

EGYETEMI DOKTORI (PHD) ÉRTEKEZÉS TÉZISEI

**Foglalkozási és környezeti expozíciót okozó biocid
vegyületek genotoxikológiai jellemzése: a sterilizáló
szer etilén-oxid és a piretroid rovarirtó fenotrin**

Nagy Károly

Témavezető: Dr. Ádám Balázs, PhD



**DEBRECENI EGYETEM
EGÉSZSÉGTUDOMÁNYOK DOKTORI ISKOLA**

DEBRECEN, 2015

A doktori értekezés betétlapja

Foglalkozási és környezeti expozíciót okozó biocid vegyületek genotoxikológiai jellemzése: a sterilizáló szer etilén-oxid és a piretroid rovarirtó fenotrin

Értekezés a doktori (PhD) fokozat megszerzése érdekében
az egészségtudományok tudományágban

Írta: **Nagy Károly**, okleveles népegészségügyi felügyelő

Készült a Debreceni Egyetem Egészségtudományi Doktori Iskolája
(Megelőző orvostan és népegészségtan programja) keretében

Témavezető: Dr. Ádám Balázs, PhD

A doktori szigorlati bizottság:

elnök: Prof. Dr. Paragh György, az MTA doktora
tagok: Prof. Dr. Nagymajtényi László, az MTA doktora
Prof. Dr. Rurik Imre, PhD

A doktori szigorlat időpontja: 2015. április 1. 11 óra
DE ÁOK Belgyógyászati Intézet „A” épület

Az értekezés bírálói:

Dr. Emri Gabriella, PhD
Dr. Major Jenő, PhD

A bírálóbizottság:

elnök: Prof. Dr. Paragh György, az MTA doktora
tagok: Prof. Dr. Nagymajtényi László, az MTA doktora
Prof. Dr. Rurik Imre, PhD
Dr. Emri Gabriella, PhD
Dr. Major Jenő, PhD

Az értekezés védésének időpontja: 2015. április 1. 13 óra
DE ÁOK Belgyógyászati Intézet „A” épület tanterme

Bevezetés

A daganatos betegségek világszerte a vezető halálokok között szerepelnek. 2012-ben 14,1 millió új rákos esetet regisztráltak és 8,2 millióan veszítették életüket a rák miatt. Az összes daganatos megbetegedés 19%-a környezeti és foglalkozási eredetű kémiai ártalmaknak tulajdonítható, melyek több mint 1,5 millió ember halálát okozzák évente. Becslések szerint munkahelyi rákkeltő hatások tehetőek felelőssé a daganatos halálozások 2-8%-áért.

A vegyi anyagok számának rohamos gyarapodása és egyre növekvő mértékű felhasználása mellett az ártalmas tulajdonságaikra vonatkozó ismeretek bővítése nincs összhangban a fejlődés ütemével. Még mindig jelentős a szakadék a kemikáliák egészségünk védelmét szolgáló szabályozásához meglévő és szükséges ismeretek mennyisége között. A kémiai anyagok genkárosító képességének jellemzése elsődleges fontosságú, hiszen a genotoxikus hatásoknak alapvető szerepük van a rákképződés folyamatában, így az ezen tulajdonságok vizsgálatára irányuló tevékenységek elengedhetetlen feltételét képezik a daganatkockázat becsléséhez szükséges tudományos háttér megalapozásának.

A biocid anyagok egyre szélesebb körben történő előállítására és alkalmazására miatt fontos megismernünk a felhasználásukban rejlő egészségi kockázatokat. Vannak olyan biocid hatású vegyületek, melyeknek biológiai makromolekulák, így a DNS, képezik a támadáspontját, míg más biocidok, mint például egyes peszticidek, bár nem feltétlenül okoznak közvetlen molekuláris károsodást, genotoxikus hatásuk lehetősége nem zárható ki.

A kemikáliák genotoxikus hatásaira vonatkozó információk és a DNS károsodás kiváltásáért felelős molekuláris mechanizmusok megértése olyan hatékony intézkedések kidolgozását segítheti elő, melyek megelőzhetik ezen léziók mutációk formájában történő rögzülését. Rendelkezésre állnak olyan széles körben alkalmazott vizsgálmódszerek, melyek a korai genotoxikus hatásokat detektálni képesek. Az egyik ilyen módszer a sejtszintű DNS gélek elektroforézis (üstökös elektroforézis), mely lehetővé teszi egyszeres és dupla száztörések, valamint lúglabilis sérülések kimutatását.

DNS károsodás kimutatása üstökös elektroforézissel

Az üstökös elektroforézis alkalikus változata egy olcsó, érzékeny, könnyen kivitelezhető és gyors módszer az egyes sejtek DNS károsodásának kimutatására. Az eljárás a károsodott DNS fragmentumok agaróz gélben történő mozgásának megfigyelésén alapszik. Az elektroforézis során a negatív töltésű sérült, törött láncdarabok az anód felé vándorolva jellegzetes üstökösre emlékeztető mintázatot hoznak létre, melyben a sejt DNS-ének sértetlen nagyméretű darabjai az üstökös „fej” részének, az elvándorolt láncdarabok pedig az üstökös „csóvájának” felelnek meg. A fluoreszcens festékekkel jelölt „üstökösöket” mikroszkóp alatt történő szubjektív megfigyeléssel vagy a morfológiai paramétereik intenzitásprofilja alapján képelemző program segítségével értékelhetjük. A leggyakrabban használt DNS károsodást jelző paraméterek közé tartozik a csóva DNS tartalom (%), a csóvahossz (μm) és a tail moment, mely az előbbi két paraméter szorzatából származtatható.

Az üstökös elektroforézis számos területen alkalmazható, beleértve a genotoxikológiai vizsgálatokat, a DNS-javító mechanizmusok tanulmányozását, környezeti és humán biológiai monitorozást, ill. a klinikai vizsgálatokat. Segítségével kideríthető, mely anyag képes genetikai károsodás kiváltására, továbbá a különböző DNS károsító mechanizmusok jellegéről is információt szolgáltat, például eltérő módon károsodott DNS bázisokat felismerő hasító enzimek alkalmazásával. Azáltal, hogy egyéni sejtek elemzését teszi lehetővé, az adott genotoxikus anyaggal exponált eltérő sejtípusok érzékenységi mintázatainak összehasonlítására is lehetőséget teremt.

Etilén-oxid

Az etilén-oxid (EtO) egy jól ismert sterilizáló szer. Genotoxikus hatását számos *in vivo* és *in vitro* kísérleti rendszerben igazolták, mely a molekula direkt alkiláló képességének tulajdonítható. Az EtO a Nemzetközi Rákkutató Ügynökség (IARC) besorolása szerint a humán rákkeltő anyagok csoportjába tartozik. Etilén-oxid expozíciónak kitett munkások körében a rosszindulatú daganatos megbetegedések emelkedett előfordulási gyakoriságát figyelték meg, ugyanakkor szervspecifikus daganatkeltő szerepével kapcsolatban ellentmondó eredmények születtek.

