatására utalhat, hogy a plazma vaskoncentrációja is szignifikánsan megnőtt, melyet a flavonoid-kezelés normalizált (lásd. 39. táblázat).

34. táblázat: Diozmin-heszperidin-kezelés hatása a vérképre tioacetamid-indukált májkárosodásban (átlag \pm SD)

	K	KD	T	TD
WBC ($\times 10^3/\mu\text{l}$)	4,42 \pm 1,32	5,16 \pm 1,12	6,9 \pm 2,16	7,27 \pm 4,01
RBC ($\times 10^6/\mu\text{l}$)	5,23 \pm 0,30	5,22 \pm 0,52	4,72 \pm 0,39*	4,96 \pm 0,46
HCT (%)	33,12 \pm 1,34	32,96 \pm 3,27	28,62 \pm 2,14*	29,62 \pm 3,17
HGB (g/dl)	10,84 \pm 0,34	10,78 \pm 1,27	8,92 \pm 0,48*	9,45 \pm 0,84
MCV (fl)	63,34 \pm 2,05	63,18 \pm 1,39	60,72 \pm 2,45	59,58 \pm 0,93

n = 20; * szign. vs K, p < 0,05

A vér-viszkozitás TAA hatására jelentős csökkenést mutatott a T-csoportban a kontrollhoz (3,76 \pm 0,47 vs. 5,52 \pm 0,31 mPa/s; p < 0,05) képest. A KD- (5,47 \pm 0,33 mPa/s) és a TD-csoportban (3,96 \pm 0,54 mPa/s) a diozmin-heszperidin-kezelés hatására szignifikáns változásokat nem észleltünk (nincs ábrázolva).

5.3.4.2. Diozmin-heszperidin-kezelés hatása a szöveti antioxidáns státuszra tioacetamid-indukált májkárosodásban

A TAA-kezelt állatok súlygyarapodása szignifikánsan elmaradt az egészséges állatokéhoz képest. A csecsemőmirigy tömege a vegyszerrel kezelt állatokban rendkívül kicsinek bizonyult, melyre a diozmin-heszperidin gyógyszer nem volt hatással. Vadi és munkatársai korábban kimutatták, hogy a tioacetamid-S-oxid és további reaktív metabolitjai kovalensen kötődnek borjú csecsemőmirigy DNS-éhez (221). További jelentős eltérést figyeltünk meg a csecsemőmirigy- és a májtömeg testtömeghez viszonyított arányában a K- és a T-csoport között. A csecsemőmirigy/testtömeg arány esetében szignifikáns csökkenést, míg a májtömeg/testtömegben jelentős emelkedést észleltünk, melyet nem befolyásolt a citrus flavonoidtartalmú gyógyszer (35. táblázat).

35. táblázat: Diozmin-heszperidin-kezelés hatása a test-, máj-, és csecsemőmirigy-tömegekre tioacetamid-indukált májkárosodásban (átlag \pm SD)

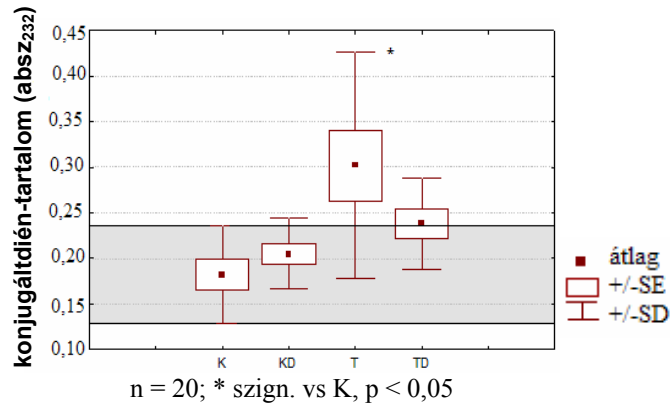
	Testtömeg (g)	Máj (g)	Májtömeg/Testtömeg (g)	Csecsemőmirigy (g)	Csecsemőmirigy/Testtömeg (g)
K	252,9 \pm 24,85	9,13 \pm 1,37	0,037 \pm 0,005	0,384 \pm 0,080	0,002 \pm 0,0004
KD	262,5 \pm 7,87	8,93 \pm 0,87	0,034 \pm 0,003	0,350 \pm 0,055	0,001 \pm 0,0002
T	171,94 \pm 35,57*	7,84 \pm 1,72*	0,046 \pm 0,005*	0,125 \pm 0,045*	0,0008 \pm 0,0003*
TD	181,1 \pm 22,15	8,03 \pm 1,17	0,044 \pm 0,003	0,111 \pm 0,033	0,0006 \pm 0,0003

n = 20; * szign. vs K, p < 0,05

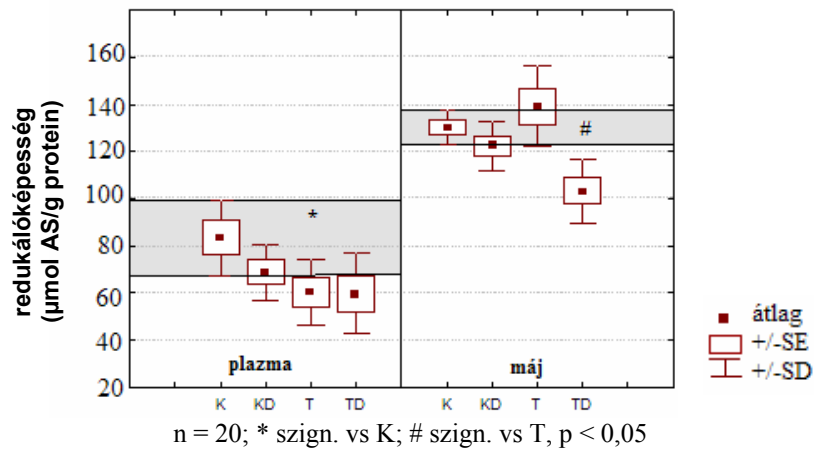
A májhomogenizátumok redox-egyensúlyának felborulását tapasztaltuk a vegyszer hatására. TAA-kezelés következtében a máj konjugáldién-tartalma szignifikáns növekedést mutatott a kontrollcsoporthoz viszonyítva, melyet a szabadgyökfogó-kapacitás csökkenése és a redukálóképesség növekedése kísért. A gyógyszeres kezelés a máj diénkonjugátum mennyiségén javított, azonban a redukálóképességet szignifikánsan csökkentette, a máj szabadgyökfogó-kapacitását tovább rontotta a T-csoporthoz képest (36. és 37. ábrák; 36. táblázat).

A plazma redoxi paramétereit közül a redukálóképesség csökkent a KD- és a T-csoportokban a kontrollcsoporthoz képest, illetve nem változott a TD-csoportban a csak vegyszerrel itatott csoporthoz viszonyítva (37. ábra).

36. ábra: Diozmin-heszperidin-kezelés hatása a máj konjugáltdién-tartalmára tioacetamid-indukált májkárosodásban



37. ábra: Diozmin-heszperidin-kezelés hatása a máj és a plazma redukálóképességére tioacetamid-indukált májkárosodásban



Míg a plazmában a szabadgyökfogó-kapacitás mérsékelt csökkenését figyeltük meg, addig minden kezelt állat vörösvértestében nagymértékű növekedést tapasztaltunk a kontrollhoz képest (36. táblázat).

36. táblázat: Diozmin-heszperidin-kezelés hatása a máj, plazma és vörösvértést szabadgyökfogó-kapacitására tioacetamid-indukált májkárosodásban

	máj	plazma	vörösvértést
	kemilumineszcens fényintenzitás (RLU%)		
K-csoport	4,815 ± 2,122	15,33 ± 9,658	152,0 ± 38,95
KD-csoport	18,75 ± 8,269*	18,77 ± 9,162	82,86 ± 14,60*
T-csoport	29,36 ± 12,37	26,47 ± 8,951	65,05 ± 14,88*
TD-csoport	92,60 ± 37,47#	46,30 ± 21,84	62,05 ± 19,11

n = 20; * szign. vs K, # szign. vs T, p < 0,05

A szervezet antioxidáns védelmi rendszerének enzimei közül a SOD- és a GSHpx-aktivitását vizsgáltuk. A SOD esetében szignifikánsan alacsonyabb értékeket detektáltunk a KD-, és a T-csoportokban a kontrollhoz viszonyítva, és további csökkenést a TD-csoportban a T-csoport májában mértekhez képest. Ezzel szemben a GSHpx- aktivitása a KD-csoportban nem tért el a kontrolltól, a TAA-val kezeltéknél azonban szignifikánsan nőtt, melyen a gyógyszer alkalmazása nem változtatott (37.táblázat).

37. táblázat: Diozmin-heszperidin-kezelés hatása a máj szuperoxid-dizmutáz és glutation-peroxidáz aktivitására tioacetamid-indukált májkárosodásban

	SOD-aktivitás	GSHpx-aktivitás
	U/l	
K-csoport	3,988 ± 0,132	141,2 ± 53,94
KD-csoport	3,628 ± 0,264*	152,7 ± 41,38
T-csoport	3,690 ± 0,256*	1720 ± 720,7*
TD-csoport	3,088 ± 0,441#	2107 ± 110,5

n = 20; * szign. vs K; # szign. vs T, p < 0,05

5.3.4.3. Diozmin-heszperidin-kezelés hatása a duodenum-, jejunum-, ileum- és colon-mucosa redox-egyensúlyára tioacetamid-indukált májkárosodásban

Egyes gyógyszerek és vegyszerek esetében, a legsúlyosabb károsodást a metabolizmus legfontosabb szerve a máj szenved el, azonban jelentős és nem elhanyagolható a gastrointestinalis tractus érintettsége is. Ezért vizsgálatinkat kiterjesztettük a béltractus különböző szakaszainak vizsgálatára is.

Kísérleti eredményeink azt mutatták, hogy a duodenum- és a jejunum-mucosa antioxidáns védelmi rendszere mindegyik csoportban szignifikánsan nagyobb volt az ileumban és a colonban tapasztaltnál, melyet a minták nagyobb H-donor aktivitása, redukálóképessége és szabadgyökfogó-kapacitása jelzett. Az oxidatív károsodások elleni védelem a colonban volt a legkisebb. A TAA és a gyógyszeres kezelés szignifikáns eltéréseket – a colont kivéve – nem okozott az adott bélszakasz redoxi paramétereiben. Megfigyeltük azonban, hogy TAA hatására a duodenum és a jejunum vizsgált aktivitásai nagyobbak bizonyultak a kontrollcsoporthoz viszonyítva, fokozottabb antioxidáns potenciált mutatva. A colon szabadgyökfogó-kapacitása TAA-

kezelés hatására szignifikánsan kisebb lett. A citrus flavonoidokat tartalmazó gyógyszernek csekély hatása volt ebben a vizsgálati rendszerben (38. táblázat).

38. táblázat: Diozmin-heszperidin-kezelés hatása a különböző bélszakaszok redoxi paramétereirei tioacetamid-indukált májkárosodásban (átlag \pm SD)

	H-donor aktivitás (gátlás %)	redukálóképesség (μ mol AS/g fehérje)	szabadgyökfogó-kapacitás (RLU%)
K-duodenum	86,46 \pm 4,122	0,728 \pm 0,031	0,725 \pm 0,644
KD-duodenum	85,40 \pm 8,636	0,552 \pm 0,088	1,435 \pm 1,206
T-duodenum	95,32 \pm 0,368	0,908 \pm 0,171	0,170 \pm 0,075
TD-duodenum	93,67 \pm 5,110	0,950 \pm 0,141	0,205 \pm 0,220
K-jejunum	90,51 \pm 3,755	0,792 \pm 0,316	89,59 \pm 126,6
KD-jejunum	92,74 \pm 0,727 ^{&}	0,748 \pm 0,173	1,021 \pm 1,094 ^{&}
T-jejunum	95,58 \pm 0,368	0,984 \pm 0,282	3,989 \pm 5,559 ^{&}
TD-jejunum	92,83 \pm 0,289 [#]	0,884 \pm 0,040	0,421 \pm 0,320
K-ileum	68,10 \pm 6,630 ^{\$}	0,457 \pm 0,079 ^{\$}	153,6 \pm 21,16 ^{&,\$}
KD-ileum	68,40 \pm 9,834 ^{,\$&}	0,464 \pm 0,152 ^{&,\$}	142,4 \pm 126,3 ^{&}
T-ileum	67,63 \pm 18,30 ^{,\$&}	0,413 \pm 0,071 ^{&,\$}	77,56 \pm 100,7 ^{&,\$}
TD-ileum	64,77 \pm 16,37 ^{,\$&}	0,426 \pm 0,130 ^{&,\$}	151,8 \pm 112,3 ^{&}
K-colon	33,55 \pm 14,86 ^{&,\$,§}	0,277 \pm 0,089 ^{&,\$,§}	176,0 \pm 8,450 ^{&,\$}
KD-colon	43,71 \pm 0,526 ^{,\$,§}	0,405 \pm 0,038 ^{&,\$,§}	277,6 \pm 5,351 ^{&,\$}
T-colon	39,87 \pm 2,390 ^{,\$,§}	0,269 \pm 0,061 ^{&,\$,§}	276,0 \pm 2,489 ^{*,&,\$,§}
TD-colon	16,71 \pm 2,664 ^{#,,\$,§}	0,144 \pm 0,018 ^{#,&,\$,§}	305,2 \pm 22,59 ^{&,\$}

n = 20; *szign. vs K; # szign. vs T; & szign. vs duodenum; \$ szign. jejunum; § szign. ileum, p < 0,05

5.3.4.4. Diozmin-heszperidin-kezelés hatása a máj, és a plazma elemtartalmára tioacetamid-indukált májkárosodásban

Az egészséges állatok plazmájában a gyógyszeres táp hatására jelentősen csökkent a kén és a cink mennyisége, miközben a vastartalom nőtt a kontrollhoz képest. A TAA-val itatott csoportban alacsonyabb értékeket detektáltunk a réz tekintetében, azonban a vas és a kén koncentrációjában szignifikáns emelkedést tapasztaltunk. A vegyszer mellett alkalmazott citrus flavonoidok a réz koncentrációját tovább csökkentették, a vas- és a kéntartalmat a kontroll irányába befolyásolták (39. táblázat).

39. táblázat: Diosmin-heszperidin-kezelés hatása a plazma ásványi elemtartalmára tioacetamid-indukált májkárosodásban ($\mu\text{g/g}$, átlag \pm SD, $n=5$)

elemek	K	KD	T	TD
Cu	1,18 \pm 0,12	1,07 \pm 0,25	0,86 \pm 0,02*	0,73 \pm 0,02 [#]
Fe	2,78 \pm 0,16	3,54 \pm 0,05*	5,49 \pm 0,50*	2,80 \pm 0,39 [#]
Mg	19,80 \pm 0,54	20,92 \pm 3,18	19,13 \pm 0,79	20,11 \pm 0,78
Mn	0,01 \pm 0,005	0,01 \pm 0,006	0,02 \pm 0,005	0,02 \pm 0,004
P	148,9 \pm 157,3	147,7 \pm 25,91	166,9 \pm 14,65	208,8 \pm 37,69
S	918,8 \pm 49,47	845,2 \pm 34,48*	970,1 \pm 44,01*	855,2 \pm 21,25 [#]
Zn	1,16 \pm 0,09	0,97 \pm 0,05*	1,32 \pm 0,27	1,23 \pm 0,13

$n = 20$; * szign. vs K; # szign. vs T, $p < 0,05$

A fémelem-analízis a TAA-kezelt máj vaskoncentrációjának nem szignifikáns növekedését mutatta, mely szabadgyök-termelő folyamatokat indukálhat. Ez a jelenség lehet az egyik oka a májban detektált oxidatív károsodásnak. A nagy dózisú flavonoid-kezelés tovább növelte a máj vastartalmát, melynek hatása ugyancsak megnyilvánult a máj szabadgyökfogó-kapacitásának csökkenésében. A T-csoport májában a mangán-, foszfor-, kén- és cinktartalom nem szignifikánsan csökkent az egészséges állatok értékeihez képest. A diosmin-heszperidin-kezelés a foszfor koncentrációját szignifikánsan növelte a KD-csoportban a kontrollhoz viszonyítva, míg a réztartalmat szignifikánsan csökkentette a TD-csoportban a T-csoporthoz képest (40. táblázat).

40. táblázat: Diosmin-heszperidin-kezelés hatása a máj ásványi elemtartalmára tioacetamid-indukált májkárosodásban ($\mu\text{g/g}$ szövet nedves, átlag \pm SD, $n=5$)

elemek	K	KD	T	TD
Cu	2,09 \pm 0,10	2,14 \pm 0,03	2,06 \pm 0,04	1,85 \pm 0,02 [#]
Fe	159,0 \pm 24,04	136,7 \pm 1,53	176,5 \pm 17,7	187,0 \pm 14,14
Mg	109,5 \pm 2,12	108,0 \pm 1,01	110,5 \pm 0,71	106,5 \pm 6,36
Mn	1,26 \pm 0,11	1,19 \pm 0,02	1,09 \pm 0,04	1,10 \pm 0,06
P	2005 \pm 40,31	2127 \pm 21,78*	1987 \pm 15,56	1957 \pm 12,73
S	1277 \pm 17,68	1288 \pm 13,43	1240 \pm 41,7	1237 \pm 4,24
Zn	16,5 \pm 0,71	15,0 \pm 1,00	14,5 \pm 0,71	17,5 \pm 2,12

$n = 20$; * szign. vs K; # szign. vs T, $p < 0,05$

5.3.4.5. Diozmin-heszperidin-kezelés hatása a májmikroszóma drog-metabolizáló enzimrendszerére tioacetamid-indukált májkárosodásban

Az irodalomból jól ismert a TAA májkárosító hatása, melyet a metabolizmusa során keletkező reaktív intermedierek hoznak létre, miközben magát a mikroszómát is súlyosan károsítják (100, 202, 221). Kísérletünkben azt vizsgáltuk, hogy az általunk alkalmazott dózisban a 30 napos kezelés alatt, milyen elváltozásokat tapasztalunk a citokróm P450- és a FMO1-enzimek működésében és mindezekre, milyen hatást gyakorol a nagydózisú citrus-flavonoidokat tartalmazó gyógyszer.

A TAA jelentősen csökkentette a P450-koncentrációt és a P4502E1-aktivitását a kontrollhoz viszonyítva, mely a biotranszformáció során keletkező reaktív TAA-metabolitok hatásának köszönhető. A citokróm b₅-koncentrációjában egyik kezelt csoportban sem tapasztaltunk változást. A citokróm c-reduktáz aktivitás enyhén fokozódott a vegyszer hatására. A P4501A-aktivitás nem tért el a kontrolltól. Az FMO1-szintjében markáns csökkenés volt megfigyelhető, azonban – a számottevő szórás miatt – nem volt az eltérés szignifikáns. A diozmin-heszperidin-kezelés egyik esetben sem okozott szignifikáns változást a vizsgált paraméterekben (41. táblázat).

41. táblázat: Diozmin-heszperidin-kezelés hatása P450-enzimek aktivitására tioacetamid-indukált májkárosodásban (átlag ± SD)

	K	KD	T	TD
Citokróm-P450-tartalom (nmol/mg fehérje)	0,72 ± 0,10	0,70 ± 0,04	0,48 ± 0,10*	0,45 ± 0,12
Citokróm b₅-koncentráció (nmol/mg fehérje)	0,22 ± 0,097	0,19 ± 0,06	0,20 ± 0,037	0,18 ± 0,065
Citokróm c-reduktáz aktivitás (μmol/min/mg)	0,019 ± 0,008	0,018 ± 0,010	0,026 ± 0,017	0,022 ± 0,008
P4501A-aktivitás (pmol/min/mg)	30,04 ± 12,43	27 ± 16,09	33,87 ± 14,29	36,05 ± 10,78
P4502E1-aktivitás (pmol/min/mg)	167,81 ± 75,66	158,33 ± 59,23	70,82 ± 52,53	40,10 ± 17,41
FMO1-aktivitás (pmol/min/mg)	1416 ± 865	1517 ± 236	530 ± 210	674 ± 268

n = 20; * szign, vs K, p < 0,05

5.3.4.6. Diozmin-heszperidin és a tioacetamid kezelések hatása a máj szöveti

képére

A májkárosodás jelei hisztológiai vizsgálataink során is megnyilvánultak. A 30 napos TAA-kezelés hatására a hepatocytákban a perilobularis területen nekrozis és vakuolizáció volt látható, míg a vena centralis körül regenerálódó sejteket figyeltünk meg. Mangipudy és munkatársai által is leírt jelenség, hogy a TAA-val károsított májban egyszerre figyelhető meg szöveti regeneráció és májkárosodás (133). A nagy dózisú diozmin-heszperidin-kezelést követően súlyosabb elváltozást tapasztaltunk. Néhány fibrocyta és kollagén rost figyelhető meg a centrilobularis területen. A standard diéta mellett adagolt diozmin-heszperidin hatására a májszövetben nem láthatók jelentős változások (39. ábra).

Eredményeink azt mutatták, hogy a TAA károsító hatása, az alkalmazott dózisban, a májfunkciók jelentős változásában nyilvánult meg. TAA-kezelés hatására a hepatocytákban a perilobularis területen nekrozist és vakuolizációt, míg a vena centralis körül regenerálódó sejteket figyeltünk meg. A nagy dózisú diozmin-heszperidin-kezelés nem befolyásolta a szérum paramétereket a vegyszer indukálta májkárosodásban, azonban a szövettani vizsgálat súlyosabb elváltozásokat mutatott a csak TAA-val kezelt csoporthoz képest.

A TAA-val kezelt csoportban az RBC, a HGB és HCT szignifikáns csökkenését figyeltük meg, melyet a citrus-flavonoidok nem szignifikánsan javítottak.

A TAA-itatás hatására a plazma vaskoncentrációja szignifikánsan megemelkedett, melyet a citrus flavonoid-kezelés normalizált.

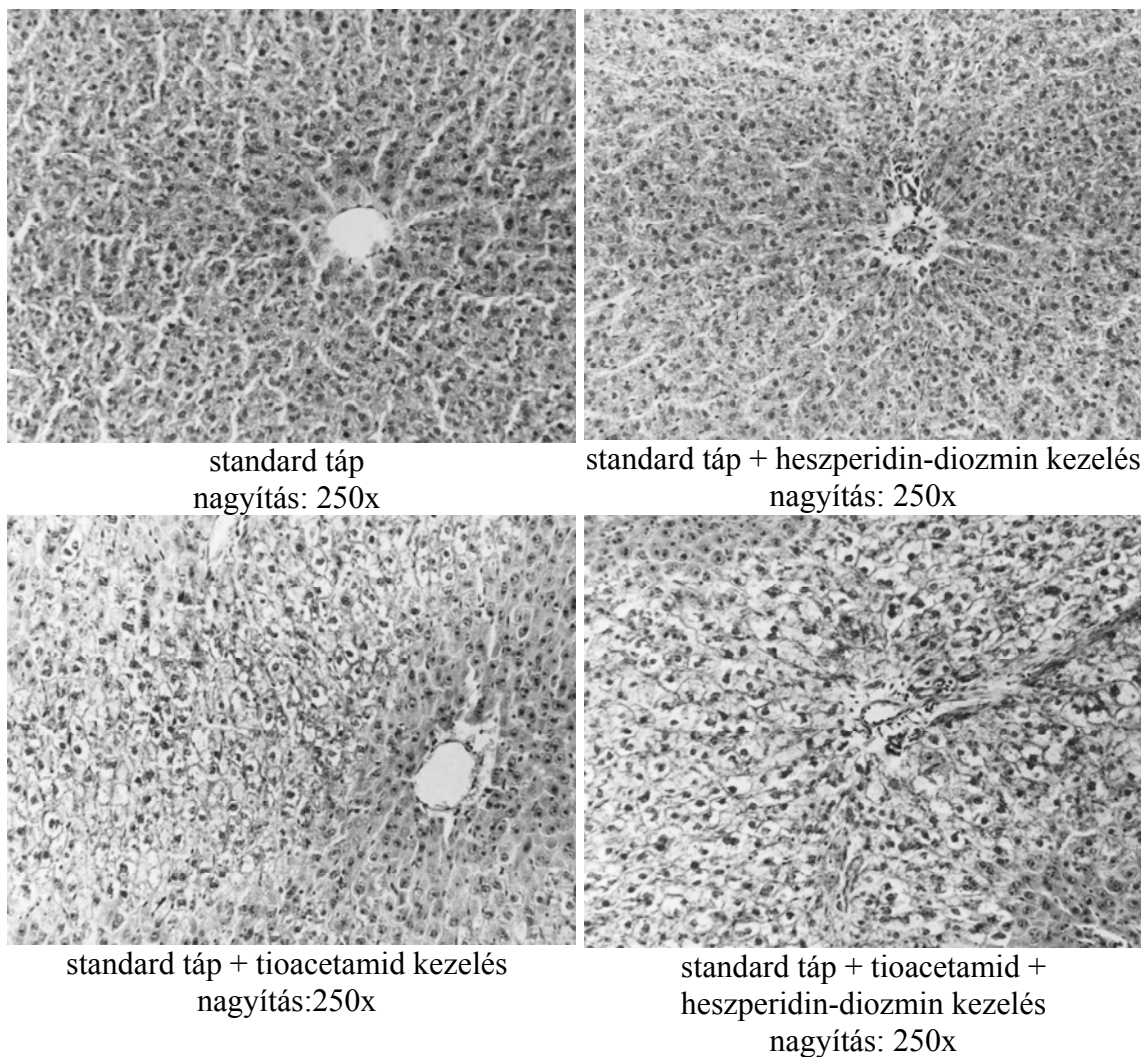
A vegyszer hatására a májhomogenizátumokban a redox-egyensúly felborulását detektáltuk. A máj legtöbb vizsgált redoxi paramétereire kedvezőtlen hatást gyakorolt a nagy dózisú diozmin-heszperidin-kezelés, az oxidatív károsodást súlyosbította.

A vörösvértestben a szabadgyökfogó-kapacitás markáns növekedését figyeltük meg TAA-itatás hatására. A diozmin-heszperidin-kezelés nem befolyásolta a plazma és a vörösvértest antioxidáns – szabad gyök egyensúlyát.

Az 1 hónapon keresztül adott TAA kezelés nem okozott szignifikáns eltérést a vékonybél redoxi paramétereiben, azonban a colon-mucosa szabadgyökfogó-kapacitását szignifikánsan csökkentette. A citrus flavonoidokat tartalmazó gyógyszernek nem volt számottevő hatása ebben a vizsgálati rendszerben.

TAA jelentősen csökkentette a P450-koncentrációt és a P4502E1-enzim aktivitását. A diozmin-heszperidin-kezelés egyik esetben sem okozott szignifikáns változást a vizsgált paraméterekben.

39. ábra: Diozmin-heszperidin és a tioacetamid kezelések hatása a máj szöveti képére



5.3.5. NAGYDÓZISÚ DIOZMIN-HESZPERIDIN UTÓKEZELÉS HATÁSA A TIOACETAMID ÁLTAL KÁROSÍTOTT MÁJ REGENERÁCIÓJÁBAN

A következőkben azt vizsgáltuk, hogy az emlős szervezetben a tioacetamiddal 30 nap alatt létrehozott változások a gyógyszer elhagyásával hogyan változnak; a 14 napos megfigyelési periódus alatt képes-e a szervezet önmagát regenerálni, és jelent-e bármilyen előnyt vagy hátrányt, ha ebben a fázisban diozmin-heszperidin tartalmú gyógyszer jut a szervezetbe. Megfigyeléseink középpontjában a máj, a plazma és a vörösvértest redoxi paraméterei álltak. A gyógyszer terápiás dózisát lecsökkentettük, miután a terápiás dózis 7-szerese bizonyíthatóan oxidánsként viselkedett az előbbieken bemutatott vizsgálati körülmények között. Kíváncsiak voltunk, hogy a Detralex terápiás dózisének ötszöröse (315 mg/ttkg), vajon prooxidáns vagy antioxidáns karaktert mutat ebben a vizsgálati rendszerben.

A vegyszeres kezelést ezúttal is 30 napon keresztül folytattuk, majd ennek elhagyásával 14 napig standard tápot vagy gyógyszerrel kiegészített tápot kaptak az állatok. A vizsgálatokhoz nőstény Wistar albino patkányokat (160-180 g) használtunk. A kontrollcsoporton (**I. csoport**) és a tioacetamiddal (TAA) kezelt csoporton (**III. csoport**; n=10) kívül a **II. csoport**ba tartoztak azok az állatok (n=10), melyek standard tápba kevert gyógyszert kaptak (3,7g Detralex/kg táp); a **IV. csoport**ban (n=10) pedig a gyógyszerrel és TAA-val (500 mg TAA/l ivóvíz) párhuzamosan kezelt állatok voltak. A 30 napos kezelést követően az **V. és a VI. csoport** (n=10-10) esetében megszüntettük a hepatotoxikus TAA adagolását, az V. csoport standard tápot, a VI. csoport gyógyszerrel kiegészített tápot kapott két héten keresztül. A 30 (n=5) és a 44 napon (n=5) keresztül tartott kontrollállatok különböző paraméterei nem tértek el egymástól számottevően, ezért az ábrákon és a táblázatokban egységes kontrollként kerültek feltüntetésre.

A kezelés sémája:

<u>Csoportok</u>	<u>Kezelések</u>
I. csoport	Standard táp, ivóvíz
II. csoport	3,7 g Detralex / kg standard táp, ivóvíz
III. csoport	500 mg Tioacetamid / l ivóvíz
IV. csoport	500 mg Tioacetamid / l ivóvíz + 3,7 g Detralex / kg standard táp
V. csoport	500 mg Tioacetamid / l ivóvíz
VI. csoport	500 mg Tioacetamid / l ivóvíz

0. nap
30. nap
44. nap

5.3.5.1. Diozmin-heszperidin utókezelés hatása a vér különböző paramétereire tioacetamid-indukált májkárosodásban

A TAA-val kezelt csoportban az AST- és ALT-szintek jelentős csökkenését detektáltuk, míg az ALP-koncentráció nem szignifikánsan növekedett. A májenzimek szignifikáns növekedését figyeltük meg a regenerálódó csoportokban függetlenül attól, hogy kaptak gyógyszert vagy sem. A hasnyálmirigy állapotára utaló amiláz aktivitása nem változott jelentősen egyik csoportban sem. A TAA-val károsított máj súlyos anyagcserezavarára lehet következtetni abból, hogy a vegyszerrel kezelt csoportban az összkoleszterin-, triglicerid-, glükóz-, összfehérje- és albuminkoncentráció a szérumban jelentős csökkenést mutatott a kontrollértékekhez viszonyítva. Az összkoleszterin, triglicerid és glükóz esetében hasznosnak bizonyult az adott dózisú diozmin-heszperidin alkalmazása a regeneráció ideje alatt a citrus flavonoidokkal nem kezelt spontán regenerálódó csoporthoz képest. A szérumhúgysav szintje a III. csoportban magasabb volt a kontrollhoz képest, azonban csökkent a V. és VI. csoportban (42. és 43. táblázat).

Az állatok vérképében tapasztalt változásokat a 44. táblázat mutatja be. A WBC nem szignifikáns növekedését figyeltük meg a III. és IV. csoportban, melyek további emelkedést mutattak a TAA elhagyása után a V. és VI. csoportba tartozó állatokban. Ezzel ellentétesen változott a RBC és a HGB mennyisége, melynek csökkenése szintén nem volt szignifikáns. A HCT és az MCV is alacsonyabbnak bizonyult a III., IV., V. és

VI. csoportban a kontrollhoz, illetve egymáshoz viszonyítva. Az eltérések nem voltak szignifikánsak.

42. táblázat: Enzim meghatározások (átlag ± SD)

	I. csoport	II. csoport	III. csoport	IV. csoport	V. csoport	VI. csoport
AST (U/l)	85 ± 21,2	82,3 ± 15,36	63,4 ± 3,71	113,1 ± 26,86 [#]	144,8 ± 48,13 [#]	114,2 ± 49,18 [#]
ALT (U/l)	30 ± 17,07	24,2 ± 13,83	17,5 ± 6,45	27 ± 16,3	67,4 ± 17,81 [#]	51,6 ± 14,75 [#]
ALP (U/l)	183,8 ± 42,64	155,9 ± 41,82	238,4 ± 51,11	155,9 ± 96,55	181,8 ± 64,55	235,3 ± 118,40
AMY (U/l)	1513 ± 212,1	1492 ± 191,7	1724 ± 793,8	1189 ± 385,6	1668 ± 203,5	1924 ± 285,8

n = 60; * szign. vs I. csoport; # vs III. csoport, p < 0,05

43. táblázat: Metabolit meghatározások (átlag ± SD)

	I. csoport	II. csoport	III. csoport	IV. csoport	V. csoport	VI. csoport
CHOL (mmol/l)	1,4 ± 0,25	2,05 ± 0,39	0,98 ± 0,22 [*]	0,94 ± 0,10	2,3 ± 0,53 ^{#,§}	1,65 ± 0,16 [#]
TG (mmol/l)	0,82 ± 0,22	0,78 ± 0,28	0,47 ± 0,12 [*]	0,77 ± 0,27 [#]	1,87 ± 0,76 ^{#,§}	0,77 ± 0,16 [#]
GLUC (mmol/l)	7,31 ± 0,46	7,31 ± 0,55	4,59 ± 0,99 [*]	4,49 ± 0,97	6,74 ± 0,54 ^{#,§}	7,54 ± 0,62 [#]
U.A. (mmol/l)	56,6 ± 15,66	44,67 ± 17,91	80,75 ± 18,36	87,86 ± 29,82	77,6 ± 14,22	61,67 ± 13,86
T.P. (g/l)	55,4 ± 3,51	60,7 ± 1,80	44,2 ± 6,02 [*]	42,71 ± 4,42	57,6 ± 3,05 [#]	60,5 ± 3,10 [#]
ALB (g/l)	24,2 ± 1,30	26,89 ± 2,37	10,6 ± 9,24 [*]	13,7 ± 8,01	31,2 ± 3,19 [#]	29,2 ± 3,55 [#]

n = 60; *szign. vs I.csoport; [#] szign. vs III. csoport; § szign. vs VI. csoport, p < 0,05

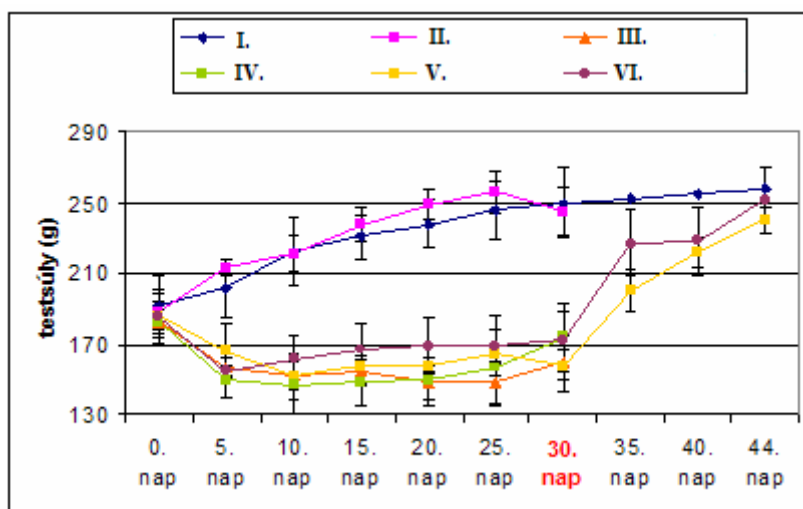
44. táblázat: Diozmin-heszperidin utókezelés vérképre gyakorolt hatása tioacetamid-indukált májkárosodásban (átlag ± SD)