Tulajdonságok, alkalmazás, expozíció

Az EtO a legegyszerűbb gyűrűs éter vegyület. A könnyen felnyíló gyűrűs szerkezetében tárolt molekuláris feszültség következtében nagyon reakcióképes alkiláló szer. Szobahőmérsékleten színtelen, szagtalan, enyhén édeskés, éterhez hasonlatos szagú gáz. Kis mennyiségben természetes úton a légkörben is képződhet oxidációs folyamatok révén. Szénhidrogének égéstermékeként megtalálható belső égési motorok kipufogógázaiban, vagy akár a dohányfüstben is. Nagy mennyiségben ipari folyamatok során mesterségesen állítják elő. A világ éves EtO termelése 2006-ban elérte a 19 millió tonnát.

Az ipar által előállított EtO egy kis mennyiségét (0,05%) közvetlenül gáz formában élelmiszerek és hőérzékeny orvosi eszközök fertőtlenítésére és sterilizálására használják. Az etilén-oxid hatékony baktericid, sporicid és viruicid hatással rendelkező kiváló biocid szer. A sterilizálási eljárás hátránya, hogy a kezelt anyagokon szennyezőként visszamaradt szer mind fizikai, mind toxikológiai veszélyt jelenthet a személyzet vagy a betegek számára, ezért alkalmazása különös figyelmet igényel.

Emberi expozíció elsősorban munkahelyi környezetben, inhaláció útján következhet be, főként az etilén-oxidot előállító, valamint az azt felhasználó iparágakban. Habár manapság már a legtöbb vegyipari folyamat zárt technológiai rendszerekben zajlik, a humán expozíció még mindig jelentős lehet a sterilizáló üzemekben és egyes kórházi sterilizáló egységekben, különösen a sterilizált anyagok kirakodásakor.

Az ipari expozíció szintje korábbi vizsgálatok szerint tipikusan a kimutathatóság határa és 18 mg/m^3 között változhat, azonban bizonyos munkafázisoknál (gépek gázzal történő feltöltésénél, leengedésénél, karbantartásnál, esetleges szivárgásnál és üzemzavaránál) a munkalégtér koncentráció értéke rövid időre akár a 17.300 mg/m^3 -t is meghaladhatja. Egyes kórházak gázsterilizáló részlegein mért légtér koncentráció értéke elérte a 124 mg/m^3 -t, ugyanakkor rendkívüli esetekben (nem megfelelően beállított és működő sterilizátor, a sterilizáló helyiség elégtelen szellőztetése) jelentősen magasabb, akár több ezer mg/m^3 -es expozíciós szintek is előfordultak. Az egri kórház gyermekgyógyászati osztályán – ahol az EtO gázsterilizátort szabálytalanul működtették – a sterilizált eszközök kirakodásakor a szer 1992-ben mért légtér koncentrációja meghaladta a 150 mg/m^3 -t.

Az Egyesült Államok Munkaegészségügyi és Munkabiztonsági Hivatala (OSHA) állatkísérletes és humán epidemiológiai megfigyelésekre alapozva $1,8 \text{ mg/m}^3$ -ben határozta

meg az etilén-oxid kötelező érvényű munkalégtér határértékét 8 órás súlyozott átlagban kifejezve. Ehhez hasonlóan Magyarországon az EtO maximális koncentrációs határértéke $1,8 \text{ mg/m}^3$, melyet a legrövidebb időre sem szabad túllépni a munkahelyeken. Ezzel szemben az Egyesült Királyság Egészségügyi és Biztonsági Hatósága (HSE) által megállapított határérték kevésbé szigorú, $9,2 \text{ mg/m}^3$ (8 órás súlyozott átlagban).

Egészségkárosító hatás

Heveny, magas koncentrációjú etilén-oxid expozíció hányingert, hányást, légúti irritációt, hörghurutot, tüdőödémát, tüdőtágulatot és központi idegrendszeri tüneteket okozhat, míg hosszú távú kitettség szürkehályog képződéshez vezethet. Vizes oldataival történő kontaktus mind a szemet, mint a bőrt erősen irritálja. Egyes megfigyelések szerint munkahelyen etilén-oxiddal exponált nők körében megnőtt a spontán vetélések száma.

Genotoxicitás, mutagenitás, rákkeltő hatás

Az etilén-oxid egy rendkívül reaktív alkiláló szer, mely irreverzibilisen kötődik a sejtek makromolekuláinak – így a DNS molekuláinak – nukleofil csoportjaihoz. Génkárosító hatásmechanizmusa nem teljesen ismert, azonban adduktképző képességét nem vitatják. A DNS molekulával legnagyobb számban N7-(2-hidroxi-etil)-guanin adduktot alkot. Mutagén tulajdonságát számos *in vitro* és *in vivo* vizsgálat bizonyította. Sejtenyészetekben DNS száltöréseket, HPRT génmutációkat, mikronukleusz képződést, kromoszóma aberrációkat és testvérkromatid kicserélődést indukált. Állatokban és emberben DNS száltöréseket, testvérkromatid kicserélődést, kromoszóma aberrációkat, HPRT, p53, H-ras, K-ras génmutációkat, mikronukleusz képződést okozott és a DNS javító gének expressziójának megváltozását idézte elő.

Az EtO rákkeltőnek bizonyult inhalációs állatkísérletekben, melyek során számos daganatfejlés, többek között tüdőrák kifejlődését figyelték meg, azonban mind a mai napig csak korlátozott számú tudományos információval rendelkezünk az anyag humán karcinogén tulajdonságáról. Epidemiológiai vizsgálatok szerint munkahelyi EtO expozíció elsősorban nyirok- és vérképzőszervi daganatokat indukál, míg más tanulmányok egyéb daganattípusok – emlő- és gyomorrák – kialakulásának hátterében is azonosították. Bár az etilén-oxid gáz

elsődleges behatolási kapuja a légutak, nem rendelkezünk elég bizonyítékkal a szer légúti daganatot okozó képességéről. Ugyanakkor az egri kórházban etilén-oxid gázzal exponált dolgozók körében a halálozási arányszám statisztikailag szignifikáns növekedése részben tüdőrákos eseteknek volt tulajdonítható.

Széles körben elfogadott tény, hogy az etilén-oxid genotoxikus anyag, azonban annak ellenére, hogy a tüdősejtek képezik számára az elsődleges biológiai akadályt, DNS károsító hatását emberi tüdő sejteken még nem tanulmányozták részletesen.

Fenotrin

A fenotrin a szintetikus piretroidok csoportjába tartozó rovarölő szer, melyet széles körben alkalmaznak mezőgazdasági és háztartási rovarkártevők elpusztítására, valamint pediculosis (tetvesség) kezelésére. Bár a fenotrint az Egyesült Államok Környezetvédelmi Ügynöksége a valószínűleg nem humán rákkeltő anyagok csoportjába sorolta, a szer genotoxikus hatásáról kevés tudományos bizonyítékkal rendelkezünk.