	I. csoport	II. csoport	III. csoport	IV. csoport	V. csoport	VI. csoport
WBC x10 ³ /μl	1,24 ± 0,49	1,34 ± 0,42	2,27 ± 1,23	2,48 ± 1,16	3,2 ± 0,86	2,85 ± 0,67
RBC x10 ⁶ /μl	6,29 ± 0,61	5,99 ± 0,40	6,01 ± 0,58	5,76 ± 0,31	5,74 ± 0,13	5,69 ± 0,25
HCT (%)	35,28 ± 3,40	33,33 ± 2,19	32,8 ± 2,65	31,43 ± 1,42	33,95 ± 2,28	35,13 ± 1,04
HGB g/dl	13,8 ± 0,80	13,6 ± 0,52	13 ± 0,84	12,68 ± 0,73	12,5 ± 0,46	12,42 ± 0,58
MCV fl	56 ± 0,71	55,7 ± 1,34	54,67 ± 1,51	54,5 ± 1,77	53,33 ± 2,52	54,8 ± 3,56

5.3.5.2. Diozmin-heszperidin utókezelés hatása a szöveti antioxidáns státuszra tioacetamid-indukált májkárosodásban

A citrus flavonoidok és a TAA-kezelések hatását a testtömegre 40. ábra szemlélteti. Az ötnaponkénti testtömeg mérés jól követte a kísérleti periódus alatt tapasztalt változásokat. Már az 5. napon jelentős csökkenést mértünk a TAA-val kezelt állatok testtömegében, mely a 30. napig alig változott és a vegyszer elhagyásával 14 nap alatt normalizálódott. A 45. táblázat a kísérlet befejezésekor mért testtömegeket és szervtömegeket mutatja be. A III. csoport testtömege nagymértékben csökkent a kontrollhoz képest, míg a TAA elhagyásával a V. és VI. csoportokban normalizálódott. A TAA-val kezelt állatok májtömege nem szignifikánsan csökkent, ehhez képest a regeneráció periódusában, a kontrollt is meghaladó növekedés volt megfigyelhető a V. és VI. csoportban. A megemelkedett májtömeg/testtömeg arány jelezte a vegyszerrel kezelt csoport májhipertrófiáját, mely – az irodalmi adatokkal összhangban – a regeneráció periódusában sem csökkent (213, 214). A csecsemőmirigy tömege a III. csoportban jelentősen kisebb volt, mint a kontrollállatokban, a TAA elhagyásával azonban a kontrollhoz közelített a V. és VI. csoportban. A diozmin-heszperidin utókezelés hatása nem különbözött a spontán regenerációban tapasztaltaktól.

40. ábra: Diozmin-heszperidin utókezelés hatása a testtömegre tioacetamid-indukált májkárosodásban (átlag \pm SD)



n = 60

45. táblázat: Diozmin-heszperidin utókezelés hatása a test-, máj- és csecsemőmirigy-tömegre tioacetamid-indukált májkárosodásban (átlag ± SD)

	Testtömeg (g)	Májtömeg (g)	Májtömeg/Testtömeg (g)	Csecsemőmirigy (g)	Csecsemőmirigy/Testtömeg (g)
I. csoport	256,8 ± 17,44	8,20 ± 1,96	0,032 ± 0,003	0,35 ± 0,10	0,0010 ± 0,0002
II. csoport	245,4 ± 13,41	7,56 ± 0,78	0,031 ± 0,004	0,38 ± 0,06	0,0015 ± 0,0003
III. csoport	158,5 ± 16,02*	6,7 ± 0,90	0,042 ± 0,004*	0,12 ± 0,04*	0,0008 ± 0,0003
IV. csoport	173,5 ± 18,89	7,45 ± 0,82	0,043 ± 0,005	0,13 ± 0,05	0,0007 ± 0,0004
V. csoport	240,4 ± 7,50 [#]	10,20 ± 0,74 [#]	0,042 ± 0,003	0,30 ± 0,14 [#]	0,0012 ± 0,0003
VI. csoport	250,9 ± 19,17 [#]	10,27 ± 1,45 [#]	0,041 ± 0,005	0,31 ± 0,12 [#]	0,0012 ± 0,0002

n = 60; * szign. vs I. csoport; # szign. vs III. csoport, p < 0,05

A TAA-kezelés szignifikánsan növelte a máj konjugáltdién-tartalmát, melyet a szabadgyökfogó-kapacitás csökkenése, a H-donor aktivitás szignifikáns csökkenése és a redukálóképesség növekedése kísért a kontrollhoz viszonyítva. A 30 napos és a regenerációs periódusban alkalmazott gyógyszeres kezelések nem befolyásolták jelentősen ezeket az eredményeket (46. táblázat). Megfigyeltük, hogy amíg a máj H-donor aktivitásában a V. és VI. csoportban nem történt változás, addig a redukálóképesség a TAA elhagyásával a kontrollértékhez tért vissza.

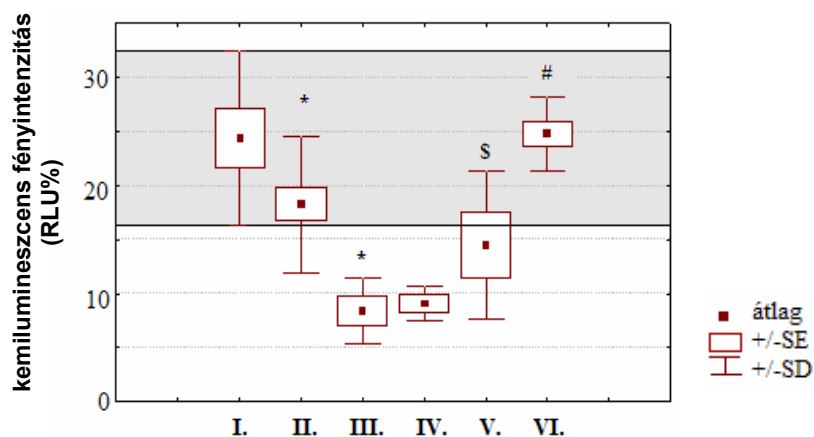
46. táblázat: Diozmin-heszperidin utókezelés hatása a máj redoxi paramétereire tioacetamid-indukált májkárosodásban (átlag ± SD)

	konjugáltdién-tartalom (absz ₂₃₂)	H-donor aktivitás (gátlás %)	redukálóképesség (μmol AS/g fehérje)	szabadgyökfogó-kapacitás (RLU%)
I. csoport	0,252 ± 0,051	27,36 ± 3,896	160,0 ± 34,82	12,50 ± 15,93
II. csoport	0,267 ± 0,066	30,33 ± 3,843	149,8 ± 23,73	58,88 ± 51,71
III. csoport	0,343 ± 0,046*	35,90 ± 4,183*	196,0 ± 29,86	50,23 ± 49,22
IV. csoport	0,312 ± 0,045	37,22 ± 2,435	212,9 ± 31,27	86,05 ± 25,73
V. csoport	0,314 ± 0,058	34,85 ± 3,767	154,2 ± 30,72 [#]	93,04 ± 67,58
VI. csoport	0,301 ± 0,068	37,01 ± 4,325	159,89 ± 37,95	76,83 ± 46,14

n = 60; * szign. vs I. csoport, # szign. vs III. csoport, p < 0,05

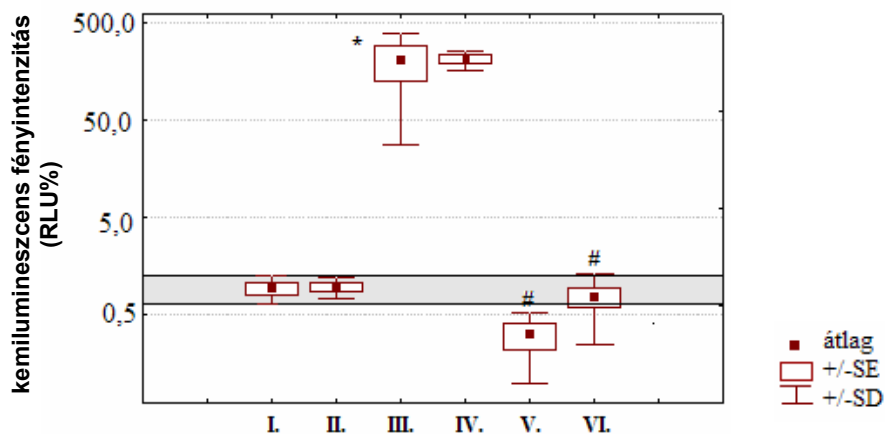
A vörösvértest szabadgyökfogó-kapacitása a III. és a IV. csoportban markáns emelkedést mutatott, mely a regeneráció fázisában a kontrollértékhez közelített (41. ábra). A plazma csökkent szabadgyökfogó-kapacitása a III. csoportban ugyancsak normalizálódott a regeneráció alatt (42. ábra).

41. ábra: Diozmin-heszperidin utókezelés hatása a vörösvértest szabadgyökfogó-kapacitására tioacetamid-indukált májkárosodásban



n = 60; * szign. vs I. csoport; # szign. vs III. csoport; \$ szign. vs VI. csoport, p < 0,05

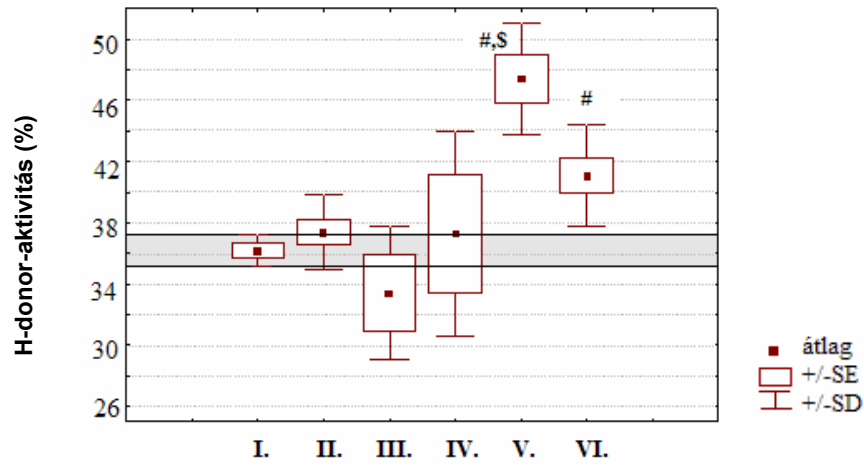
42. ábra: Diozmin-heszperidin utókezelés hatása a plazma szabadgyökfogó-kapacitására tioacetamid-indukált májkárosodásban



n = 60; * szign. vs I. csoport; # szign. vs III. csoport, p < 0,05

A TAA-kezelt csoportban, a májban tapasztaltakkal szemben, csökkent a plazma H-donor aktivitása, azonban jelentősen nőtt az V. és a VI. csoportokban (43. ábra).

43. ábra: Diozmin-heszperidin utókezelés hatása a plazma H-donor aktivitására tioacetamid-indukált májkárosodásban



n = 60; # szign. vs III. csoport; \$ szign. vs VI.csoport, p < 0,05

5.3.5.3. A diozmin-heszperidin utókezelés hatása a plazma elemtartalmára tioacetamid-indukált májkárosodásban

TAA hatására a plazma réztartalma csökkent, míg a vas- és a cinktartalom jelentősen emelkedett a III. csoportban a kontrollhoz viszonyítva. A 30 napos diozmin-heszperidin-kezelés a IV. csoportban a cinktartalmat a kontrollhoz közelítette, míg a vas mennyiségét nem befolyásolta. A TAA elhagyásával sem csökkent a vas koncentrációja a plazmában, azonban a cinktartalom normalizálódott a V. és a VI. csoportban (47. táblázat).

47. táblázat: Diozmin-heszperidin utókezelés hatása a plazma ásványi elemtartalmára tioacetamid-indukált májkárosodásban ($\mu\text{g/g}$, átlag \pm SD, n=5)

elemek	I. csoport	II. csoport	III. csoport	IV. csoport	V. csoport	VI. csoport
Cu	1,16 \pm 0,18	1,39 \pm 0,14	0,75 \pm 0,18	0,68 \pm 0,05	1,10 \pm 0,02	0,97 \pm 0,21
Fe	3,30 \pm 0,07	3,52 \pm 0,08	12,1 \pm 1,0*	12,6 \pm 1,51	11,2 \pm 1,41	11,4 \pm 1,10
Mg	19,2 \pm 0,39	20,35 \pm 1,30	19,4 \pm 2,96	20,5 \pm 3,09	20,5 \pm 0,64	20,2 \pm 0,42
Mn	0,01 \pm 0,003	0,011 \pm 0,001	0,07 \pm 0,06	0,02 \pm 0,02	0,01 \pm 0,004	0,01 \pm 0,004
Zn	1,13 \pm 0,18	1,55 \pm 0,63	2,44 \pm 0,66*	1,33 \pm 0,06 [#]	1,08 \pm 0,12 [#]	1,10 \pm 0,15 [#]

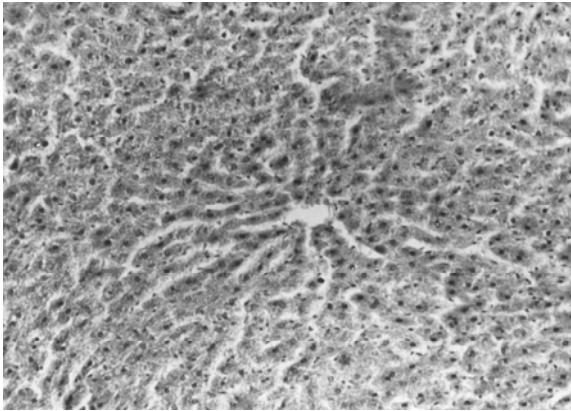
n = 60; * szign. vs K; # szign. vs T, p < 0,05

5.3.5.4. Diozmin-heszperidin utókezelés hatása a máj szöveti képére

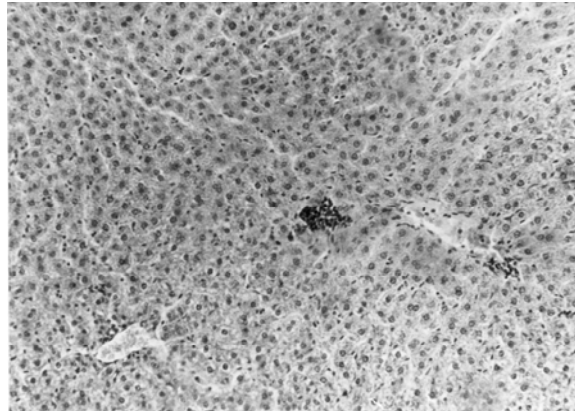
Hasonlóan az előző kísérleti eredményeinkhez (5.3.4.6. fejezet), a hepatocytákban a vena centralis körül regenerálódó sejtek figyelhetők meg, míg a perilobularis területen nekrozis és vakuolizáció látható. A párhuzamosan adott heszperidin-diozmin kezelés a tioacetamid okozta májváltozást nem befolyásolta. A regenerációs periódusban a gyógyszer nem tartalmazó csoport májszöveti képében jelentős javulás volt látható, mely a diozmin-heszperidin-kezelés esetén is tapasztaltunk, azonban itt lymphocytás beszűrődést is megfigyeltünk. A standard diéta mellett adagolt diozmin-heszperidin hatására a májszövet képe a kontrolléhoz hasonlított, de lymphocytás beszűrődés ebben az esetben is látható volt (43. ábra).

Vizsgálataink azt mutatták, hogy a szérum összfehérje-, glükóz-, triglicerid- és összkoleszterin-szintje szignifikánsan csökkent a TAA-kezelt állatokban, azonban a gyógyszer elhagyásával normalizálódtak ezek az értékek. Az összkoleszterin, triglicerid és glükóz tekintetében hasznosnak bizonyult a diozmin-heszperidin alkalmazása a regeneráció ideje alatt. A májenzimek szignifikáns növekedését figyeltük meg a regenerálódó csoportokban a gyógyszerrel kezelt csoporthoz képest. A TAA-kezelt állatok szignifikáns testtömeg csökkenése a gyógyszer elhagyásával 14 nap alatt a kontrollhoz hasonlított. A májtömeg/testtömeg arány azonban a regeneráció periódusában csak csekély mértékben csökkent. A máj redox-homeosztázist vizsgálva megállapítottuk, hogy a 315 mg/ttkg dózisban alkalmazott diozmin-heszperidin-kezelés nem rontott a TAA-okozta kedvezőtlen paramétereken, hatásában nem tért el a spontán regenerálódó csoporttól. A TAA-kezelt csoport vörösvértestjében a kontrollhoz képest tapasztalt szignifikáns szabadgyökfogó-kapacitásnövekedést a diozmin-heszperidin utókezelés normalizálta. Eredményeink azt mutatták, hogy diozmin-heszperidin kezelés az egészséges májban enyhe gyulladást idézett elő, valamint a vörösvértest endogén antioxidáns rendszerét védekezésre készítette.

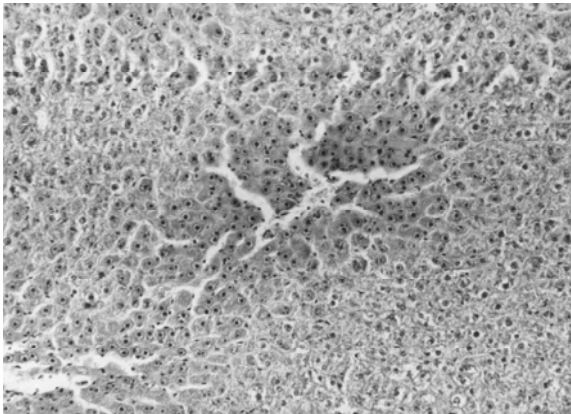
43. ábra: Diozmin-heszperidin utókezelés hatása a máj szövettani képére



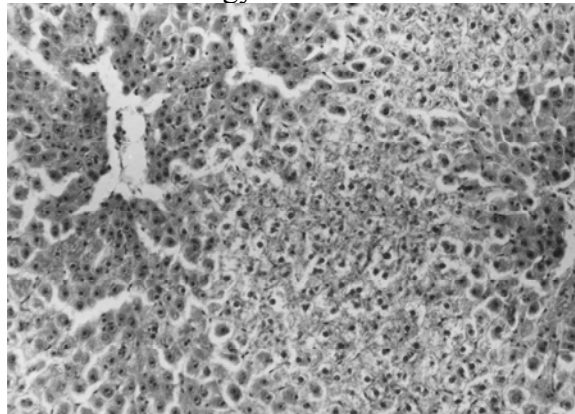
standard táp
nagyítás: 250x



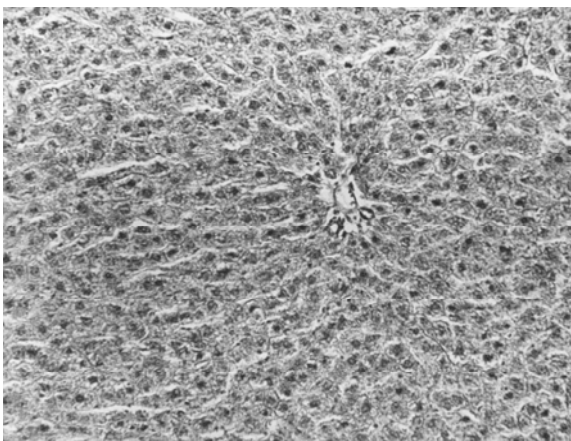
standard táp + diozmin-heszperidin-kezelés
nagyítás: 250x



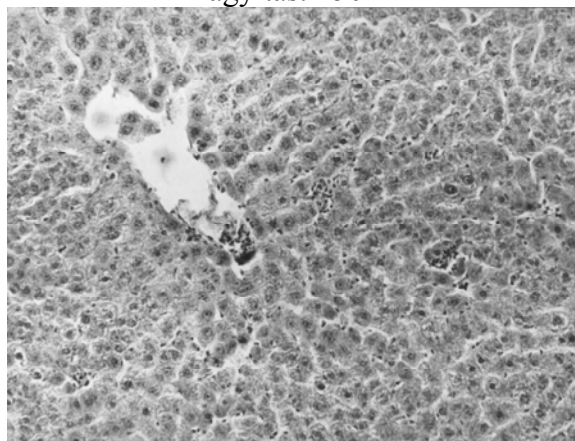
standard táp + tioacetamid kezelés
nagyítás: 250x



standard táp + tioacetamid +
diosmin-heszperidin-kezelés
nagyítás: 250x



standard táp + tioacetamid +
diosmin-heszperidin nélküli utókezelés
nagyítás: 250x



standard táp + tioacetamid +
diosmin-heszperidin utókezelés
nagyítás: 250x

6. KÖVETKEZTETÉSEK, TÉZISEK

Munkánk során biokémiai, analitikai, hisztológiai egymást kiegészítő modellrendszert alkalmaztunk abból a célból, hogy növényi készítmények hatását tanulmányozzuk az élő szervezet redox-homeosztázisára. Eredményeink alapján a következő megállapításokat tettük:

1. A részleges fitokémiai vizsgálatok alapján a *Hibiscus sabdariffa* csészelevéldrog, valamint a Mecsek, a Beiqishen és a Tieguan Yin teakeverékek esetében igazoltuk polifenol, flavonoid és cserzőanyag típusú molekulák jelenlétét.
2. A vizsgált teakeverékek és a drog *in vitro* antioxidáns és szabadgyök-befogó tulajdonságot mutatott nem-enzimikus rendszerekben, mely koncentráció- és áztatási időfüggő volt.
3. Állatkísérletben igazoltuk, hogy a Tieguan Yin és a Mecsek teakeverék vizes kivonatának már 21 napos alkalmazása is szignifikánsan befolyásolta a máj és a plazma redox-homeosztázisát egészséges patkányban.
4. Megállapítottuk, hogy a hosszabb ideig tartó Tieguan Yin és a Mecsek tea fogyasztás patkányban szignifikánsan nem befolyásolta a P450-enzimrendszer vizsgált elemeit.
5. Elsőként igazoltuk, hogy kísérletes körülmények között a diozmin-heszperidin citrus flavonoidokat tartalmazó gyógyszer – terápiás dózisban alkalmazva – a máj és a plazma nem-enzimikus védelmi rendszerének állapotát az egészséges állatokban tapasztalt értékekhez közelítette étrendi eredetű zsírmájban.
6. A 'short-term' diozmin-heszperidin-kezelés étrendi eredetű zsírmájban a lipidanyagcserére nem volt szignifikáns hatással az alkalmazott dózisban és időtartamban.

7. Állatkísérletben bizonyítottuk, hogy a diozmin-heszperidin tartalmú gyógyszer a májmikroszóma monooxigenáz-enzimrendszerének működését, a biotranszformáció folyamatát, sem az egészséges sem a beteg állatokban nem befolyásolta szignifikánsan.
8. A terápiás dózisban alkalmazott diozmin-heszperidin gyógyszer a zsírdús táp hatására megváltozott fémelem-tartalmakat a májban, a plazmában és a vörösvértestben egyaránt a kontrollhoz közelítette.
9. A standard diéta mellett adagolt diozmin-heszperidin tartalmú gyógyszer terápiás dózisának hétszerese (425 mg/ttkg) a májban, a plazmában és a vörösvértestben egyaránt szignifikáns eltéréseket okozott az egyes vizsgált redoxi paraméterekben egészséges állatokban.
10. A nagy dózisú (425 mg/ttkg) diozmin-heszperidin elő- és utókezelés haemoliticus anaemiát okozott az étrendi eredetű zsírmáj regenerációs periódusában, melyet az RBC, HCT, HGB mennyiségének szignifikáns csökkenése, és a plazma vaskoncentrációjának szignifikáns növekedése jelzett.
11. Állatkísérletben igazoltuk, hogy a tioacetamiddal párhuzamosan adott nagy dózisú diozmin-heszperidin tartalmú gyógyszer (425 mg/ttkg) a tioacetamiddal károsított máj redoxi paramétereire kedvezőtlen hatást gyakorolt, az oxidatív károsodást súlyosbította. Plazmában és vörösvértestben nem befolyásolta a vegyszer által előidézett állapotot.
12. A diozmin-heszperidin utókezelés a gyógyszer terápiás dózisának ötszörösét (315 mg/ttkg) alkalmazva a tioacetamiddal károsított máj redoxi állapotán nem rontott a regeneráció periódusában.
13. Humán *in vitro* tanulmányban igazoltuk a *Hibiscus sabdariffa* L. szárított csészeleveléből és a Beiqishen teakeverékből készült forrázatok immunmoduláns hatását. Mindkét tea koncentrációtól függően gátolta a fitohemagglutinin és a

pokeweed mitogén által indukált lymphocyta proliferációt. Megállapítottuk, hogy a vizsgált minták egyik koncentrációban sem rendelkeztek citotoxikus hatással, a lymphocyták spontán blasztosodását nem gátolták.

Gyakorlati hasznosítás

A gyógynövény-készítmények terápiában és prevencióban betöltött jelentős szerepére való tekintettel, nagy hangsúlyt helyeztünk a készítmények redox-homeosztázist befolyásoló hatásának vizsgálatára az egészséges és a beteg szervezetben. A gyógyteák alkalmazása egyre népszerűbbé válik, melynek egyik oka, hogy a fogyasztók mind gyakrabban használják a teákat napi folyadék szükségletük fedezésére. Ennek a szokásnak a következményeit vizsgáltuk a gyógyteákkal kapcsolatos tanulmányunkban. Kísérleteink eredményei alapján úgy véljük, hogy a gyógyteakeverékek csomagolásán célszerűen fel kellene tüntetni a következő feliratot, melyet feltűnőbb betűszedéssel kellene kiemelni:

A mértéktelen teafogyasztás egészségkárosító hatású. A napi folyadékbevitel nagyobb részét ivóvíz-fogyasztással biztosítsa!

Hasznos lenne, ha a csomagoláson szereplő tájékoztatás kiterjedne a készítmény fémelem-tartalmára (különös tekintettel az esetleges toxikus elemek mennyiségére), a polifenol/cserzőanyag és a készítményre jellemző főbb bioaktív komponensek mennyiségére.

/Shaw és munkatársainak tanulmányában fontos ajánlást találunk a fitoterápiás készítmények – különös tekintettel a távol-keleti készítmények – biztonságos alkalmazását lehetővé tevő előírásokra. Munkájuk felhívta a figyelmet arra, hogy az egészséget enyhén vagy súlyosan károsító eseteket a nem megfelelő minőség és a nem megfelelő felhasználási mód idézi elő (195). A tanulmány írói fontosnak tartják a kínai növényi gyógyszerek esetében is, az alkotórészek pontos felsorolását, azok eredetigazolását, valamint, hogy egy-egy növényfaj szabványos farmakognosztikai módszerekkel (morfológia, anatómia, kémiai és molekuláris profil megállapítása) meghatározható legyen. Ez a rendelkezés a kínai növények Kínán kívüli minőségbiztosításának alapját jelentené./

Eredményeink rávilágítanak arra, hogy a Detralex – melynek fő indikációs területe az alsó végtagok krónikus vénás elégtelensége, valamint a hemorrhoidális vénák

betegségei – citrus flavonoid hatóanyagai terápiás dózisban adva kedvezően befolyásolják a máj és a plazma redoxi egyensúlyát és fémhomeosztázisát a sokáig észrevétlen zsírmájbetegségben is.

A gyógyszerekben alkalmazott flavonoidok mennyisége jelentősen nagyobb, mint az élelmiszerekkel elfogyasztott mennyiség, ezért használatuk orvosi felügyeletet igényel. A nem vénköteles gyógyszerek nem megfelelő használata esetében mellékhatások megjelenésére kell számítani. Kísérleteinkkel rámutattunk arra, hogy a nagydózisban adott citrus flavonoidokat tartalmazó gyógyszert étrendi eredetű zsírmáj regenerációs periódusában alkalmazva, súlyosbíthatja az egyébként is felborult redoxi egyensúlyt, megakadályozhatja az egészséges szervműködés helyreállítását.

A betegségek és a gyógyszer-mellékhatások számosának hátterében közvetlenül vagy közvetve a sejtek megzavart redox-egyensúlya áll, ezért szükségesnek tartjuk a gyógyszerek átfogóbb, a szervezet redox-homeosztázisának vizsgálatát is magába foglaló toxikológiai vizsgálatok elvégzését a preklinikai és a klinikai fázisokban egyaránt.

Eredményeinkkel szeretnénk hozzájárulni a növényi készítmények és gyógyszerek biztonságosabb használatához, tekintettel azok népszerűségére és az öngyógyításban betöltött szerepére.

7. IRODALOMJEGYZÉK

1. Agullo, G., Gamet-Payrastra, L., Manenti, S., Viala, C., Remesy, C., Chap, H., Payrastra, B.: Relationship between flavonoid structure and inhibition of phosphatidylinositol 3-kinase: a comparison with tyrosine kinase and protein kinase C inhibition. *Biochem. Pharmacol.* 1997, 53, 1649-1657.
2. Akbay, A., Cina, K., Uzunalimoglu, O., Eranil, S., Yurdaydin, C., Bozkaya, H., Bozdayi, M.: Serum cytotoxin and oxidant stress markers in N-acetylcysteine treated thioacetamide hepatotoxicity of rats. *Hum. Exp. Toxicol.* 1999, 11, 669-676.
3. Ameer, B., Weintraub, R.A., Johnson, J.V., Yost, R.A., Rouseff, R.L.: Flavanone absorption after naringin, hesperidin, and citrus administration. *Clin. Pharmacol. Ther.* 1996, 60, 34-40.
4. Angulo P.: Nonalcoholic fatty liver disease, *N. Engl. J. Med.*, 2002, 346, 1221-1231.
5. AOAC Official Methods of Analysis 28054 B. 14th ed., Arlington USA, 1984.
6. Babulka, P.: Gyógynövények és növényi gyógyszerek a fitoterápiában és az öngyógyításban. *Gyógyszerészet* 1999, XLIII, 430-434.
7. Bast, A., Haenen, G.R., Doleman, C.J.: Oxidants and antioxidants: state of art. *Am. J. Med.*, 1991, 91, 2-13.
8. Bear, W.L., Teel, R.W.: Effects of citrus flavonoids on the mutagenicity of heterocyclic amines and on cytochrome P450 1A2 activity. *Anticancer Res.* 2000, 20, 3609-3614.
9. Bensky, D., Gamble, A. with Ted Kaptchuk Illustrations adapted by Lilian Lai Bensky: *Chinese Herbal Medicine Materia Medica*. Eastland Press, Seattle, 11-21. 1989.
10. Berg, P.A., Daniel, P.T.: *Plant flavonoids in biology and medicine. II: Biochemical, cellular and medicinal properties*, Cody, V. és mtsai (Eds), Alan R. Liss, New York, 1988, 157-171.
11. Berthou, F.: Cytochrome P450 enzyme regulation by induction and inhibition. Course "Use of mechanistic toxicology in risk assessment of environmental chemicals" Chile, 8-12 October 2001.
12. Blázovics, A., Rapavi, E., Hagymási, K., Szentmihályi, K., Lugasi, A., Balázs, A., Then, M., Bányai, É., Héthelyi, É.: Is Medical control of herbal tea consumption necessary? *Acta Horticulturae.*, 2004, No. 629. ISHS. 153-160.
13. Blázovics, A., Fehér, E., Fehér, J.: Role of free radical reactions in experimental hyperlipidemia in the pathomechanism of fatty liver, In: Csomós G, Fehér J (eds) *Free Radicals and Liver*. Springer, Berlin, 1992, pp 98-126.
14. Blázovics, A., Kovács Á., Lugasi A., Hagymási, K., Biró, L., Fehér, J.: Antioxidant defense in erythrocytes and plasma of patients with active and quiescent Crohn's disease and ulcerative colitis: a chemiluminescent study. *Clin. Chem.*, 1999, 45, 895-896.
15. Blázovics, A., Lugasi A. Hagymási, K., Szentmihályi, K., Kéry, A.: Natural antioxidants and tissue regenerations: curative effect and reaction mechanism. In: Majumdar D.K., Govil J.N. and Singh V.K. (eds) *Phytochemistry and Pharmacology II*. Vol 8 of the Recent Progress in Medicinal Plants series. SCI TECH Publishing LLC, Texas, USA, 2002, pp 93-134.
16. Blázovics, A., Örsi, F., Sipos, P., Fehér, J.: Free radical reactions in the bile: experimental and human studies. *Current Topics Biophys.* 1998, 22, Suppl. B. 21-26.
17. Blázovics, A., Szentmihályi, K., Lugasi, A., Balázs, A., Hagymási, K., Stefanovits-Bányai, É., Then, M., Rapavi, E., Héthelyi, É.: In vitro analysis of the properties of BeiqishenTea. *Nutrition* 2003, 19, 869-874.
18. Blázovics, A., Szentmihályi, K., Rapavi, E., Fehér, E., Vinkler, P.: Accumulation of toxic elements in liver and bile in hyperlipidemy. *Trace elements and Electrolytes*, 2003, 20, 10-16.

19. Blois, M.S.: Antioxidant determination by the use of stable free radicals. *Nature* 1958, 4617, 1198-1200.
20. Bogin, E., Avidar, Y., Merom, M.: Biochemical changes in liver and blood during liver fattening in rats. *J. Clin. Chem. Clin. Biochem.*, 1986, 24, 621-626.
21. Bok, S.H., Lee, S.H., Park, Y.B., Bae, K.H., Son, K.H., Jeong, T.S., Choi, M.S.: Plasma and hepatic cholesterol and hepatic activities of 3-hydroxy-3-methyl-glutaryl-CoA reductase and acyl CoA: cholesterol transferase are lower in rats fed citrus peel extract or a mixture of citrus bioflavonoids. *J. Nutr.* 1999, 129, 1182-1185.
22. Bors, W., Saran, M.: Radical scavenging by flavonoid antioxidants. *Free Radic. Res. Comm.*, 1987, 2, 289-294.
23. Böyum, A.: Separation of leukocytes from blood and bone marrow. *Scand J Clin Lab Invest*, 1968, 21, 1-72.
24. Bravo, L.: Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. *Nutr. Rev.*, 1998, 56, 317-333.
25. Bruck, R., Aeed, H., Shirin, H., Matas Z, Zaidel L, Avni Y, Halpern Z.: The hydroxyl radical scavengers dimethylsulfoxide and dimethylthiourea protect rats against thioacetamide-induced fulminant hepatic failure. *J. Hepatol.* 1999, 31, 27-38.
26. Brune, M., Rossander, L., Hallberg, L.: Iron absorption and phenolic compounds: importance of different phenolic structures. *Eur. J. Clin. Nutr.* 1989, 43, 547-558.
27. Burke, M.D.: Ethoxy-, pentoxy- and benzyloxyphenoxazones and homologues: A series of substrates distinguish between different induced cytochromes P450. *Biochem. Pharmacol.* 1985, 34, 33-37.
28. But, P.P-H.: Need for correct identification of herbs in herbal poisoning. *Lancet.* 1993, 341, 637-638.
29. Butler, L.G.: Effects of condensed tannins on animal nutrition. In: Hemingway, R.W. & Karchesy, J.J. (Eds) *Chemistry and significance of condensed tannins*. Plenum Press, New York, 1989, pp. 391-402.
30. Caderni, G., De Filippo, C., Luceri, C., Salvadori M, Giannini A, Biggeri A, Remy S, Cheynier V, Dolaro P.: Effects of black tea, green tea and wine extracts on intestinal carcinogenesis induced by azoxymethane in F344 rats. *Carcinogenesis* 2000, 21, 1965.
31. Cales, P.: Mucosal lesions of the digestive tract in cirrhosis. *Acta Gastroenterol. Belgica.* 1993, 56, 169-178.
32. Canada, A.T., Giannella, E., Nguyen, T.D., Mason, R.P.: The production of reactive oxygen species by dietary flavonols. *Free Radic. Biol. Med.* 1990, 9, 441-449.
33. Cao, G., Sofic, E., Prior, R.L.: Antioxidant and prooxidant behaviour of flavonoids: structure/activity relationships. *Free Rad. Biol. Med.* 1997, 22, 749-760.
34. Cascales, A.R., Feijoo, B., Cerdán, S., Cascalas, C., Santos-Ruiz, A.: The effect of thioacetamide on urea cycle enzymes of rat liver. *J. Clin. Chem. Clin. Biochem.* 1979, 17, 129-132.
35. Castro, J.A., D'Acosta, N.F., De-Ferreyra, E.C., De Ferreyra, E.C., De Castro, C.R., Diaz Gomez, M.I., De Fenos, O.M.: Studies on thioacetamide-induced liver necrosis. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 1974, 30, 79-86.
36. Chang, C.H., Wang, Y.M., Yang, A.H., Chiang, S.S.: Rapidly progressive fibrosing interstitial renal fibrosis associated with Chinese herbal medications. *Am. J. Nephrol.* 2001, 21, 441-448.
37. Chaudhri, G., Clark, I.A., Hunt, N.H., Cowden, W.B., Ceredig, R.: Effect of antioxidants on primary alloantigen-induced T cell activation and proliferation. *J Immunol*, 1986, 137, 2646- 2652.
38. Chen, S.S., Gong, J., Liu, F.T., Mohammed, U.: Naturally occurring polyphenolic antioxidants modulate IgE-mediated mast cell activation. *Immunology*, 2000, 100, 471-480.
39. Chen, Z.L., Chen, M.F.: *A comprehensive guide to Chinese herbal medicine*. Castle Books, 1999.