Tulajdonságok, alkalmazás, expozíció

A fenotrin, más néven szumitrin, egy színtelen vagy halványsárga, enyhén szagos folyadék. Szerkezetileg az I-es típusú piretroid peszticidek csoportjába tartozik, melyek nem rendelkeznek ciano funkcionális csoporttal. A szert először 1969-ben szintetizálták és 1977 óta használják kiterjedten. Ipari előállításáról és felhasználásáról nem rendelkezünk naprakész mennyiségi adatokkal; a világ éves fenotrin termelését 1989-ben 70-80 tonnára becsülte az Egészségügyi Világszervezet (WHO). Minden valószínűség szerint az utóbbi évtizedekben jelentősen nőtt az alkalmazása annak köszönhetően, hogy a lakossági felhasználásra szánt szerves foszforsavészter típusú növényvédő szereket piretroidokkal igyekeztek helyettesíteni.

Hatásmechanizmusát tekintve idegméreg, a neuronális feszültségfüggő Na-csatornák záródását késlelteti repetitív akciós potenciált létrehozva, mely végső soron bénuláshoz vezet.

A fenotrint önmagában vagy kombinációban tartalmazó számos peszticid készítmény van forgalomban, melyeket elsősorban mezőgazdasági és háztartási rovarkártévők, illetve fertőző betegségeket terjesztő ízeltlábú vektorok irtására, valamint terápiás célból púdereket, samponokat, krémeket hatóanyagaként emberi élősködők (pl. hajtetű, rüh) elpusztítására használnak.

A lakosság többféle módon exponálódhat fenotrinnal, úgymint háztartási aeroszolok belégzésével, fenotrint szennyezőként tartalmazó élelmiszerek lenyelésével vagy pediculicidekkel (tetveség és rühesség kezelésére alkalmazott gyógyszertárkészítmények) történő direkt bőrkontaktussal. A munkahelyi környezetben fokozott expozíció alakulhat ki, különösen akkor, ha a peszticid készítménnyel dolgozó munkások nincsenek hatékony védőfelszereléssel ellátva vagy azt helytelenül használják.

Egészségkárosító hatás

Az emberi idegsejtek érzékenysége a fenotrinnal szemben alacsony, ennek ellenére egyes vizsgálatok általános mérgezési tünetekről számoltak be exponált egyéneknél, többek között szédülésről, nyálfolyásról, fejfájásról, fáradtságról, hasmenésről és zajjal és tapintásélménnyel szembeni ingerlékenységről.

Genotoxicitás, mutagenitás, rákkeltő hatás

Bár *Escherichia coli* baktériumtörzseken végzett mutagenitási tesztek negatív eredményre jutottak, a szer genotoxikus hatását egy *in vivo* állatkísérletben sikerült bizonyítani. Patkányokba 14 napon keresztül intraperitoneálisan bejuttatott fenotrin nagy teljesítményű folyadékkromatográfiás módszerrel (HPLC) detektálva oxidatív típusú DNS károsodást idézett elő a máj- és veseszövetben. További, a fenotrin mutagén és genotoxikus tulajdonságára vonatkozó adatok, különösen magasabb rendű élőlényekben, nem állnak rendelkezésre.

A fenotrin rákkeltő tulajdonságát *in vivo* állatkísérletekben tanulmányozták, melyek közül két vizsgálatban növelte a májrák előfordulási gyakoriságát, azonban ez nem bizonyult statisztikailag szignifikánsnak. Egy *in vitro* kísérletben emberi emlőmirigyből származó hámsejteket kezeltek fenotrinnal, amikben növelte a WNT10B proto-onkogén

expresszióját. A korlátozott számú tudományos bizonyítékok alapján a fenotrint az Egyesült Államok Környezetvédelmi Ügynöksége a valószínűleg nem humán rákkeltő anyagok csoportjába sorolta.

Célkitűzések

Vizsgálataink során a sterilizáló szerként használt etilén-oxid és a piretroid rovarölő fenotrin genotoxikus hatását tanulmányoztuk *in vitro* humán sejt kultúrákon egy modern és érzékeny genotoxicitási teszt segítségével.

A tanulmány célkitűzései az alábbiak voltak:

- 1.1. Megvizsgálni a tüdő laphámsejteknek az etilén-oxid alkiláló genotoxikus hatásával szembeni érzékenységét laboratóriumi körülmények között üstökös elektroforézis segítségével három sejt típus: (1) az EtO feltételezett célszervét, a tüdőt modellező humán tüdő laphámsejtek; (2) az EtO célsejtjeiként nem azonosított humán keratinociták; és (3) a biológiai monitorozási vizsgálatokban általánosan használt izolált humán perifériás limfociták, dózis-válasz összefüggéseinek összehasonlítása révén.
- 1.2. Megállapítani a vizsgált sejt típusok érzékenységi mintázatát az etilén-oxid alkiláló és a hidrogén-peroxid oxidatív típusú DNS károsító hatásaival szemben.
- 1.3. Gázkromatográfiás módszer segítségével meghatározni az etilén-oxidnak az alkalmazott sejt típusokban DNS károsodást kiváltó tényleges expozíciós szintjeit, mely lehetővé teszi az *in vivo* belső dózis modellezését.
- 1.1. Újraértékelni az etilén-oxidra vonatkozó $1,8 \text{ mg/m}^3$ -es munkalégtér határérték megfelelését.
- 2.1. Bővíteni a fenotrinra vonatkozó toxikológiai ismereteket oly módon, hogy genotoxikus képességét laboratóriumi körülmények között humán perifériás limfocitákon és humán hepatocita sejt vonalon üstökös elektroforézis segítségével tanulmányozzuk.
- 2.2. Felülvizsgálni a fenotrin használatához kapcsolódó jelenlegi szabályozások megfelelését.

Anyagok és módszerek

Sejtkultúrák

Az emberi perifériás vérmintákat véna punkcióval 5 egészséges, nemdohányzó férfi donortól (kor: 25-30 év) heparint tartalmazó vákuumkcsövekbe (BD Vacutainer Systems, Plymouth, Egyesült Királyság) vettük. A limfocitákat Histopaque-1077 médiumos sűrűség-gradiens centrifugálással választottuk el.

A II. típusú humán alveoláris epiteliális sejtek (A549) a Birminghami Egyetem Foglalkozás-egészségügyi Intézetéből származtak. Az eredetileg tüdő adenocarcinomából származó sejteket, mint *in vitro* modell sejtvonalat, széleskörűen alkalmazzák a tüdő epitélium sejtbológiai folyamatainak tanulmányozására.

A laphám sejteket (HaCaT, immortalizált humán keratinocita sejtvonal) a Debreceni Egyetem Bőrgyógyászati Klinikája biztosította számunkra. A sejtvonal széles körben elfogadott *in vitro* megfelelője az emberi keratinocitáknak.

A humán hepatoblasztóma eredetű sejtvonal (HepG2) az amerikai ATCC sejtbankból (Manassas, VA, USA) került beszerzésre, mely a toxikológiai vizsgálatokban a májsejteket reprezentáló gyakran használt sejtvonal.

Expozíció

Az adherens sejteket (A549, HepG2 és HaCaT) a kísérletet megelőző napon 12 lyukú sejtenyésző lemez 6 üregébe (2×10^5 sejt/lyuk) oltottuk le, melyek egy éjszakán keresztül 80-90%-os összefüggő sejtréteget formáltak. Az izolált humán perifériás limfocitákat a kísérlet napján 2×10^5 sejt/ml sűrűségben 12 lyukú lemez 6 üregébe osztottuk el.

Etilén-oxid esetében 0, 20, 50, 100, 500 μM -os, míg hidrogén-peroxid esetében 0, 1, 2, 5, 10 μM -os koncentrációkkal végeztük a kezeléseket. Az alkalmazott koncentrációtartomány nem okozott jelentős sejtpusztulást. A sejtek kezelése a megfelelő sejtenyésző médiumban zajlott 37°C -on 1 óráig.

Fenotrin esetében 0, 20, 50, 100, 500, 1000 μM -os koncentrációkkal végeztük a kezeléseket, melyek nem idéztek elő számottevő sejtpusztulást. A fenotrinnal, valamint a

kontrollként alkalmazott oldószerével (metanol) történő kezelés a megfelelő sejtenyészítő médiumban zajlott 37°C-on 1 óráig.

Etilén-oxid koncentrációjának meghatározása gázkromatográfiás módszerrel

Az etilén-oxid aktív koncentrációjának változását az inkubáció során gázkromatográfiás eljárással követtük nyomon. Az EtO vizes oldatban történő mennyiségi meghatározásához HP 5890 típusú, lángionizációs detektorral, HP 7673 automata mintavevővel (Hewlett-Packard, Wilmington, USA) és „split” injektorral ellátott gázkromatográfot használtunk. A kromatográf egy HP-PLOT U típusú, 30 méter hosszú, 0,32 mm belső átmérőjű, 10 µm rétegvastagságú divinil-benzol/etilén-glikol-dimetakrilát bevonatú kromatográfiás oszloppal (Agilent Technologies, Palo Alto, CA, USA) volt felszerelve.

Az analitikai mérések elvégzése a genotoxikus vizsgálatokkal azonos körülmények között történt. Az inkubáció 0., 15., 30., 45. és 60. percében 1 ml sejtenyészítő médiumot Eppendorf csőbe pipettáztunk, 0°C-ra hűtöttük, lecentrifugáltunk, majd a felülúszót a kromatográfiás mérésig 1,5 ml-es légmentesen záródó üvegcsőbe pipettáztuk át. A teljes inkubációs időre vonatkozó tényleges expozíciós szinteket az EtO aktív koncentrációjának idővel súlyozott átlagaként határoztuk meg.

Életképességi teszt

A sejtek életképességét kezelés előtt és után kombinált fluoreszcens festési eljárással, Calcein AM és 7-AAD fluoreszcens festékeket felhasználva vizsgáltuk. A Calcein AM (calcein-acetoximetilészter) olyan nem fluoreszcens, apoláris molekula, ami passzívan bejut a sejtekbe, és ott endogén észterázok az AM csoport hasításával fluoreszcens calcein anionná alakítják, mely a citoplazmában marad. A 7-AAD (7-aminoactinomycin D) egy DNS-interkaláló festék, mely az elpusztult vagy haldokló sejtek plazmamembránján áthatol, de az élő sejteken nem.

Genotoxicitási teszt

A DNS károsodás detektálására a Singh és munkatársai által kifejlesztett üstökös elektroforézis alkalikus változatát alkalmaztuk, kisebb módosításokkal. Az egyik oldalukon érdesített, zsírtalanított tárgylemezeket előzetesen 1%-os normál olvadáspontú agaróz géllal (NMA) fedtünk, melyet megszilárdulás után eltávolítottunk. Ezután egy új 1%-os NMA réteget szélesztettünk a tárgylemez felszínére. A 0,75%-os alacsony olvadáspontú agaróz gélben (LMA) szuszpendált sejteket ($\sim 2 \times 10^4$ sejt/lemez) felvittük az 1%-os NMA rétegre, melyet egy további 0,75%-os LMA réteggel fedtünk. A gél megszilárdulása után a lemezek fénytől elzárt, 4°C-os lizáló oldatba kerültek min. 1 órára. A citoplazma emésztése után a lemezeket 20 percre horizontális elektroforézis kádban lévő jéghideg alkalikus elektroforézis pufferbe helyeztük, hogy elősegítsük a DNS szálak szétválását és a bázishiányos helyek felszakadását. A 20 percig tartó elektroforézis ugyanebben a közegben zajlott 0,8 V/cm (~ 300 mA) feszültségű elektromos teret alkalmazva. A lemezeket végül neutrális kémhatású pufferrel mostuk 3 alkalommal, hogy eltávolítsuk róluk a lúgot és a felesleges sókat. A lemezeket szárítás után etidium-bromiddal festettük és 4°C-on nedves kamrában tároltuk a mikroszkópos megtekintésig. Minden mintából két párhuzamos lemezt készítettünk.

Adatelemzés

A fluoreszcens jel detektálását Zeiss Axioplan epifluoreszcens mikroszkóppal végeztük, melyhez 50 W-os higanygőz lámpa, CCD kamera és üstökös képelemző szoftver csatlakozott. A lemezeket 400x nagyítással digitalizáltuk.

Az életképesség megállapítása során FITC szűrőt alkalmaztunk a calcein, míg TRITC szűrőt a 7-AAD gerjesztéséhez. A túlélési arány kiszámításához lemezenként 10 véletlenszerűen kiválasztott mezőben számoltuk le a sejteket (10-30 sejt/látómező). Az életképességet az ismételt kísérletekben meghatározott élő/elpusztult sejtek átlagos százalékos arányával fejeztük ki és elemeztük statisztikai módszerek segítségével.

A genotoxicitás megállapítása során FITC szűrőt alkalmaztunk az etidium-bromid gerjesztésére. Lemezenként 50-50 (100/minta) véletlenszerűen kiválasztott sejtmagot digitalizáltunk. A DNS károsodás mérését Comet Imager v.2.2.1. képelemző program

segítségével, automata-mérési üzemmódban végeztük el, mely során a szoftver által származtatott csóva DNS tartalmat (TD, %-ban), csóvahosszt (TL, μm -ben) és a tail moment értékeket (tail moment = csóva DNS tartalom x csóvahossz) regisztráltuk a DNS károsodás számszerűsítése céljából. A DNS károsodás szintjét az ismételt kísérletekben megfigyelt értékek mediánjainak átlagaként fejeztük ki. E medián értékek szolgálták a statisztikai elemzések alapjául.