40. Chiba, K., Kubota, E., Miyakawa, T., Kato, Y., Ishizaki, T.: Characterization of hepatic microsomal metabolism as an in vivo detoxication pathway of 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine in mice. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 1988, 246, 1108-1115.
41. Chieli, E., Mavalidi, G.: Role of microsomal FAD-containing monooxygenase in liver toxicity of thioacetamide-S-oxide. *Toxicology* 1984, 31, 45-52.
42. Childs, J.F.L., Siegler, E.A.: Uses of thioacetamide in agriculture. *Science (Wash DC)* 1945, 102, 68-72.
43. Chung, F.L., Schwartz, J., Herzog, C.R., Yang, Y.M.: Tea and cancer prevention: studies in animals and humans. *J. Nutr.* 2003, 133, 3268-3274.
44. Cinti, D.L., Moldeus, P., Schenkman, J.B.: Kinetic parameters of drug-metabolizing enzymes in Ca²⁺ sedimented microsomes from rat liver. *Biochem. Pharmacol.* 1972, 21, 3249-3256.
45. Ciolino, H.P., Wang, T.T., Yeh, G.C.: Diosmin and diosmetin are agonists of the aryl hydrocarbon receptor that differentially affect cytochrome P450 1A1 activity. *Cancer Res.* 1998, 58, 2754-2760.
46. Clemetson, C.A.B., Andersen: Plant polyphenols as antioxidants for ascorbic acid. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 1966, 136, 339-378.
47. Cortez-Pinto, H., Camilo, E.M.: Non-alcoholic fatty liver disease/non-alcoholic steatohepatitis (NAFLD/NASH): diagnosis and clinical course. *Best Pract. Res. Cl. Ga.*, 2004, 18, 1089-1104.
48. Cospite, M.: Double-blind, placebo-controlled evaluation of clinical activity and safety of Daflon 500 mg in the treatment of acute hemorrhoids. *Angiology.* 1994, 45, 566-573.
49. Cova, D., De Angelis, L., Giavarini, F., Palladini, G., Perego, R.: Pharmacokinetics and metabolism of oral diosmin in healthy volunteers. *Inter. J. Clin. Pharmacol. Ther. Toxicol.* 1992, 30, 29-33.
50. Crespo, M.E., Galvez, J., Cruz, T. Ocete, M.A., Zarzuelo, A.: Anti-inflammatory activity of diosmin and hesperidin in rat colitis induced by TNBS. *Planta Med.* 1999, 65, 651-653.
51. Cypriani, B., Limasset, B., Carrie, M.L., Le Doucen, C., Roussie, M., de Paulet, A.C., Damon, M.: Antioxidant activity of micronized diosmin on oxygen species from stimulated human neutrophils. *Biochem. Pharmacol.* 1993, 45, 1531-1535.
52. Damon, M., Flandre, O., Michel, F., Perdrix, L., Labrid, C., Crastes de Paulet, A.: Effect of chronic treatment with a purified flavonoid fraction on inflammatory granuloma in the rat. Study of prostaglandin E2 and F2 alpha and thromboxane B2 release and histological changes. *Arzneimittelforschung.* 1987, 37, 1149-1153.
53. Dannan, G.A., Guengerich, F.P., Waxman, D.J.: Hormonal regulation of rat liver microsomal enzymes: Role of gonadal steroids in programming, maintenance, and suppression of 4-steroid 5-reductase, flavin-containing monooxygenase, and sex-specific cytochromes P-450. *J Biol Chem* 1986, 261, 10728-10735.
54. Daniel, P.T., Holzschuh, J., Berg, P.A.: The pathogenesis of cyanidol-induced fever. *Eur. J. Clin. Pharm.*, 1988, 34, 241-247.
55. De-Ferreyra, E.C., De-Fenos, O.M. Castro, J.A.: Prevention of thioacetamide-induced liver necrosis by prior administration of substrates of microsomal flavin-containing monooxygenases. *Toxicol. Lett.* 1983, 18, 127-131.
56. Deutsches Arzneibuch, Amtliche Ausgabe (DAB 10). Deutscher Apotheker Verlag, Stuttgart, Govi-Verlag GmbH, Frankfurt a.m. /Eschborn, Germany, 1996.
57. Diez-Fernandez, C., Sanz, N., Alvarez, A.M., Zaragoza, A., Cascales, M.: Influence of aminoguanidine on parameters of liver injury and regeneration induced in rats by a necrogenic dose of thioacetamide. *Br. J. Pharmacol.* 1998, 125, 102-108.
58. Directive 2004/24/EC of the European Parliament and of the Council of 31 March 2004

59. Duan, L., Hao, J., Xie, S., Zhou, Z.: Critical loads of acidity for surface waters in China. *Sci. Total Environ.* 2000, 246, 1-10.
60. Duh, P.D., Yed, G.C.: Antioxidative activity of three herbal water extracts. *Food Chem.* 1997, 60, 639-645.
61. Duke, J. A.: *Hibiscus sabdariffa* L. Handbook of Energy Crops. 1983.
62. Dworschák, E., Lugasi, A., Blázovics A.: Antioxidáns vitaminok egészségvédő hatása az újabb emberi megfigyelések tükrében. *Fitoterápia*, 1999, 4, 3-6.
63. Edzard, E.: Toxic heavy metals and undeclared drugs in Asian herbal medicines. *TRENDS Pharmacol. Sci.* 2002, 23, 136-139.
64. El-Hawari, A.M., Plaa, G.L.: Potentiation of thioacetamide-induced hepatotoxicity in alloxan- and streptozotocin-diabetic rats. *Toxicol. Lett.* 1983, 17, 293-300.
65. Fairweather-Tait, S.J., Piper, Z., Fatemin, S.J.A., Moore G.R.: The effect of tea on iron and aluminium metabolism in the rat. *Brit. J. Nutr.*, 1991, 65, 61-68.
66. Farnsworth, N.R., Akerele, O., Bingel, A.S., Soejarto, D.D., Guo, Z.: Medical plants in therapy. *Bull. World Health Organ.* 1985, 63, 965-981.
67. Fehér, J., Lengyel, G. (szerk.): *Hepatológia*. Medicina Kiadó, Budapest, 2001.
68. Fehér, J., Lengyel, G., Blázovics, A.: Oxidative stress in the liver and biliary tract diseases. *Scand. J. Gastroenterol.* 1998, 33, 38-46.
69. Fehér, J., Vereckei, A.: *Szabadgyök-reakciók jelentősége az orvostudományban*. Medicina, Budapest. 1985.
70. Fidelus, R.K.: The generation of oxygen radicals: a positive signal for lymphocyte activation. *Cell Immunol.*, 1988, 113, 175-182.
71. Fitzhugh, O.G., Nelson, A.A.: Liver tumors in rats fed thiurea or thioacetamide. *Science* 1948, 108, 626-628.
72. Galati, E.M., Monforte, M.T., Kirjavainen, S., Forestieri, A.M., Trovato, A., Tripodo, M.M.: Biological effects of hesperidin, a citrus flavanoid (note I): anti-inflammatory and analgesic activity. *Farmaco* 1994, 49, 709-712.
73. Galati, G., Sabzevari, O., Wilson, X.J., O'Brien, J. P.: Prooxidant activity and cellular effects of the phenoxyl radicals of dietary flavonoids and other polyphenolics. *Toxicol.* 2002, 177, 91-104.
74. Galati, G., Teng, S., Moridani, M.Y., Chan, T.S., O'Brien, P.J.: Cancer chemoprevention and apoptosis mechanisms induced by dietary polyphenolics. *Drug Metab. Drug Interact.* 2000, 17, 311-349.
75. Galisteo, M., Suarez, A., del Pilar Montilla, M., del Pilar Utrilla, M., Jimenez, J., Gil, A., Faus, M.J., Navarro, M.: Antihepatotoxic activity of *Rosmarinus tomentosus* in a model of acute hepatic damage induced by thioacetamide. *Phytoter. Res.* 2000, 14, 522-526.
76. Gartner, E., Marschall, P.S., Filandrinos, D., Potek, A.S., Smith, T.M.: Complications resulting from the use of Chinese herbal medications containing undeclared prescription drugs. *Arthritis Rheum.* 1993, 38, 614-617.
77. Gawrieh, S., Opara, E.C., Koch, T.R.: Oxidative stress in nonalcoholic fatty liver disease: pathogenesis and antioxidant therapies. *J. Investigative Med.*, 2004, 52, 506-514.
78. Geleijnse, J.M., Launer, L.J., Hofman, A., Pols, H.A., Witteman, J.C.: Tea flavonoids may protect against atherosclerosis: the Rotterdam Study. *Arch. Intern. Med.* 1999, 159, 2170-2174.
79. Ghyczy, M., Torday, C., Boros, M.: Simultaneous generation of methane, carbon dioxide, and carbon monoxide from choline and ascorbic acid: a defensive mechanism against reductive stress? *FASEB J.* 2003, 17, 1124-1126.
80. Goldman, R., Claycamp, G.H., Sweetland, M.A., Sedlov, A.V., Tyurin, V.A., Kisin, E.R., Tyurina, Y.Y., Ritov, V.B., Wenger, S.L., Grant, S.G., Kagan, V.E.: Myeloperoxidase-catalyzed redox-cycling of phenol promotes lipid peroxidation and thiol oxidation in HL-60 cells. *Free Radic. Biol. Med.* 1999, 27, 1050-1063.

81. Gonzalez, F.J., Gelboin, H.V.: Role of human cytochromes P450 in the metabolic activation of chemical carcinogens and toxins. *Drug Metab. Rev.* 1994, 26, 165-183.
82. González-Cabello, R., Perl, A., Kalmár, L., Gergely, P.: Short-term stimulation of lymphocyte proliferation by indomethacin in vitro and in vivo. *Acta Physiol Hung*, 1987, 70, 25-30.
83. Görög, S.: Gyógyszeranalitika és gyógyszerbiztonság, Magyar Tudomány, 1997, 1025-1036.
84. Greim, H.: Synthesesteigerung und abbauehemmung bei der vermehrung der mikrosomalen cytochrome P450 und b-5 durch phenobarbital. *Naunyn-Schmiedebergs Arch. Pharmak.* 1970. 266, 261-275.
85. Guil-Guerrero, J.L., Giménez Martínez, J.J., Torija Isasa, M.E.: Mineral Nutrient Composition of edible Wild Plants, *J. Food Comp. Anal.* 1998, 11, 322-328.
86. Hagymási, K., Kocsis, I., Lugasi, A., Fehér, J., Blázovics, A.: Extrahepatic biliary obstruction: Can sylimarin protect liver function? *Phytother. Res.* 2001, 15, 1-3.
87. Halliwell, B.: Antioxidants: The basic – what they are and how to evaluate them. *Adv. Pharmacol.* 1997, 38, 3-20.
88. Harborne, J.B.: Flavonoids in the environment: structure-activity relationship. In: *Plant Flavonoids in Biology and Medicine: Biochemical, Pharmacological and Structure-Activity Relationship*, New York, Alan R Liss, 1986.
89. Harborne, J.B.: Nature, distribution and function of plant flavonoids. In: *Plant Flavonoids in Biology and Medicine: Biochemical, Pharmacological and Structure-Activity Relationship*, New York, Alan R Liss, 1986.
90. Hatano, T., Kagawa, H., Yasuhara, T., Okuda, T.: Two new flavonoids and other constituents in licorice root: their relative astringency and radical scavenging effects. *Chem. Pharm. Bull.* 1988, 36, 2090-2097.
91. Heinecke, J.W., Li, W., Francis, G.A., Goldstein, J.A.: Tyrosyl radical generated by myeloperoxidase catalyses the oxidative cross-linking of proteins. *J. Clin. Invest.* 1993, 91, 437-444.
92. Hertog, M.G.L., Feskens, E.J.M., Hollman, P.C.H., Katan, M.B., Kromhout, D.: Dietary antioxidant flavonoids and risk of coronary heart disease. The Zutphen Elderly Study. *Lancet.* 1993, 342, 1007-1011.
93. Héthelyi, B.É., Szabó, L.Gy., Rapavi, E., Domokos, J., Blázovics, A.: Tényeken alapuló orvoslás a fitoterápiában. *Olaj, Szappan, Kozmetika*, 2001, 50, 67-76.
94. Hildeman, D.A.: Regulation of T-cell apoptosis by reactive oxygen species. *Free Radical Biology & Medicine*, 2004, 36, 1496–1504.
95. Hirano, T., Oka, E., Kawashima, E., Akiba, M.: Effects of synthetic and naturally occurring flavonoids on mitogen-induced proliferation of human peripheral-blood lymphocytes. *Life Sci.* 1989, 45, 1407-1411.
96. Hodek, P., Trefil, P., Stiborová, M.: Flavonoids-potent and versatile biologically active compounds interacting with cytochromes P450. *Chem. Biol. Interact.* 2002, 139, 1-21.
97. Hodnick, W.F., Milosavljevic, E.B., Nelson, J.H., Pardini, R.S.: Electrochemistry of flavonoids. Relationships between redox potentials, inhibition of mitochondrial respiration, and production of oxygen radicals by flavonoids. *Biochem. Pharmacol.*, 1988, 37, 2607-2611.
98. Hollman, P.C.H., Katan, M.B.: Dietary flavonoids: intake, health effects and bioavailability. *Food Chem. Toxicol.* 1999, 37, 937-942.
99. Honohan, T., Hale, R.L., Brown, J.P., Wingard, R.E.J.: Synthesis and metabolic fate of hesperetin-3-¹⁴C. *J. Agric. Food Chem.* 1976, 24, 906-911.
100. Hunter, A.L., Holscher, M.A., Neal, R.A.: Thioacetamide-induced hepatic necrosis. I. Involvement of the mixed-function oxidase enzyme system. *J. Pharmacol. Experiment. Ther.* 1977, 200, 439-448.