Az etilén oxid és hidrogén-peroxid expozíciós kísérleteket tüdő laphámsejteken és keratinocitákon három, míg az egy donortól származó perifériás limfocitákon öt alkalommal végeztük el. A fenotrin expozíciós vizsgálatokat hepatocitákon három, míg az 5 donortól származó perifériás limfocitákon öt alkalommal hajtottuk végre.

A DNS károsodási értékek és az egyes kémiai anyagok koncentrációi közötti statisztikai összefüggés vizsgálatára Pearson-féle lineáris regressziós elemzést használtunk. A kemikáliák különböző koncentrációi által indukált, az ismételt kísérletekben megfigyelt sejtletképeség átlag értékeit, valamint a DNS károsodás ismételt kísérletekben megfigyelt medián értékeit Student féle kétmintás t-próbával hasonlítottuk a kezeletlen sejtek alapértékeihez. A szignifikancia 5%-os ($p < 0,05$) szignifikancia szinten volt értelmezve.

Eredmények

Etilén-oxid

Az etilén-oxid aktív koncentrációja

A sejtenyészto folyadékban lévő etilén-oxid koncentrációja az idő függvényében fokozatos csökkenést mutatott a sejtek 1 órás inkubációja során. A csökkenés üteme az inkubációs fázis kezdetén volt a leggyorsabb, majd az idő előrehaladtával nagymértékben lecsökkent. Növekvő kezdeti koncentrációknál arányosan egyre kevesebb EtO maradt oldott állapotban a sejtenyészto közegben, azaz magasabb dózisos nagyobb csökkenést produkáltak. A médiumból a bemért etilén-oxid mennyiségének 18%-a (20 μM), 35,8%-a (50 μM), 44,5%-a (100 μM) és 52,5%-a (500 μM) a gőztérbe párolgott az 1 óráig tartó inkubáció folyamán. A teljes inkubációs időre vonatkozó átlagos expozíciós szintek a kezdeti koncentrációhoz képest jelentősen alacsonyabbak voltak: 16,4 μM , 32,1 μM , 55,5 μM , 237,5 μM .

Etilén-oxid citotoxikus hatása

A vizsgált sejtípusok életképességét a 0–237,5 μM etilén-oxid koncentrációtartományban kombinált fluoreszcens festéssel vizsgálva minden esetben 88% felettinek találtuk. Az 1 órás etilén-oxid kezelés a sejtéletképesség kismértékű koncentrációfüggő csökkenését okozta.

Etilén-oxid által indukált alkilációs DNS károsodás

Az alkiláló hatású etilén-oxid a 0–237,5 μM koncentrációtartományban a csóva DNS tartalom és a csóvahossz paraméterekkel jelzett DNS károsodás dóziszfüggő emelkedését hozta létre mindhárom sejtípusban.

A tüdő laphámsejtek károsodási értékei közel lineáris összefüggést mutattak az expozíciós szinttel. Az EtO a csóva DNS tartalom nagyfokú növekedését (több mint 8-szoros) okozta az alkalmazott koncentrációtartományban, amely már a legalacsonyabb

koncentrációnál (16,4 μM) statisztikailag szignifikánsnak bizonyult. A sejttípusok közül a tüdő laphámsejtek csóva DNS tartalma volt a legmagasabb a 16,4-55,5 μM koncentrációtartományban. A DNS károsodást jelző csóvahossz paraméter tekintetében a kezeletlen sejtek alapértékeihez viszonyított statisztikailag szignifikáns növekedést (több mint 8-szoros) 55,5 μM -os EtO kezeléstől tapasztaltunk. A teljes koncentrációtartományban a tüdő laphámsejtek produkálták a leghosszabb üstökös csóvákat.

Limfociták és keratinociták esetében a csóva DNS tartalom statisztikailag szignifikáns emelkedése volt megfigyelhető 32,1 és 55,5 μM EtO koncentrációktól. Csóvahossz tekintetében a statisztikailag szignifikáns különbséget limfocitákban 16,4 μM -tól, míg keratinocitákban csak 237,5 μM -os kezelésnél tapasztaltunk. A felső koncentrációtartományban (32,1-237,5 μM) a keratinociták rendelkeztek a legalacsonyabb DNS károsodási értékekkel.

Lineáris regressziós elemzéssel statisztikailag szignifikáns pozitív összefüggést mutattunk ki a DNS károsodási értékek és az alkalmazott koncentrációk között. A legmeredekebb emelkedést tüdő laphámsejtek (TL, $\beta = 0.029$) és limfociták esetében tapasztaltuk (TD, $\beta = 0.211$).

Hidrogén-peroxid citotoxikus hatása

A vizsgált sejttípusok kombinált fluoreszcens festéssel kimutatott életképességét minden egyes kísérletben 87% felettinek találtuk. Az 1 órás H_2O_2 kezelés a sejtleletképesség csak kismértékű dóziszfüggő csökkenését okozta az alkalmazott koncentrációtartományban.

Hidrogén-peroxid által indukált oxidatív DNS károsodás

A vizsgált sejttípusokat 0-10 μM koncentrációjú hidrogén-peroxiddal kezeltük az oxidatív és alkiláló DNS károsító hatással szembeni érzékenységük összevetése céljából.

A H_2O_2 a DNS károsodás dóziszfüggő emelkedését hozta létre mindhárom sejttípusban. A tüdő laphámsejtek rendelkeztek a legkisebb károsodási értékekkel a teljes koncentrációtartományban. Alacsony koncentrációjú kezeléseknél (1, 2 μM) jelentéktelen mértékű DNS károsodást detektáltunk mind tüdő laphámsejtekben, mind keratinocitákban. A csóva DNS tartalom és a csóvahossz paraméterek statisztikailag szignifikáns növekedését

limfociták esetében 2 μM -os, a másik két sejttípus esetében csak magasabb koncentrációknál (tüdő laphámsejtekben 5 μM -nál, keratinocitákban 10 μM -nál) tapasztaltuk.

Lineáris regressziós elemzéssel statisztikailag szignifikáns pozitív összefüggést találtunk a DNS károsodási értékek és az alkalmazott expozíciós szintek között, mely tüdő laphámsejtek esetében volt a legkevésbé kifejezett (TD, $\beta = 1.441$; TL, $\beta = 0.293$).