101. Hunter, A.L., Neal, R.A.: Inhibition of hepatic mixed-function oxidase activity *in vitro* and *in vivo* by various thiono-sulfur-containing compounds. *Biochem Pharmacol.* 1975, 24, 2199-2205.
102. Hurrell, R.F., Reddy, M., Cook, J.D.: Inhibition of non-haem iron absorption in man by polyphenolic-containing beverages. *Br. J. Nutr.* 1999, 81, 289.
103. Huynh, H.T., Teel, R.W.: Effects of plant-derived phenols on rat liver cytochrome P450 2B1 activity. *Anticancer Res.* 2002, 22, 1699-1703.
104. Jaeschke, H.: Reactive oxygen and mechanisms of inflammatory liver injury. *J. Gastroenterol. Hepatol.* 2000, 15, 718-724.
105. Jantet, G.: Chronic venous insufficiency: worldwide results of the RELIEF study. Reflux assessment and quality of life improvement with micronized flavonoids. *Angiology*, 2002, 53, 245-256.
106. Johnson, I.T.: Anticarcinogenic effects of diet-related apoptosis in the colorectal mucosa. *Food Chem. Toxicol.* 2002, 40, 1171-1178.
107. Justesen, U., Arrigoni, E., Larsen, B.R., Amadó, R.: Degradation of flavonoid glycosides and aglycones during *in vitro* fermentation with human faecal flora. *Lebensmittel Wissenschaft und Technologie*, 2000, 424-430.
108. Kabelitz, L.: Heavy metals in herbal drugs. *Eur. J. Herb. Med.* 1998, 4, 25-29.
109. Kahkonen, M.P., Heinonen, M.: Antioxidant activity of anthocyanins and their aglycons. *J Agric Food Chem.*, 2003, 51, 628–633.
110. Kakumu, S., Murakami, H., Kuriki, J.: Activation of suppressor function of human peripheral blood T-cells by (+) cyanidanol-3: its application to chronic active liver diseases. *Clin. Exp. Immunol.* 1983, 52, 430-436.
111. Kállai, L.: Laborállat-ismeretek. 4. Számok és törvények. *Magyar Állatorvosok Lapja* 2001, 123, 173-179.
112. Kataba-Pendias, A., Pendias, H.: Trace elements in soils and plants. 3. ed., CRC Press, Boca Raton, Florida
113. Kawaguchi, K., Mizuno, T., Aida K., Uchino, K.: Hesperidin as an inhibitor of lipases from porcine pancreas and *Pseudomonas*. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 1997, 61, 102-104.
114. Keli, S.O., Hertog, M.G.L., Feskens, E.J.M., Kromhout, D.: Dietary flavonoids, antioxidant vitamins and incidence of stroke: the Zutphen Elderly Study. *Arch. Intern. Med.* 1996, 154, 637-642.
115. Khan, S., O'Brien, P.J.: Modulating hypoxia-induced hepatocyte injury by affecting intracellular redox state. *Biochem. Biophys. Acta* 1995, 1269, 153-161.
116. Kim, H.K., Jeong, T.S., Lee, M. K., Park, Y.B., Choi, M.S.: Lipid-lowering efficacy of hesperetin metabolites in high-cholesterol fed rats. *Clin. Chim. Acta*, 1999, 327, 129-137.
117. Kocsis, I., Szentmihályi, K., Rapavi, E., Hubay, M., Kéry, A., Bányai, E., Szőke, E., Blázovics, A.: Effect of cichorium intybus (L.) extract on the redox balance and metal ion content of fatty liver in hyperlipidemic rats. *Trace Elem. Electro.* 2004, 21, 262-268.
118. Kong, A.N., Yu, R., Chen, C., Mandlekar, S., Primiano, T.: Signal transduction events elicited by natural products: role of MAPK and caspase pathways in homeostatic response and induction of apoptosis. *Arch. Pharm. Res.*, 2000, 23, 1-16.
119. Korthuis, R.I., Gute, D.C.: Postischemic leukocyte/endothelial cell interactions and microvascular barrier disruption in skeletal muscle: cellular mechanism and effect of Daflon 500 mg. *Int. J. Microcirc. Clin. Exp.* 1997, 17, 11-17.
120. Kurowska, E.M., Spence, J.D., Jordan, J.D., Wetmore, S., Freeman, D.J., Piche, L.A., Serratore, P.: HDL-cholesterol-raising effect of orange juice in subjects with hypercholesterolemia. *Am. J. Clin. Nutr.* 2000, 72, 1095-1100.
121. Labrid, C., Duhault, J., Vix, C.: Pharmacologic properties of Daflon 500 mg. *Le Journal International de Medicine.* 1987, Suppl. au n° 85., 1-13.

122. Lahouel, M., Boulkour, S., Segueni, N., Fillastre, J.P.: The flavonoids effect against vinblastine, cyclophosphamide and paracetamol toxicity by inhibition of lipid-peroxydation and increasing liver glutathione concentration. *Pathol. Biol. (Paris)*. 2004, 52, 314-322.
123. Larsen-Su, S., Williams, D.E.: Dietary indole-3-carbinol inhibits FMO activity and the expression of flavin-containing monooxygenase form 1 in rat liver and intestine. *Drug Metab. Dispos.* 1996, 24, 927-931.
124. Lee, S.H., Jeong, T.S., Park, Y.B., Kwon, Y.K., Choi, M.S., Bok, S.H.: Hypocholesterolemic effect of hesperetin mediated by inhibition of 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase and acyl coenzyme A: cholesterol acyl transferase in rats fed high-cholesterol diet. *Nutr. Res.* 1999, 19, 1245-1258.
125. Lemberkovics, É., Czinner, E., Szentmihályi, K., Balázs, A., Szőke, É.: Comparative evaluation of *Helichrysi flos* herbal extracts as dietary sources of plant polyphenols, and macro- and microelements. 2002, 78, 119-127.
126. Leung, A.Y.: Chinese medicinals. In: *Advances in new crops*. Janick J., Simon J.E., (Eds) *Advances in new crops*. Timber Press, Portland, OR. 1999, 499-510.
127. Longstaff, M.A., McNab, J.M.: The effect of concentration of tannin-rich bean hulls (*Vicia faba* L.) on activities of lipase (EC 3.1.1.3) and α -amylase (EC 3.2.1.1) in digesta and pancreas and on the digestion of lipid and starch by young chicks. *Br. J. Nutr.* 1991, 66, 139-147.
128. Los, M., Droge, W., Stricker, K., Baeuerle, P. A., Schulze Osthoff, K.: Hydrogen peroxide as a potent activator of T lymphocyte functions. *Eur J Immunol.* 1995, 25, 159-165.
129. Lowry, S.H., Rosenbrough, N.J., Farr, A.L., Randall, R.J.: Protein measurement with the Folin-phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, 1951, 193, 265-275.
130. Luckner, M.: *Secondary metabolism in plants and animals*. Chapman & Hall, London. 1972.
131. Lugasi, A., Blázovics, A.: *Az egészséges táplálkozás tudományos alapjai*. 4. számú útmutató az egészség megőrzéséhez. Budapest, 2003. ISBN 9632100387, ISSN 1589-7060, 25., 57-59.
132. Lugasi, A.: Az élelmiszer eredetű flavonoidok potenciális egészségvédő hatása. *Orv. Hetil.* 2000, 32, 1751-1760.
133. Mangipudy, R.S., Chanda, S., Mehendale, H.M.: Tissue repair response as a function of dose in thioacetamide hepatotoxicity. *Environment. Health Perspectiv.* 1995, 103, 260-267.
134. Manthey, J.A.: Biological properties of flavonoids pertaining to inflammation. *Microcirculation.* 2000, 7, S29-34.
135. Manuel, Y., Keenoy, B., Vertommen, J., De Leeuw, I.: The effect of flavonoid treatment on the glycation and antioxidant status in Type 1 diabetic patients. *Diabetes Nutr. Metab. Clin. Exp.* 1999, 12, 256-263.
136. Masters, B.S.S., Jr. Williams, C.H., Kamin, H.: The preparation and properties of microsomal TPNH-cytochrome c reductase from pig liver. *Methods in Enzymology* 1967, 10, 565-573.
137. Masumi, S., Moriyama, M., Kannan, Y., Ohta, M., Koshita, O., Sawamoto, O., Toyoshima, S., Ishikawa, K., Miyoshi, M., Sugano, T.: Characteristics of nitrogen metabolism in rats with thioacetamide-induced liver cirrhosis. *Toxicol.* 1999, 132, 155-166.
138. Matkovics, B., Szabó, L., Sz. Varga, I.: Lipid peroxidáció és redukált glutation anyagcsere enzimek aktiválásmeghatározása biológiai mintákban. *Lab. Diagn.*, 1988, 15, 248-250.
139. Melin, A.M., Perromat, A., Clerc, M.: In vivo effect of diosmin on carrageenan and CCl4-induced lipid peroxidation in rat liver microsomes. *J. Biochem. Toxicol.* 1996, 11, 27-32.

140. Mengel, K.: A növények táplálkozása és anyagcseréje. Mezőgazdasági Kiadó, Budapest
141. Meyer, O.C.: Safety and security of Daflon 500 mg in venous insufficiency and in hemorrhoidal disease. *Angiology*. 1994, 45, 579-584.
142. Middleton, E., Kandaswami, C.: Effects of flavonoids on immune and inflammatory cell functions. *Biochem. Pharmacol.*, 1992, 43, 1167-1179.
143. Miwa, Y., Yamada, M., Sunayama, T., Mitsuzumi, H., Tsuzaki, Y., Mishima, Y., Kibata, M.: Effects of glucosyl hesperidin on serum lipids in hyperlipidemic subjects: preferential reduction in elevated serum triglyceride level. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.* 2004, 3, 211-218.
144. Miyagi, Y., Om, A.S., Chee, K.M., Bennink, M.R.: Inhibition of azoxymethane-induced colon cancer by orange juice. *Nutr. Cancer*. 2000, 36, 224-229.
145. Miyake, Y., Yamamoto, K., Tsujihara, N., Osawa, T.: Protective effects of lemon flavonoids on oxidative stress in diabetic rats. *Lipids*. 1998, 33, 689-695.
146. Moller, B., Dargel, R.: Functional impairment of mitochondria from rat livers acutely injured by thioacetamide. *Exp. Pathol.* 1985, 28, 55-57.
147. Morazzoni, P., Malandrino, S.: Anthocyanins and their aglycons as scavengers of free radicals and antilipoperoxidant agents. *Pharmacol. Res. Comm.*, 1988, 20, 254.
148. Moreira, E., Fontana, L., Periago, J.L., Sanchez De Medina, F., Gil, A.: Changes in fatty acid composition of plasma, liver microsomes, and erythrocytes in liver cirrhosis induced by oral intake of thioacetamide in rats. *Hepatology*. 1995, 21, 199-206.
149. Morel, I., Lescoat, G., Cogrel, P., Sergent, O., Padeloup, N., Brissot, P., Cillard, P., Cillard, J.: Antioxidant and iron chelating activities of the flavonoids catechin, quercetin and diosmetin on iron-loaded rat hepatocyte cultures. *Biochem. Pharmacol.* 1993, 45, 13-19.
150. Morton, J.: Roselle. In: *Fruits of warm climates*. Miami, 1987, 281-86.
151. Nakamura, H., Nakamura, K., Yodoi, J.: Redox regulation of cellular activation. *Annu Rev Immunol*, 1997, 15, 351-369.
152. Nelson, D.R., Koymans, L., Kamataki, T., Stegeman, J.J., Feyereisen, R., Waxman, D.J., Waterman, M.R., Gotoh, O., Coon, M.J., Estabrook, R.W., Gunsalus, I.C., Nebert, D.W.: P450 superfamily: update on new sequences, gene mapping, accession numbers and nomenclature. *Pharmacogenetics* 1996, 6, 1-42.
153. Nikaido, T., Ohmoto, T., Sankawa, U., Hamanaka, T., Totsuka, K.: Inhibition of cyclic AMP phosphodiesterase by flavonoids. *Planta Med.* 1982, 46, 162-166.
154. Niki, E., Noguchi, N., Tsuchihashi, H., Gotoh, N.: Interaction among vitamin C, vitamin E and beta-carotene. *Am. J. Clin. Nutr.* 1995, 62, 1322S-1326S.
155. Noda, S., Masumi, S., Moriyama, M., Kannan, Y., Ohta, M., Sugano, T., Yamate, J.: Population of hepatic macrophages and response of perfused liver to platelet-activating factor during production of thioacetamide-induced cirrhotic in rats. *Hepatology*. 1996, 24, 412-418.
156. Novogrodsky, A., Ravid, A., Rubin, A.L., Stenzel, K. H.: Hydroxyl radical scavengers inhibit lymphocyte mitogenesis. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1982, 79, 1171-1174.
157. Obermeier, M.T., White, R.E., Yang, C.S.: Effects of bioflavonoids on hepatic P450 activities. *Xenobiotica* 1995, 25, 575-584.
158. Ogasawara, H., Fujitani, T., Drzewiecki, G., Middleton, Jr. E.: The role of hydrogen peroxide in basophil histamine release and the effect of selected flavonoids. *J Allergy Clin Immunol.* 1986, 78, 321-328.
159. Ohashi, Monte, T.: *Testról olvasás*. Bioenergetic Kiadó. Budapest, 2002, 21-25.
160. Ortega, M.A., Torres, M.I., Fernandez, M.I., Rios, A., Sánchez-Pozo, A., Gil, A.: Hepatotoxic agent thioacetamide induces biochemical and histological alterations in rat small intestine. *Dig. Dis. Sci.* 1997, 42, 1715-1723.

161. Osada, J., Aylagas, H., Miró-Obradors, M.J., Palacios-Alaiz, E.: Alterations in lipid characteristic of lysosomers are involved in liver necrosis induced by thioacetamide. *Biol. Chem. Hoppe-Seyler* 1993, 374, 129-132.
162. Osimitz, T.G., Kulkarni, A.P.: Oxidative metabolism of xenobiotics during pregnancy: Significance of microsomal flavin-containing monooxygenase. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1982, 109, 1164-1171.
163. Oustrin, J., Fauran, M.J., Commanay, L.: A pharmacokinetic study of 3H-diosmine. *Arzneimittelforschung*, 1977, 27, 1688-1691.
164. Oyaizu, M.: Studies on products of browning reaction prepared from glucosamine. *Jpn. J. Nutr.* 1986, 44, 307-315.
165. Padberg, F., Cerveira, J.J., Lal, B.K., Pappas, J.P., Varma, S., Hobson, W.R.: Does severe venous insufficiency have a different etiology in the morbidly obese? Is it venous? *J. Vasc. Surg.* 2003, 37, 79-85.
166. Paglia, D.E., Valentine, W.N.: Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *J Lab Clin Med.* 1967, 70, 158-169.
167. Palmer, H.J., Paulson, K.E.: Reactive oxygen species and antioxidants in signal transduction and gene expression. *Nutr. Rev.* 1997, 55, 336-342.
168. Perego, R., Beccaglia, P., Angelini, M., Villa, P., Cova, D.: Pharmacokinetic studies of diosmin and diosmetin in perfused rat liver. *Xenobiotica.* 1993, 23, 1345-1352.
169. Pessayre, D., Berson, A., Fromenty, B., Mansouri, A.: Mitochondria in steatohepatitis. *Semin. Liver Dis.* 2001, 21, 57-69.
170. Pignol, B., Etienne, A., Crastes de Paulet, A., Deby, C., Mencia-Huerta, J.M., Braquet, P.: Plant flavonoids in biology and medicine. II: Biochemical, cellular and medicinal properties, Cody, V. és mtsai (Eds), Alan R. Liss, New York, 1988, 173-182.
171. Pike, M.G., Mays, D.C., Macomber, D.W., Lipsky, J.J.: Metabolism of a disulfiram metabolite, S-methyl N,N-diethylthiocarbamate, by flavin monooxygenase in human renal microsomes. *Drug Metab. Dispos.* 2001, 29, 127-132.
172. Porter, W.R., Neal, R.A.: Metabolism of thioacetamide and thioacetamide S-oxide by rat liver microsomes. *Drug. Metab. Dispos.* 1978, 6, 379-388.
173. Prechl, J., Somogyi, A., Pusztai, P., Kocsis, I., Blázovics, A., Boros, I., Fehér, J.: Szabadgyökös reakciók vizsgálata streptozotocinnal kezelt fiatal patkányokban. *Orv. Hetil.* 1996, 137, 979-982.
174. Price, J.F., Fowkes, F.G.R.: Antioxidant vitamins in the prevention of cardiovascular disease: the epidemiological evidence. *Eur. Heart. J.* 1997, 18, 719-727.
175. Pyles, I.A., Strejskal, J., Einzig, S.: Spectrophotometric measurement of plasma 2-thiobarbituric acid-reactive substances in the presence of hemoglobin and bilirubin interference. *Proc Soc Exp Biol Med* 1993, 4, 407-419.
176. Rapavi E., Blázovics A., Fehér J.: A gyógynövények szerepe az ősi Kína gyógyászatában. *Orv. Hetil.* 2000. 141, 2093-2096.
177. Rapavi, E., Blázovics, A.: Kínai gyógynövenytudomány dióhéjban. *Fitoterápia*, 1, 18-23. 2000.
178. Rapavi, E.: Az antioxidánsok szerepe és jelentősége a betegségek megelőzésében és gyógyításában. *Gyógyszerészet*, 45, 314-320. 2001.
179. RDA: Recommended Dietary Allowances. 10th ed., National Academy, Press N.W. Washington D.C., 1989.
180. Rechner, a.R., Kuhnle, G., Bremmer, P., Hubbard, G.P., Moore, K.P., Rice-Evans, C.A.: The metabolic fate of dietary polyphenols in humans. *Free Rad. Biol. Med.* 2002, 33, 230-235.
181. Reinke, L.A., Moyer, M.J.: p-Nitrophenol hydroxylation: a microsomal oxidation which is highly inducible by ethanol. *Drug Metab. Dispos.* 1985. 13. 548-552.
182. Robak, J., Gryglewski, R.J.: Flavonoids are scavengers of superoxide anions. *Biochem. Pharmacol.* 1987, 36, 317-322.