A restriktív endonukleáz (Fpg) kezelés által kimutatott oxidatív típusú DNS károsodást az enzimkezeléssel és anélkül megfigyelt tail moment paraméter értékeinek különbségeként fejeztük ki. Limfocitákban és keratinocitákban a H_2O_2 dóziszfüggő módon növelte az Fpg által detektálható oxidatív DNS károsodás szintjét, azonban ez az emelkedés egyik koncentrációnál sem bizonyult statisztikailag szignifikánsnak. Tüdő laphámsejtekben az Fpg által detektálható oxidatív DNS károsodás mértéke minimális volt.

Fenotrin

Fenotrin citotoxikus hatása

Az 1 órás fenotrin kezelés csekély mértékű koncentrációfüggő sejtpusztulást indukált mind perifériás limfocitákban, mind hepatocitákban. Mindkét sejttípus viszonylag magas, legalább 77%-os túlélést mutatott minden kezelésnél az alkalmazott koncentrációtartományban.

Fenotrin genotoxikus hatása

A fenotrin a csóva DNS tartalom és csóvahossz paraméterekkel jelzett DNS károsodás dóziszfüggő emelkedését hozta létre mindkét sejttípusban, mely egyértelműen utal a vizsgált peszticid genotoxikus képességére.

A genotoxicitást jelző paraméterek értékeire folyamatos emelkedés volt jellemző a teljes koncentrációtartományban, mely perifériás limfociták esetében 20 μM (TL) és 50 μM (TD), míg hepatociták esetében 50 μM (TD) és 100 μM (TL) koncentrációktól vált

statisztikailag szignifikáns. A perifériás limfociták a felső koncentrációtartományban (50-1000 μM) lényegesen nagyobb DNS károsodási értékekkel bírtak, mint a májsejtek.

A DNS károsodási értékek és az alkalmazott kezelések között statisztikailag szignifikáns pozitív összefüggést találtunk mind limfociták, mind hepatociták esetében. A meredekebb emelkedést perifériás limfocitákban figyelhettük meg (TD, $\beta = 0.066$; TL, $\beta = 0.005$).

Fenotrin által indukált oxidatív DNS károsodás

A fenotrin DNS károsító hatásmechanizmusát az oxidatív károsodás kimutatására alkalmas restriktív endonukleáz emésztéssel is megvizsgáltuk, melyet az Fpg jelenlétében és hiányában megfigyelt tail moment paraméter értékeinek különbségeként fejeztünk ki. A fenotrin Fpg kezelés által kimutatható, bár a kezeletlen sejtekhez képest statisztikailag nem szignifikáns mértékű, dóziszfüggő oxidatív DNS károsodást idézett elő a hepatocitákban és perifériás limfocitákban egyaránt.

Mindkét sejttypusban szignifikáns összefüggés volt ugyanakkor megfigyelhető lineáris regresszióval az alkalmazott koncentrációk és a fenotrin által kiváltott oxidatív DNS károsodás értékei között. A limfociták az oxidatív DNS károsodási szintek meredekebb emelkedését ($\beta = 0.001$) produkálták a teljes koncentrációtartományban, ami nagyobb érzékenységre utal.

Megbeszélés

A kemikáliák, köztük a különböző biocid vegyületek egyre növekvő mértékben történő előállítására és felhasználására alátámasztja az általuk okozott egészségügyi kockázatok felderítésének fontosságát. A kezdeti genotoxikus károsodások alapvető szerepet játszanak a rosszindulatú daganatok kialakulásában, ezért a biocidok genotoxikus tulajdonságainak jellemzése elengedhetetlen feltétele a hatékony rák megelőző intézkedések megtervezésének és végrehajtásának.

Kutatásaink során két, egyes munkahelyeken és olykor a mindennapi környezetünkben is előforduló biocid vegyület, az etilén-oxid és a fenotrin genotoxikus képességét tanulmányoztuk laboratóriumi körülmények között üstökös elektroforézis segítségével. Egyik célunk volt megvizsgálni az etilén-oxid alkiláló hatásának a tüdőrák kialakulásában betöltött szerepét tüdő laphámsejteknek, perifériás limfocitáknak és keratinocitáknak az etilén-oxid alkiláló és a hidrogén-peroxid oxidatív típusú DNS károsító hatásaival szembeni érzékenységi mintázatának összehasonlítása révén. Kutatásaink másik célja a szintetikus peszticid fenotrin használatához kapcsolódó genotoxikus kockázat újraértékelése volt a vegyület DNS károsító hatásának humán perifériás limfocitákon valamint májsejteken történő vizsgálata révén.

Etilén-oxid genotoxikus hatása

Az etilén-oxid egy jelentős, alkiláló hatású biocid vegyület, melyet elsősorattal használnak hőérzékeny anyagok alacsony hőmérsékleten történő kémiai sterilizálási folyamataiban. A légnemű toxinok elsődleges védelmi vonalát a tüdő epitélium képezi, melyben így a daganatos elfajulás kockázata is emelkedett. Állatkísérletes megfigyelések szerint a belélegzett EtO gáz tüdőrák kialakulásához vezethet, azonban emberekben a szer tüdőrák okozó képességét még nem sikerült egyértelműen bizonyítani. Bár genotoxikus képessége egyértelműen igazolt, DNS károsító hatását még nem vizsgálták a tüdőből, mint lokális hatásának feltételezett elsődleges célszervéből származó sejteken. Vizsgálatainkat ugyancsak indokolja, hogy a tüdőszövetnek alkiláló típusú DNS károsító hatásokkal szembeni érzékenysége még mindig nem bizonyított egyértelműen.

Eredményeink alapján az etilén-oxid a vizsgált koncentrációtartományban nagymértékű DNS károsodást idézett elő humán tüdő laphámsejtekben. A szignifikáns genotoxikus károsodást kiváltó legkisebb EtO koncentráció 16,4 μM volt. A limfociták a tüdősejtekhez viszonyítva valamelyest kisebb érzékenységet mutattak a szer alkiláló hatásával szemben. A keratinociták a másik két sejttípushoz viszonyítva meglehetősen ellenállóknak bizonyultak és csak magas koncentrációjú kezeléseknél szenvedtek statisztikailag szignifikáns genotoxikus károsodást. Eredményeink alátámasztják azokat a korábbi megfigyeléseket, miszerint a szintén alkiláló hatású mustárgáz jelentős DNS károsodást okozott tüdő laphámsejtekben és fehérvérsejtekben. Egy, az EtO genotoxikus hatását különböző humán sejtvonalakon üstökös elektroforézissel vizsgáló, korábbi tanulmány a limfociták és keratinociták EtO-val szembeni érzékenységi mintázatát az általunk megfigyelhez nagyon hasonlóknak találta.

Az EtO alkiláló hatásával szemben mutatott nagyfokú érzékenységgükkel ellentétben a tüdő laphámsejtek feltűnően ellenállóak voltak a hidrogén-peroxid oxidatív típusú DNS károsító hatásával szemben, amely a tüdősejteknek a másik két sejttípushoz viszonyított alacsony szintű DNS károsodásában nyilvánult meg. A DNS károsodás statisztikailag szignifikáns emelkedését tüdő laphámsejtekben csak 5 μM , míg limfocitákban már alacsonyabb koncentrációnál (2 μM) megfigyelhettük.