183. Ruzsnyák, S., Szent-Györgyi, A.: Vitamin nature of flavones. *Nature*, 1936, 138, 798.
184. Ryu, S.D., Chung, W.G.: Induction of the procarcinogen-activating CYP1A2 by a herbal dietary supplement in rats and humans. *Food Chem. Toxicol.* 2003. 41. oldal
185. Salah, N., Miller, N.J., Paganga, G., Tijburg, L., Bolwell, G.P., Rice-Evans, C.: Polyphenolic flavanols as scavengers of aqueous phase radicals and as chain-breaking antioxidants. *Arch. Biochem. Biophys.* 1995, 322, 339–346.
186. Santus, R., Perdrix, L., Haigle, J., Morliere, P., Maziere, J. C., Maziere, C., Labrid, C.: Daflon^R as a cellular antioxidant and a membrane-stabilizing agent in human fibroblasts irradiated by ultraviolet A radiation. *Photodermatol. Photoimmunol. Photomed.* 1991, 8, 200-205.
187. Sarhan, S., Knödgen, B., Grauffel, C., Seiler, N.: Effects of inhibition of ornithine aminotransferase on thioacetamide-induced hepatogenic encephalopathy. *Neurochem. Res.* 1993, 18, 539-549.
188. Scalbert, A., Williamson, G.: Dietary intake and bioavailability of polyphenols. *J. Nutr.* 2000, 130, (Suppl 8S), 2073S-2085.
189. Schafer, F.Q., Buettner, G.R.: Redox environment of the cell as viewed through the redox state of the glutathione disulfide/glutathione couple. *Free Rad. Biol. Med.* 2001, 30, 1191-1212.
190. Schreck, R., Albermann, K., Baeuerle, P.A.: Nuclear factor kappa B: an oxidative stress-response transcription factor of eukaryotic cells. *Free Radic. Res. Commun.* 1992, 17, 221-237.
191. Schulze-Osthoff, K., Bauer, M.K., Vogt, M., Wesseborg, S.: Oxidative stress and signal transduction. *J. Vit. Nutr. Res.*, 1997, 67, 336-342.
192. Sedlak J., Lindsay, R.H.: Estimation of total, protein bound and non protein sulfhydryl groups in tissues with Ellmann's reagent. *Anal. Biochem.*, 1968, 25, 192-205.
193. Sergediene, E., Jönsson, K., Szymusiak, H., Tyrakowska, B., Rietjens, I.M.C.M., Cenas, N.: Prooxidant toxicity of polyphenolic antioxidants to HL-60 cells: description of quantitative structure-activity relationships. *FEBS Lett.* 1999, 462, 392-396.
194. Shahidi, F., Wanasundara, P.K.J.P.D.: Phenolic antioxidants. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 1995, 61, 549-554.
195. Shaw, D., Leon, C., Kolev, S., Murray, V.: Traditional remedies and food supplements. A 5-year toxicological study (1991-1995). *Drug Safety*, 1997, 5, 342-356.
196. Shimada, K., Fujikawa, K., Yahara, K., Nakamura, T.: Antioxidative properties of xanthan on the autoxidation of soybean oil in cyclodextrin emulsion. *J. Agric. Food Chem.* 1992, 40, 945-948.
197. Sidó, Z.: Korunk epidémiája: az elhízás. *LAM* 2003, 13, 541-545.
198. Sigel, A., Sigel, M.: Metal ions in biological systems. Marcel Dekker, Basel, 1999.
199. Sittig, M.: Handbook of Toxic and Hazardous Chemicals and Carcinogens 2nd ed. pp 856-879, Noyes Publications, Park Ridge, NJ. 1985.
200. Sréter L.: A táplálkozás szerepe a daganatos betegségek kialakulásában és megelőzésben. *Orv. Hetil.* 1999, 41, 2275-2283.
201. Stohs, S.J., Bagchi, D.: Oxidative mechanisms in the toxicity of metal ions. *Free Rad. Biol. Med.* 1995, 18, 321-336.
202. Sun, F., Hayami, S., Ogiri, Y., Haruna, S., Tanaka, K., Yamada, Y., Tokumara, S., Kojo, S.: Evaluation of oxidative stress based on lipid hydroperoxide, vitamin C and vitamin E during apoptosis and necrosis caused by thioacetamide in rat liver. *Biochim et Biophys Acta.* 2000, 1500, 181-185.
203. Suzuki, Y.J., Forma H.J., Sevanian, A.: Oxidants as stimulator of signal transduction. *Free. Rad. Biol. Med.*, 1997, 22, 269-285.
204. Szentmihályi, K., Then, M.: Study of the constituents on mineral elements and biologic active substances and their extraction in some plants. *J. Oil Soap Cosmetics.*, 1999, 48, 173-176.

205. Szőke, É., Kéry, Á. (szerk): Farmakognózia (gyakorlati jegyzet), SE, GYOK Gyógynövény és Drogismereti Intézet. 2000. pp. 99-100.
206. Tai, Y-T., But, P.P-H., Young, K., Lau, C-P., Jadoul, M., De Plaen, J.F., Cosyns, J.P. & van Ypersele de Stribou, C.: Adverse effects from traditional Chinese medicine. *Lancet* 1993, 341, 892-893.
207. Tanaka, T., Makita, H., Kawabata, K., Mori, H., Kakumoto, M. Satoh, K., Hara, A., Sumida, T., Tanaka, T., Ogawa, H.: Chemoprevention of azoxymethane-induced rat colon carcinogenesis by the naturally occurring flavonoids, diosmin and hesperidin. *Carcinogenesis*. 1997, 18, 957-965.
208. Tanaka, T., Makita, H., Ohnishi, M., Kawabata, K., Mori, H., Kakumoto, M. Satoh, K., Hara, A., Sumida, T., Fukutani, K., Tanaka, T., Ogawa, H.: Chemoprevention of 4-nitroquinoline 1-oxide-induced oral carcinogenesis in rats by flavonoids diosmin and hesperidin, each alone and in combination. *Cancer Res*. 1997, 57, 246-252.
209. Ted J.Kaptchuk: Évezredek hagyománya: A kínai orvostudomány. Magyar Akupunktúra és Moxatherápiás Egyesület, Budapest, 1992. 73-74.,77-78.
210. Teel, R.W., Huynh, H.T.: Modulation by phytochemical of cytochrome P450-linked enzyme activity. *Cancer Lett*. 1998, 133, 135-141.
211. The United States Pharmacopoeia 24, USP Convention Inc., Rockville, 2000.
212. Tirkey, N., Pilkhwai, S., Kuhad, A., Chopra, K.: Hesperidin, a citrus bioflavonoid, decreases the oxidative stress produced by carbon tetrachloride in rat liver and kidney. *BMC Pharmacol*. 2005, 31, 5:2
213. Torres-Lopez, M.I., Fernandez, I., Fontana, L., Gil, A., Rios, A.: Influence of dietary nucleotides on liver structural recovery and hepatocyte binuclearity in cirrhosis induced by thioacetamide. *Gut*. 1996, 38, 260-264.
214. Torres-Lopez, M.I., Fernandez, I., Gil, A., Ríos, A.: Dietary nucleotides have cytoprotective properties in rat liver damaged by thioacetamide. *Life Sciences* 1998, 62, 13-22.
215. Tóthpál Demeter, E.: 10 pontban a gyógynövényekről. M&H Communications cég tanulmánya
216. Tsai, P.J., McIntosh, J., Pearce, P., Camden, B., Jordan, B.R.: Anthocyanin and antioxidant capacity in Roselle (*Hibiscus Sabdariffa* L.) extract. *Food Res. Int.*, 2002, 35, 351–356.
217. Tseng, T.H., Kao, T.W., Chu, C.Y., CHOU, F.P., LIN, W.L., WANG, C.J.: Induction of apoptosis by Hibiscus protocatechuic acid in human leukemia cells via reduction of retinoblastoma (RB) phosphorylation and Bcl-2 expression. *Biochem. Pharmacol*. 2000, 60, 307-315.
218. Tseng, T.H., Kao, T.W., Chu, C.Y., Chou, F.P., Lin Wu, H.W., Wang, C.J.: Protective effects of dried flower extracts of *Hibiscus sabdariffa* L. against oxidative stress in rat primary hepatocytes. *Food Chem. Toxicol*. 1997, 35, 1159-1164.
219. Tynes, R.E., Hodgson, E.: Oxidation of thiobenzamide by the FAD-containing and cytochrome P-450-dependent monooxygenases of liver and lung microsomes. *Biochem Pharmacol* 1983, 22, 3419-3428.
220. Urbán I. Saáry K.: Qi, avagy az életerő megőrzésének ősi, kínai módjai. Budapest, Spring Kiadó és Nyomda, 1990. 64-79.,103-108.
221. Vadi, H.V., Neal, R.A.: Microsomal activation of thioacetamide-S-oxide to a metabolite(s) that covalently binds to calf thymus DNA and other polynucleotides. *Chem. Biol. Interact*. 1981, 35, 25-38.
222. Vági, E., Rapavi, E., Hadolin, M., Vásárhelyiné Perédi, K., Balázs, A., Blázovics, A., Simándi, B.: Phenolic and Triterpenoid Antioxidants from *Origanum majorana* L. Herb and Extracts Obtained with Different Solvents *J. Agric. Food Chem*. 2005, 53, 17-21.
223. Varró, V. (szerk.): *Gastroenterologia. Medicina*, 1998.
224. VII. Magyar Gyógyszerkönyv, Medicina Press, Budapest, 1992.

225. Villa, P., Cova, D., De Francesco, L., A. Guaitani, G. Palladini, R. Perego.: Protective effect of diosmetin on in vitro cell membrane damage and oxidative stress in cultured rat hepatocytes. *Toxicol.* 1992, 73, 179-189.
226. Wang, C., Wang, J., Lin, W., Chu, C., Chou, F. & Tseng, T.: Protective effect of hibiscus anthocyanins against tert-butyl hydroperoxide-induced hepatic toxicity in rats. *Food Chem. Toxicol.* 2000, 38, 411-416.
227. Wang, T., Shankar, K., Ronis, J.J.M., Mehendale, H.M.: Potentiation of thioacetamide liver injury in diabetic rats is due to induced CYP2E1. *Pharmacol. Exper. Ther.* 2000, 294, 473-479.
228. Warnet, J.M., Christen, M.O., Thevenin, M., Biard, D., Jacqueson, A., Claude, J.R.: Protective effect of anethol dithiolthione against acetaminophen hepatotoxicity in mice. *Pharmacol. Toxicol.* 1998, 65, 63-64.
229. Wilcox, L.J., Borradaile, N.M., De Dreu, L.E., Huff, M.W.: Secretion of hepatocyte apoB is inhibited by the flavonoids, naringenin and hesperetin, via reduced activity and expression of ACAT2 and MTP. *J. Lipid. Res.* 2001, 42, 725-734.
230. Williams, J.R., Spencer, P.E.J., Rice-Evans, C.: Flavonoids: antioxidants or signalling molecules? *Free Rad. Biol. Med.*, 2004, 36, 838-849.
231. World Health Organisation: Obesity, Preventing and managing the global epidemic. Report of WHO Consultation on Obesity. WHO, Geneva
232. Wuguo, D., Xingwang, F., Jilan, W.: Flavonoids function as Antioxidants: by scavenging reactive oxygen species or by chelating iron? *Radiat. Phys. Chem.* 1997, 50, 271-276.
233. Yang, C.S., Brady, J.F., Hong, J.-Y.: Dietary effects on cytochromes P450, xenobiotic metabolism, and toxicity. *FASEB J.*, 1992, 6, 737-744.
234. Yoshino, M., Haneda, M., Naruse, M., Murakami, K.: Prooxidant activity of flavonoids: copper-dependent strand breaks and the formation of 8-hydroxy-2-deoxyguanosine in DNA. *Molecul. Gen. Metab.*, 1999, 68, 468-472.
235. Younes, M., Albrecht, M., Siegers, C.P.: Interrelationship between in vivo lipid peroxidation, microsomal Ca⁺⁺ sequestration activity and hepatotoxicity in rats treated with carbon tetrachloride, cumene hydroperoxide or thioacetamide. *Res. Commun. Chem. Pathol. Pharmacol.* 1983, 40, 405-415.
236. Zheng, Q., Hirose, Y., Yoshimi, N., Murakami, A., Koshimizu, K., Ohigashi, H., Sakata, K., Matsumoto, Y., Sayama, Y., Mori, H.: Further investigation of the modifying effect of various chemopreventive agents on apoptosis and cell proliferation in human colon cancer cells. *J.Cancer Res. Clin. Oncol.* 2002, 128, 539-546.
237. Zhou, S.F., Gao, Y.H., Wen, Q.J.: Interactions of herbs with cytochrome P450. *Drug Metab. Rev.* 2003, 35, 35-98.
238. Zimmermann, T., Franke, H., Dargel, R.: Studies on lipid and lipoprotein metabolism in rat liver cirrhosis induced by different regimens of thioacetamide administration. *Experiment. Pathol.* 1986, 30, 109-117.
239. Zimmermann, T., Müller, A., Machnik, G., Franke, H., Schubert, H., Dargel, R.: Biochemical and morphological studies on production and regression of experimental liver cirrhosis induced by thioacetamide in Uje:WIST rats. *Z. Versuchstierkd.* 1987, 30, 165-180.

8. SAJÁT KÖZLEMÉNYEK JEGYZÉKE

Közlemények az értekezés témájában

Rapavi, E., Blázovics, A., Fehér, J.: A gyógynövények szerepe az ősi Kína gyógyászatában. Orvosi Hetilap, 141, 2093-2096. 2000.

Rapavi, E., Blázovics, A.: Kínai gyógynövénytudomány dióhéjban. Fitoterápia, 1, 18-23. 2000.

Rapavi, E.: Az antioxidánsok szerepe és jelentősége a betegségek megelőzésében és gyógyításában. Gyógyszerészet, 45, 314-320. 2001.

Héthelyi, B. É., Szabó, L.Gy., **Rapavi, E.**, Domokos, J., Blázovics, A.: Tényeken alapuló orvoslás a fitoterápiában. Olaj, Szappan, Kozmetika, 50, 67-76. 2001.

Blázovics, A., Szentmihályi, K., Lugasi, A., Balázs, A., Hagymási, K., Stefanovits-Bányai, É., Then, M., **Rapavi, E.**, Héthelyi, É.: In vitro analysis of the properties of Beiqishen tea. Nutrition, 19. (10), 869-874. 2003.

Blázovics, A., **Rapavi, E.**, Hagymási, K., Szentmihályi, K., Lugasi, A., Balázs, A., Then, M., Bányai, É., Héthelyi, É.: Is Medical control of herbal tea consumption necessary? Acta Horticulturae. No. 629. ISHS. 153-160. 2004.

Rapavi, E., Szentmihályi, K., Lugasi, A., Vági, E., Bányai, É., Balázs, A., Szőke, É., Blázovics, A.: The influence of the steeping time on the antioxidant properties of a Chinese herbal tea. Acta Alim. Hung. 35. (2), 213-222. 2006.

Rapavi, E., González-Cabello, R., Szentmihályi, K., Székely, E., Blázovics, A.: The effect of calyx infusion of Hibiscus sabdariffa L. on T-cells-mediated immune response in mitogen-induced blastogenesis of human lymphocytes *in vitro*. Acta Alim. Hung. 35. (3), 281-288. 2006.

Rapavi, E., Kocsis, I., Fehér, E., Szentmihályi, K., Lugasi, A., Székely, E., Blázovics, A.: The effect of citrus flavonoids on the redox state of alimentary-induced fatty liver in rats. Nat. Prod. Res. (nyomtatás alatt)

Rapavi, E., Szentmihályi, K., Fehér, E., Lugasi, A., Székely, E., Kurucz, T., Pallai, Zs., Blázovics, A.: Effects of citrus flavonoids on redox homeostasis of toxin-injured liver in rat. Acta Biol. Hung. 57 (4) 2006. (nyomtatás alatt)

Egyéb közlemények

Blázovics, A., Szentmihályi, K., **Rapavi, E.**, Fehér, E., Vinkler, P.: Accumulation of toxic elements in liver and bile in hyperlipidemy. Trace elements and Electrolytes, 20 (4), 211-216. 2003.

Kocsis, I., Szentmihályi, K., **Rapavi, E.**, Hubay, M., Kéry, A., Bányai, E., Szőke, E., Blázovics, A.: Effect of cichorium intybus (L.) extract on the redox balance and metal ion content of fatty liver in hyperlipidemic rats. Trace elements and Electrolytes, 21, 4, 262-268. 2004.

Vági, E., **Rapavi, E.**, Hadolin, M., Vásárhelyiné Perédi, K., Balázs, A., Blázovics, A., Simándi, B.: Phenolic and triterpenoid antioxidants from Origanum majorana L. herb and extracts obtained with different solvents J. Agric. Food Chem. 53 (1), 17-21. 2005.

Blázovics, A., Fehér, E., Kocsis, I., **Rapavi, E.**, Székely, E., Váli, L., Szentmihályi, K.: How can Beiqishen tea consumption influence redox homeostasis in experimental hyperlipidemy? Acta Alim. Hung. 5, 41-52. 2006.

Székely, E., Vereckei, A., Almási A., **Rapavi, E.**, Tasnádi, Gy., Várnai, K., Pallai, Zs., Lugasi, A., Blázovics, A: Effects of vitamin E administration on the hemorheological status and redox homeostasis of patients with porphyria cutanea tarda treated with phlebotomy. Clin. Hemorheol. Microcirc. (nyomtatás alatt)

Az értekezés témájában megjelent kongresszusi előadások folyóiratban vagy könyvben

Rapavi, E., É. Stefanovits-Bányai, K. Szentmihályi, A. Lugasi, V. Szecskó, A. Sztfeanov, A. Balázs, A. Blázovics: Trace elements and antioxidants properties of Hungarian dried herbs. New Results in the Trace Element Research, Ed.: Pais, I. In: Proc. 10th International Trace Element Symposium, Budapest, 210-221. 2002.

Rapavi, E., É. Stefanovits-Bányai, K. Szentmihályi, É. Héthelyi, A. Balázs, A. Blázovics: Metal ion concentration and partial phytochemical screening of the dried calyx and epicalyx of Hibiscus sabdariffa L. In: Proceedings the 9th Symposium on Analytical and Environmental Problems. Ed. Z. Galbács, SZAB, Szeged, 50-54. 2002.

Rapavi, E., I. Kocsis, E. Fehér, E. Pintér, S. Bárkovits, A. Blázovics: Alteration in the free radical-antioxidant balance in small intestine mucosa of rats with early cirrhosis. Magyar Gasztroenterológiai Társaság, 44. Nagygyűlése, Balatonaliga, 2002. jún. 4-8. (In: Z. für Gastroenterologie, 5 Band XL, 353, May 2002.)

Rapavi, E., K. Hagymási, E. Fehér, I. Kocsis, J. Fehér, A. Blázovics: Antioxidants defence in liver rats with cirrhosis. 4th International Congress of Pathophysiology, Budapest, Hungary, June 29-July 5, 2002. (In: Acta Physiol Hung (89) 1-3. 255. 2002)

Rapavi E., Kocsis I., Fehér E., Bárkovits S., Pintér E., Blázovics A: A máj és a plazma antioxidáns védelmének változása Detralex kezelés hatására hiperlipidémiás patkányban. Congressus Pharmaceuticus Hungaricus XII. Budapest, Gyógyszerészet különszám, 2003. május 8-10.

Szentmihályi K., Blázovics A., Hajdú M., Szöllősi R., **Rapavi E.**, Then M.: Makro- és mikroelem-vizsgálatok jelentősége a gyógynövénykutatásban. Mikroelemek a táplálékláncban, Szerk: Pais I., 2003

Az értekezés témájában abstract kötetben megjelent előadáskivonatok

Rapavi, E.: Az antioxidánsok szerepe és jelentősége a megelőzésben és a gyógyításban XXXV. Rozsnyay Mátyás Emlékverseny, Szeged, 2000. máj. 24-27. (első helyezett előadás)

Rapavi, E., Czinner, E., Bárkovits, S., Pintér, E., Blázovics, A.: Frissítő és fogyasztó teakeverékek gyökfogó aktivitásának vizsgálata spektrofotometriás és kemiluminometriás módszerekkel in vitro. Ph.D. Tudományos Napok 2001.

Rapavi, E., Czinner, E., Héthelyi, B. É., Hagymási, K., Blázovics, A.: Gyógyteakeverékek gyökfogó aktivitásának összehasonlító elemzése in vitro rendszerekben. Magyar Szabadgyök-Kutató Társaság I. Kongresszusa, Folia Hepatologica, 6, (1), 32. 2001.

Héthelyi, B. É., Szabó, L.Gy., Domokos, J., **Rapavi, E.**, Blázovics, A.: „Evidence Based Medicine” a fitoterápiában. Magyar Szabadgyök-Kutató Társaság I. Kongresszusa, Folia Hepatologica, 6, (1), 18. 2001.

Rapavi, E., Gonzalez-Cabello, R., Marschalkó, M., Blázovics, A.: Effect of Hibiscus sabdariffa L. on human lymphocyte blast transformation: in vitro studies. World Conference on Medical and Aromatic Plants, Budapest, Hungary, 8-11th July 2001.

Rapavi, E., Balázs A., Héthelyi B. É., Czinner, E., Szentmihályi, K., Blázovics, A.: Amit nem tudunk a teákról. Szabadgyökkutatás az ezredfordulón. Munkaértekezlet. Magyar Szabadgyök-Kutató Társaság rendezvénye, 2001. október 24.

Rapavi, E., Kocsis, I., Fehér, J., Blázovics, A.: Mikronizált flavonoidok (Detralex) hatása a szöveti redox státuszra patkányban. MTA Flavonoidkémiai Munkabizottság tudományos előadó ülése, 2001. december 10.

Rapavi, E., I. Kocsis, E. Fehér, E. Pintér, S. Bárkovits, A. Blázovics: Antioxidants defence in colon mucosa of rats with early cirrhosis. Exogenous Factors in colonic carcinogenesis, Falk Symposium, Würzburg, May 2-3, 2002.

Rapavi, E., Fehér, E., Kocsis, I., Blázovics, A.: A vékonybél- és a vastagbél nyálkahártya antioxidáns státusza cirrhoticus patkányban. XXXVII. Rozsnyay Mátyás Emlékverseny, Kaposvár, 2002. máj. 23-25.

Rapavi E., Bányai É., Szentmihályi K., Szecskó V., Sztefanov A., Balázs A., Blázovics A.: Hazai emésztésre ható gyógyteák fitokémiai és elem analízise. IX. Primer Prevenációs Fórum, Budapest, 2002.máj. 22.

Rapavi E.: Detralex hatása a szöveti redox státuszra hiperlipidémiás patkányban. VI. Clauder Ottó Emlékverseny, Budapest, 2002 szept. 26-28. (különdíjat kapott előadás)

Rapavi E., Bárkovits S., Pintér E., Blázovics A.: Detralex hatása a máj antioxidánszabad gyök egyensúlyára patkányban. Ph.D. Tudományos Napok, Budapest, 2002.

Rapavi E., K. Szentmihályi, I. Kocsis, É. Stefanovits-Bányai, A. Blázovics: The effect of hesperidin and diosmin on ion concentration and antioxidant defense system in fatty liver in rats. Metal elements in environment, medicine and biology. 5th International Symposium, November 4-6, 2002, Timisoara, Roumania

Rapavi E., Bárkovits S., Pintér E., Blázovics A.: Detralex hatása a zsírmáj redox státuszára patkányban. Gyógynövények Kutatása és felhasználása 2002. 10. Magyar Gyógynövény Konferencia, 8. Gyógyszerkutató Konferencia, 5. Magyar Fitoterápiás Konferencia, 2002. november 13-15. Kecskemét.

Rapavi E., Kocsis I., Székely E., Bárkovits S., Pintér E., Blázovics A.: Citrus flavonoidok hatása a rutin laboratóriumi paraméterekre hiperlipidémiás patkányban. Ph.D. Tudományos Napok, Budapest, 2003.

Rapavi E., Pallai Zs., Kurucz T., Kocsis I., Lugasi A., Fehér E., Fehér J., Blázovics A.: Természetes eredetű hatóanyagokkal kezelt patkányok szöveti redox státusza. A Magyar Szabadgyök-Kutató Társaság II. Konferenciája 2003. Sopron

Rapavi E., É. Stefanovits-Bányai, K. Szentmihályi, A. Balázs, A. Lugasi, E. Székely, A. Blázovics: Camellia sinensis tartalmú többkomponensű és monokomponensű teák antioxidáns tulajdonsága és fitokémiai vizsgálata. X. Jubileumi Primer Prevenációs Fórum, 2003. május 22. Budapest

Rapavi E., Fehér E., Székely E., Kocsis I., Blázovics A.: Effects of Detralex-treatment on antioxidant defense system of ileum and colon in hyperlipidemic rats. Magyar Gasztroenterológiai Társaság, 45. Nagygyűlése, Balatonaliga, 2003. jún. 3-7.

Rapavi E., Szeberényi Sz., Borbás T., Kocsis I., Fehér E., Lugasi A., Blázovics A.: Citrus flavonoidok hatása a drogmétabolizáló enzimrendszerre és a szöveti antioxidáns kapacitásra eltérő eredetű májkárosodásban, patkányban. Ph.D. Tudományos Napok 2004. április 8-9.

Rapavi E., Kocsis I., Szentmihályi K., Lugasi A., Fehér E., Bányai Éva⁵, Gonzales-Cabello R., Székely E., Szeberényi Sz., Borbás T., Pallai Zs., Kurucz T., Balázs A., Czinner E., Héthelyi É., Hagymási K., Fehér J., Blázovics A.: Újabb adatok a természetes hatóanyagok in vitro és in vivo hatásmechanizmusának megértéséhez. Széchenyi Szimpózium. 2004. március

Szentmihályi, K., Ladó, K., **Rapavi E.,** Taba, G., Blázovics, A.: Májterápiában potenciálisan használható gyógynövények és kivonataik ásványi elemtartalmának vizsgálata és értékelése. Hepatológia, Bükfürdő 2005. febr. 16-19.

Rapavi, E., Kocsis, I., Szentmihályi, K., Fehér, E., Székely, E., Pallai, Zs., Kurucz, T., Blázovics, A.: Nagydózisú diozmin-heszperidin elő- és utókezelés hatása a szöveti redox státuszra eltérő eredetű májkárosodásban. A Magyar Szabadgyök-Kutató Társaság III. Konferenciája, 2005. október

Rapavi, E., Szentmihályi, K., Fehér, E., Lugasi, A., Székely, E., Kurucz, T., Pallai, Zs., Blázovics, A.: Effects of citrus flavonoids on the changes in element concentration and redox homeostasis of liver in rat with thioacetamide-induced hepatotoxicity. International Symposium on Trace Elements in the Food Chain, Budapest, Hungary, May 25-27, 2006.

Az értekezés témáján kívül megjelent kongresszusi előadások folyóiratban vagy könyvben

Blázovics, A. Lugasi, **E. Rapavi**, Á. Kovács: Metabolic alterations influencing redox homeostasis in IBD. 4th International Congress of Pathophysiology, Budapest, Hungary, June 29-July 5, 2002. (In: Acta Physiol Hung (89) 1-3. 255. 2002)

Blázovics, A., Lugasi, A., Stefanovics-Bányai, É., Héthelyi, É., **Rapavi, E.**, Balázs, A., Szentmihályi, K.: Chinese Beiqishen tea influences the redox-homeostasis of liver and gut. Falk Symposium 146, Innsbruck, 2005. March 11-12.

Szentmihályi, K., Kocsis, I., **Rapavi, E.**, Taba, G., Fodor, J., Váli, L., Blázovics, A.: The effect of magnesium on the redox homeostasis in hyperlipidemia. Falk Symposium 146, Innsbruck, 2005. March 11-12.

Blázovics, A., K. Szentmihályi, **E. Rapavi**, E. Fehér, P. Vinkler: Accumulation of toxic elements in liver and bile in hyperlipidemy. Magyar Gasztroenterológiai Társaság, 44. Nagygyűlése, Balatonaliga, 2002. jún. 4-8. (In: Z. für Gastroenterologie, 5 Band XL, 328, May 2002.)

Székely E., **Rapavi E.**, Tasnádi Gy., Bor M., Pusztai Á., Blázovics A.: Lipidparaméterek, rheologiai viszonyok és szabadgyök-folyamatok porphyria cutanea tarda-ban. Magyar Belorvosi Archivum Supplementum 2002/3, 125.o.

Blázovics A., Szentmihályi K., Kocsis I., **Rapavi E.**, Bányai É., Lugasi A.: Beiqishen tea hatása a redox homeosztázisra "short term" kísérletben, patkányban. Mikroelemek a táplálékláncban, Szerk: Pais I., 2003.

Szentmihályi, K., Kocsis, I., **Rapavi, E.**, Fodor, J., Székely, E., Blázovics, A.: Magnesium therapy in hyperlipidemy. Magyar Gasztroenterológiai Társaság, 47. Nagygyűlése, Balatonaliga, 2005. jún. 7-11. (In: Z. für Gastroenterologie)

Szentmihályi, K., Kovács, Á., **Rapavi, E.**, Váli, L., Székely, E., Blázovics, A.: Metal element homeostasis after Raphacol (black radish) treatment in moderate active inflammatory bowel diseases. Trace Elements in the Food Chain, Eds.: Szilágyi, M.,

Szentmihályi, K., In: Proc. International Symposium on Trace Elements in the Food Chain, Budapest, Hungary, May 25-27, 2006.

Az értekezés témáján kívül abstract kötetben megjelent előadáskivonatok

Székely E., Pallai Zs., **Rapavi E.**, Tasnádi Gy., Blázovics A.: Porphyria cutanea tarda-ban szenvedő betegek vérének rheológiai viszonyai és antioxidáns tulajdonságai. VII. Korányi Frigyes Tudományos Fórum 2002.

Soós P., András T., **Rapavi E.**, Szabó G., Horkay F.: Jobb kamrai nyomásterhelés hatása a perifériás keringésre. Ph.D. Tudományos Napok, Budapest, 2002.

Székely E., Várnai K., Bor M., Tasnádi Gy., **Rapavi E.**, Blázovics A.: A vasanyagcsere zavara, rheológiai viszonyok és a redox homeosztázis kapcsolata porphyria cutanea tarda-ban. Magyar Laboratóriumi Diagnosztikai Társaság 51. nagygyűlése, 2002. augusztus 28-31. Gyula

Kocsis I., Szentmihályi K., **Rapavi E.**, Hubay M., Kéry Á., Bányai É., Blázovics A.: Metal ion accumulation in the liver during chicory treatment in rats. Magyar Gasztroenterológiai Társaság, 45. Nagygyűlése, Balatonaliga, 2003. jún. 3-7.

E. Székely, Gy. Tasnádi, Zs. Pallai, T. Kurucz, **E. Rapavi**, M. Bor, Á. Pusztai, A. Blázovics: Effectiveness of alpha-lipoic acid in porphyria cutanea tarda. Porphyria and porphyrias 2003. Praha

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Őszinte hálával tartozom **Prof. Dr. Fehér János** egyetemi tanárnak, a 7. sz. Ph.D program vezetőjének a lehetőséget, hogy munkacsoportjában dolgozhattam, valamint a munkám során és az értekezés elkészítésénél nyújtott értékes tanácsaiért, útmutatásaiért.

Végtelen hálával tartozom témavezetőmnek **Dr. Blázovics Annának**, az orvostudomány kandidátusának, a Semmelweis Egyetem, II. Belgyógyászati Klinika Biokémiai Kutatócsoportja vezetőjének, aki irányította, tanácsaival segítette kutatásaimat, dolgozatom elkészüléséhez felbecsülhetetlen és nélkülözhetetlen segítséget nyújtott.

Köszönetemet fejezem ki **Prof. Dr. Tulassay Zsolt** egyetemi tanárnak, a Semmelweis Egyetem, II. Belgyógyászati Klinika igazgatójának, a Klinikai Orvostudományok Doktori Iskola vezetőjének, hogy lehetővé tette számomra tudományos munkám végzését, a dolgozat elkészítését.

Őszinte köszönetemet fejezem ki **Dr. Szentmihályi Klárának**, a Magyar Tudományos Akadémia Kémiai Kutatóintézete tudományos csoportvezetőjének a fém tartalmi meghatározások során kapott tanácsaiért, útmutatásaiért, segítőkészségéért, tudományos eredményeim publikálásához nyújtott pótolhatatlan segítségéért.

Őszinte hálával tartozom **Dr. Szeberényi Szabolcsnak** (Ph.D) a Richter Gedeon Gyógyszergyár volt laboratórium vezetőjének a biokémiai vizsgálatok során nyújtott nélkülözhetetlen segítségéért, tanácsaiért, útmutatásaiért és bátorításáért.

Hálával tartozom **Prof. Dr. Fehér Erzsébet** egyetemi tanárnak, a Semmelweis Egyetem Szövet- és Fejlődéstani Intézet professzorának a szöveti vizsgálatokkal kapcsolatos tanácsaiért.

Hálásan köszönöm **Dr. Renzo Gonzalez-Cabello** kandidátusnak, a Semmelweis Egyetem Bőr és Nemikórtani Intézet volt tudományos munkatársának az immunológiai vizsgálatok során nyújtott segítségét, köszönöm Neki a barátságos hangulatú és tapasztalatokban bővelkedő megbeszéléseket és szakmai munkát.

Hálás köszönetemet fejezem ki **Dr. Lugasi Andreának** (Ph.D) az Országos Élelmezés- és Táplálkozástudományi Intézet Élelmiszerkémiai Analitikai Főosztálya főosztályvezető helyettesének egyes szakmai problémák megoldásában nyújtott önzetlen segítségéért.

Köszönettel tartozom **Prof. Dr. Szőke Éva** egyetemi tanárnak a Semmelweis Egyetem Farmakognóziái Intézet igazgatójának, **Prof. Dr. Kéry Ágnes** a Semmelweis Egyetem Farmakognóziái Intézet docensének, **Prof. Dr. Lemberkovits Éva** a Semmelweis Egyetem Farmakognóziái Intézet professzorának, **Dr. Balázs Andrea** adjunktusnak a fitokémiai analízisekben nyújtott segítségükért, támogatásukért.

Köszönet illeti **Dr. Stefanovits-Bányai Éva** docent és **Héthelyi Éva** műszaki szakértőt, a Szent István Egyetem munkatársait az analitikai munkák során nyújtott segítségükért.

Hálásan köszönöm **Dr. Kocsis Ibolyának** (Ph.D), a Semmelweis Egyetem, II. Belgyógyászati Klinika Központi laboratórium vezetőjének az experimentális és humán vizsgálatokban nyújtott nélkülözhetetlen segítségét.

Őszinte hálámat és köszönetemet fejezem ki **Bárkovics Saroltának**, **Pintér Edinának**, **Preiner Vincénének**, **Bíró Erzsébetnek**, **Horváth Gabriellának**, **Puskás Irénnek** a Semmelweis Egyetem, II. Belgyógyászati Klinika Biokémiai Kutatólaboratórium, a Magyar Tudományos Akadémia, Kémiai Kutatóintézet, a Semmelweis Egyetem Bőr és Nemikórtani Intézet munkatársainak, hogy segítségemre voltak a módszerek betanulásánál, valamint az állatkísérletek során nyújtott kiemelkedő és sokrétű segítségükért, a jó hangulatú munkáért.

Köszönettel tartozom **Dr. Hagymási Krisztinának** (Ph.D), **Dr. Vági Erikának** (Ph.D), **Dr. Székely Edit (Ph.D)**, **Borbás Tímea**, **Dr. Váli László** Ph.D hallgatóknak, **Dr. Czinner Erikának** (Ph.D), **Dr. Sipos Péternek** (Ph.D) a közösen végzett munkáért, az elért eredményekért, barátságukért.

Köszönet illeti **Burka Évát** és **Deák Szilviát** a Semmelweis Egyetem Szövet- és Fejlődéstani Intézet munkatársait a szövettani metszetek elkészítésénél nyújtott technikai segítségért és az állatkísérletek során nyújtott nélkülözhetetlen segítségért.

Köszönöm **Pallai Zsoltnak**, a Diachem Kft. igazgatójának, valamint **Kurucz Tímeának** a Diachem Kft. munkatársának az analitikai munkában nyújtott segítségét és támogatását.

Legnagyobb hálával **szüleimnek** tartozom, akik önzetlen támogatásukkal, szeretetükkel és türelmükkel lehetővé tették tudományos munkám elkészülését, és **húgomnak**, aki rendkívüli segítséget nyújtott a nehézségekkel teli időszakokban folyamatos bátorításával, egyes technikai problémák megoldásában.

*

A dolgozat elkészítéséhez az ETT 250/2000

1/016/2001, 1/047/2001, NKFP 1A005/2004,

Mozsonyi Sándor Alapítvány, Falk Alapítvány, Diachem Kft., Magyar Kórházi Gyógyszerészetért Alapítvány, Richter Gedeon Centenárium Alapítvány nyújtott anyagi támogatást.