Az Fpg enzimes emésztés egyértelmű H_2O_2 által indukált oxidatív DNS károsodást detektált limfocitákban és keratinocitákban, míg tüdő laphámsejtekben az oxidatív károsodás jelenlétét nem sikerült kimutatni az alkalmazott koncentrációtartományban. A tüdő laphámsejtek fokozott rezisztenciájának hátterében feltehetően a tüdőszövet folyamatos oxidatív stressznek való kitettsége állhat, amiből kifolyólag a sejtek hatékony antioxidáns védekező mechanizmusokkal rendelkeznek. Eredményeink összhangban vannak a tüdő laphámsejtek H_2O_2 rezisztenciájáról alkotott általános elképzelésekkel.

Vizsgálatunk további figyelemre méltó megállapítása, hogy az 1 órás inkubáció során a sejteket körülvevő tápfolyadék etilén-oxid koncentrációja gázkromatográfiás módszerrel meghatározva jelentős mértékben lecsökkent, amit az EtO belső dózisterhelésének becslése során szükséges figyelembe vennünk. Az EtO teljes inkubációs időre jellemző átlagos expozíciós szintjei lényegesen alacsonyabbak voltak, mint a kezdeti koncentrációk, mely az EtO illékony tulajdonságával magyarázható.

A kísérleteinkben alkalmazott alacsony EtO koncentrációk megfeleltethetők a munkahelyi expozíciók következtében az emberi vérben kialakuló szintnek, mely nagymértékben függ az etilén-oxid aktuális légtér-koncentrációjától. *Brugnone és mtsai.* az etilén-oxid légköri és vérkoncentrációjának összefüggését vizsgálva megállapították, hogy az EtO szérumban szintje átlagosan 3,3-szorosa a környezeti levegőben mérhető koncentrációnak. Ennek értelmében a genotoxikológiai kísérleteink során szignifikáns genotoxikus károsodást létrehozó legkisebb hatásos dózis (16,4 μM) 233 mg/m^3 -es légtér-koncentráció eredményeként jöhet létre, melyet számos alkalommal mértek már egyes munkahelyeken. Figyelembe véve a rákkeltő anyagokra az alacsony dózistartományok nem lineáris extrapolációja és az egyéni variabilitás miatt általánosan alkalmazott bizonytalansági tényezőket, eredményeink alátámasztják az etilén-oxid USA-ban és hazánkban hatályos 1,8 mg/m^3 -es munkalégtér határértékének megfelelő szintjét, azonban felhívják a figyelmet az Egyesült Királyságban megállapított indokolatlanul magas, 9,2 mg/m^3 -es határértékre.

Összefoglalva, a tüdő laphámsejtek fokozott érzékenységet mutattak az etilén-oxid alkiláló, míg jelentős rezisztenciát tanúsítottak a hidrogén-peroxid oxidatív típusú DNS károsító hatásával szemben. Megfigyeléseink alátámasztják azt a feltételezést, miszerint a tüdő laphámsejtek az etilén-oxid és egyéb alkiláló genotoxikus ágensek érzékeny célsejtjei lehetnek, illetve hogy EtO expozíció szerepet játszhat a tüdőrák kialakulásában.

Fenotrin genotoxikus hatása

A szintetikus piretroidok csoportjába tartozó fenotrin különféle háztartási rovarkártevők és szúnyogok elpusztítására széles körben alkalmazott rovarirtó szer, melynek direkt DNS károsító hatásáról kevés ismerettel rendelkezünk. Genotoxikus képességéről csupán egyetlen tanulmány számolt be, melyben a fenotrin által indukált oxidált DNS bázisok megjelenését vizsgálták patkányok máj- és vesesejtjeiben. A szert 0,2%-os (~6 mM) koncentrációban tartalmazó rovarirtók mutagén hatását Ames teszttel vizsgálva korábbi tanulmányok negatív eredményre jutottak. Állatkísérletekben a fenotrin növelte egyes májdaganatok előfordulási gyakoriságát, azonban ez statisztikailag nem bizonyult szignifikánsnak. Egy másik tanulmány emlőrák kialakulásával hozta összefüggésbe, viszont további vizsgálatok nem támasztják alá rákkeltő tulajdonságát.

Eredményeink alapján a fenotrin perifériás limfocitákban és hepatocitákban a DNS károsodás jelentős, koncentrációfüggő emelkedését hozta létre számottevő citotoxikus hatás nélkül. A genotoxicitást jelző paraméterek értékeire statisztikailag szignifikáns növekedés volt jellemző perifériás limfociták esetében 20 μM (csóvhossz), valamint májsejtek esetében 50 μM (csóva DNS tartalom) koncentrációtól. A hepatociták érzékenysége alacsonyabb volt a fenotrin genotoxikus hatásával szemben, melynek hátterében feltehetően a májsejtek aktív méregtelenítő funkciója állhat.

Mindkét sejtípusban Fpg kezeléssel kimutatható mértékű oxidatív típusú DNS károsodás volt megfigyelhető, amely azonban statisztikailag nem bizonyult szignifikánsnak. Mindazonáltal vizsgálatunk felhívja a figyelmet a fenotrin egyértelmű genotoxikus képességére, hiszen az első olyan kísérletes eredményeket szolgáltatja, melyek szignifikáns DNS károsító hatásról számolnak be már alacsony (mikromólos) koncentrációtartományban.

A lakosság elsősorban a háztartási rovar- és tetűirtó szerek használatából eredően és az emiatt esetlegesen beszennyezett élelmiszerek lenyelésével exponálódhat fenotrinnal, emellett jelentős munkahelyi expozíció is kialakulhat. A fenotrin vizelettel kiválasztott metabolitjai hasznos expozíciós biomarkerként szolgálhatnak, azonban jelenleg nem rendelkezünk elegendő, a fenotrinra vonatkozó toxikokinetikai ismerettel ahhoz, hogy a lebontási termékek vizeletben mért szintjéből a fenotrin endogén koncentrációjára vagy akár az azt létrehozó környezeti expozíció mértékére következtethessünk. A fenotrin metabolizmusát jellemző, megbízható toxikokinetikai adatok hiányában nem lehetséges megbízható módon megbecsülni a vizsgálatunkban alkalmazott koncentrációknak megfelelő vizelet metabolit szinteket. Jelenleg csak néhány, fenotrinhoz hasonló piretroid típusú peszticidről rendelkezünk adatokkal, melyek lebontási termékeit ipari munkások vérében és vizeletében határozták meg. A fenvalerát vizeletben mért koncentrációja 0,044 μM volt, míg a cipermetrin plazmakoncentrációja elérte az 1,08 μM -os szintet, ám ezen peszticidek toxikokinetikai jellemzői eltérhetnek a fenotrinétól.

Összefoglalva, eredményeink az elsők között szolgáltatnak közvetlen bizonyítékot arra, hogy a fenotrin kimutatható genotoxikus képességgel rendelkezik. A vizsgálatainkban alkalmazott alacsony (mikromólos) koncentrációtartomány közelít, bár valamelyest meghaladja a fenotrin expozíciónak kitett személyekben a gyakorlatban feltételezhetően kialakuló, más szintetikus piretroidok toxikokinetikai adataiból becsülhető, belső

koncentrációt. Mindazonáltal a genotoxikus hatások sztochasztikus jellegéből fakadóan, miszerint nem állapítható meg biztonságos küszöbdózis, a DNS károsodás lehetősége alacsonyabb koncentrációtartományban sem zárható ki. A szer toxikus tulajdonságaira vonatkozó korlátozott számú adat, valamint a primer és szekunder sejt kultúrákon általunk megfigyelt pozitív eredmények fényében a fenotrin genotoxikus hatásának részletes feltárására további vizsgálatok szükségesek.

Következtetések és ajánlások

- Az üstökös elektroforézis alkalikus változata alkalmas és érzékeny módszernek bizonyult az egyedi sejtek DNS károsodásának kimutatására, lehetővé téve a különböző jellegű DNS károsító hatásokkal szemben érzékeny sejttypusok azonosítását.
- Az etilén-oxid 0-237,5 μM -os, valamint a hidrogén peroxid 0-10 μM -os koncentrációtartományban dóziszfüggő DNS károsodást hoz létre humán tüdő laphámsejtekben, perifériás limfocitákban és keratinocitákban jelentős mértékű sejtpusztulás előidézése nélkül.
- A tüdő laphámsejtek fokozottan érzékenyek az EtO alkiláló hatására, azonban nagyfokú rezisztenciát tanúsítanak a H_2O_2 oxidatív DNS károsító hatásával szemben.
- A tüdő laphámsejtek az EtO alkiláló hatásának érzékeny célsejtjei lehetnek, ezáltal EtO expozíció elősegítheti a tüdőrák kialakulását.
- Eredményeink megerősítik az etilén-oxid USA-ban és hazánkban hatályos munkalégtér határértékének megfelelő szintjét (1,8 mg/m^3), azonban felhívják a figyelmet az Egyesült Királyságban alkalmazott indokolatlanul magas (9,2 mg/m^3) határértékre.
- A fenotrin 0-1000 μM -os koncentrációtartományban dóziszfüggő DNS károsodást hoz létre humán perifériás limfocitákban és hepatocitákban számottevő mértékű sejtpusztulás előidézése nélkül.
- A fenotrin kimutatható mértékű oxidatív típusú DNS károsodás idéz elő a vizsgált sejttypusokban.
- Ajánlott a fenotrinhoz kapcsolódó egészségi veszélyek felülvizsgálata tekintettel a vegyület lehetséges DNS károsító hatására.
- A szer expozíciójának és ezáltal potenciális egészségkárosító hatásainak minimalizálása érdekében javasolt a fenotrin tartalmú termékek körültekintő használata és a közvetlen emberi alkalmazásának kerülése.



DEBRECENI EGYETEM
EGYETEMI ÉS NEMZETI KÖNYVTÁR
PUBLIKÁCIÓK



Iktatószám: DEENKÉTK/157/2014.
Tételszám:
Tárgy: Ph.D. Publikációs Lista

Jelölt: Nagy Károly
Neptun kód: SD7JB2
Doktori Iskola: Egészségtudományok Doktori Iskola
MTMT azonosító: 10039469

A PhD értekezés alapjául szolgáló közlemények

1. **Nagy, K.,** Rácz, G., Matsumoto, T., Ádány, R., Ádám, B.: Evaluation of the genotoxicity of the pyrethroid insecticide phenothrin.
Mutat. Res. Genet. Toxicol. Environ. Mutagen. 770, 1-5, 2014.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.mrgentox.2014.05.001>
IF:2.22 (2012)
2. **Nagy, K.,** Ádány, R., Szűcs, S., Ádám, B.: Susceptibility of lung epithelial cells to alkylating genotoxic insult.
Environ. Mol. Mutagen. 54 (8), 682-689, 2013.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1002/em.21800>
IF:3.708 (2012)

A közlő folyóiratok összesített impakt faktora: 5.928

A közlő folyóiratok összesített impakt faktora (az értekezés alapjául szolgáló közleményekre): 5.928

A DEENK Kenézy Élettudományi Könyvtár a Jelölt által a Publikációs Adatbázisba feltöltött adatok bibliográfiai és tudományometriai ellenőrzését a tudományos adatbázisok és a Journal Citation Reports Impact Factor lista alapján elvégezte.

Debrecen, 2014.06.23



A témához kapcsolódó konferencia részvételek

Nagy K, Ádám B, Ádány R: oral: Tüdő és vastagbél hámsejtek érzékenysége etilén-oxid genotoxikus hatásával szemben. Népegészségügyi Képző- és Kutatóhelyek országos Egyesületének IV. Konferenciája, 2010. szept. 2-4., Szombathely, Magyarország

Nagy K, Ádám B, Ádány R: poster: Increased role of the alkylating effect of ethylene oxide in the genotoxic damage of lung epithelial cells. Népegészségügyi Képző- és Kutatóhelyek országos Egyesületének V. Konferenciája, 2011. aug. 31 – Szept. 2., Szeged, Magyarország

Nagy K, Ádám B, Szűcs S, Ádány R: poster: Toxicokinetic monitoring of human cell cultures exposed to ethylene oxide. Népegészségügyi Képző- és Kutatóhelyek országos Egyesületének VI. Konferenciája, 2012. szept. 5-7., Budapest, Magyarország

Nagy K, Rác G, Takashi M, Ádány R, Ádám B: oral: A szintetikus peszticid fenotrin genotoxikológiai jellemzése üstökös elektroforézis segítségével. Népegészségügyi Képző- és Kutatóhelyek országos Egyesületének VII. Konferenciája, 2013. szept. 4-6., Kaposvár, Magyarország

Nagy K, Ádány R, Szűcs S, Rác G, Takashi M, Ádám B: oral: Munkahelyi és egyéb környezeti expozíciókban azonosított biocid vegyületek genotoxikológiai jellemzése: a sterilizáló szerként használt etilén-oxid és a szintetikus piretroid fenotrin. Népegészségügyi Képző- és Kutatóhelyek országos Egyesületének VIII. Konferenciája, 2014. aug. 27-29., Nyíregyháza, Magyarország

Nagy K, Ádány R, Szűcs S, Ádám B: poster: Susceptibility of lung epithelial cells to alkylating genotoxic insult. Az Európai Toxikológiai Egyesületek 50. Kongresszusa (EUROTOX), 2014. szept. 7-10., Edinburgh, Skócia