

Nyugat-Magyarországi Egyetem Savaria Egyetemi Központ  
Természettudományi Kar  
Biológia Intézet

## **Koffein tartalmú italok hatása tenyésztett C2C12 vázizomsejtre**

Konzulensek:

Nyáriné Dr. Aleksza Magdolna

*Ph. D., orvosbiológus*

*egyetemi docens*

Dr. Molnár Péter

*Ph. D., egyetemi docens*

Készítette:

Fürst Nikolett

*Biológia szak*



Szombathely

2014

# Tartalomjegyzék

2	Bevezetés:.....	- 1 -
3	Célkitűzés:.....	- 1 -
4	A kávé.....	- 2 -
4.1	Legendák és a kávé története:.....	- 2 -
4.2	Néhány érdekesség:.....	- 4 -
5	Energiaitalok .....	- 6 -
5.1	Történeti áttekintés: .....	- 6 -
5.2	Az energiaitalok főbb összetevői: .....	- 8 -
5.3	Az energiaitalok főbb összetevőinek jellemzése: .....	- 8 -
6	Irodalmi áttekintés.....	- 12 -
6.1	A koffein szerkezete, élettani hatása, hatásmechanizmusa .....	- 12 -
7	Vizsgálataim alapjai:.....	- 14 -
7.1	A C2C12 sejtvonal .....	- 15 -
8	Anyagok és eszközök.....	- 16 -
9	Kísérlet menete:.....	- 17 -
9.1	A sejtvonal előkészítése: .....	- 17 -
9.2	Vizsgált termékek előkészítése: .....	- 17 -
9.3	Koffein hozzáadása a sejtekhez .....	- 19 -
9.4	A sejtek túlélésének mérése .....	- 22 -
9.5	Ábrázolás és statisztikai értékelés .....	- 23 -
10	Eredmények: .....	- 24 -
10.1	Az energiaitalok esetében:.....	- 24 -
11	Négy napos kísérlet:.....	- 36 -
12	Sejtek túlélésének mérési eredményei:.....	- 39 -
13	Összefoglalás és megvitatás.....	- 41 -
14	Köszönetnyilvánítás .....	- 42 -
15	Források: .....	- 43 -

## **1 Bevezetés:**

A koffein tartalmú italok (kávé, energiatital) fogyasztása napjainkban egyre népszerűbb és mennyiségileg egyre nagyobb méreteket öltő tevékenység. Napjainkban szinte már elképzelhetetlen, hogy az ember a napi tevékenységek végtelen sora közé ne iktasson be pár nyugodt percet egy kellemes kávé elfogyasztására.

Gondolok itt akár a reggeli ébredés utána elfogyasztott frissen főzött kávéra egy szendvics mellett, a nagy sietségben elfogyasztott 2in1 vagy 3in1 porkávékra a munkahelyen, egy kellemes kávézóban töltött délután a barátokkal, vagy akár csak ha a saját mindennapjaimra gondolok, akkor a két szeminárium között tartott szünetben mindig jól esik egy pohár, forró, élénkítő kávé.

Felmérések szerint a fiatalok egynegyede naponta iszik valamilyen kávé, egyharmaduk pedig rendszeres kávéfogyasztónak nevezhető, amely legalább 2-3 csésze kávé jelent naponta.

## **2 Célkitűzés:**

Szakedolgozatom célja olyan koffeintartalmú italok vizsgálata, melyeket mindennap fogyasztunk. Ezeknek a termékeknek a jótékony illetve káros hatását tanulmányoztam tenyésztett vázizom sejteken.

Vizsgálataim célja meghatározni, hogy egy adott kávékülönlegesség vagy magas koffeintartalmú energiatital milyen hatással van a vázizomsejtek számának változására, osztódására, differenciálódására.

Úgy vélem azért fontos ez mert, az egyetemisták egyre több kávé és energiatitalt fogyasztanak, különös tekintettel a stresszhelyzetként megélt vizsgaidőszakra.

## **3 A kávé**

### **3.1 Legendák és a kávé története:**

Mint minden szokásunkról és hagyományunkról, a kávé felfedezéséről és első felhasználásáról is számos legenda született. Ezek legendák elsősorban az iszlám országokban keletkeztek, ahol igyekeztek a kávé származását visszavezetni a vallás elterjedésének első szakaszaiba, ezzel erősítve azt a hitet, hogy a kávé az iszlám fedezte fel, hívóik szent itala.

Az egyik ilyen hagyomány szerint az első csésze kávé Allah nevében Gábrriel arkangyal nyújtotta át Mohamed prófétának, hogy elűzze testi fáradságát és megőrizze szellemének frissességét. Így vált a kávé "isteni itallá".

A sok legenda közül kiemelkedik Adb el Kadír írása. "A történet szerint Aliben Omar elindult mesterével, Shadhellivel Mekkába, hogy részt vegyen a Korán által előírt zarándoklaton. Ezt az utat minden mohamedánnak meg kell tennie életében legalább egyszer, hogy áhítatos szívvel imádkozzék a próféta sírjánál. Az út elején a mester elmondta Omarnak, hogy ő nem lesz képes végigjárni a zarándokutat, de tanítványa menjen csak tovább Mekkába. A sivatagon át vezető nehéz úton Shadhelli majd segíti őt: szelleme fog megjelenni előtte, hogy parancsaival irányítsa útját. A történet szerint így is történt. Egyik este megjelent Shadhelli szelleme és forrást fakasztott, hogy Omar szomját olthassa.

Majd felszólította Omárt, hogy amint ivott, merítsen egy edénybe a vízből és az edényt jól zárja le. Megparancsolta, hogy figyelje a víz állapotát, és ahol a víz nem mozdul tovább az edényben, onnan ne folytassa tovább az útját. Mikor Omar elért Mekka falaihoz látta, hogy a víz nem mozdul, nem lehet kiönteni az edényből. Shadhelli parancsa szerint nem ment tovább, a városba sietett ahol épp pestisjárvány dühögött. A szenvedések láttán Omar buzgón imádkozott és Allah segítségével sok beteget meg is gyógyított imájával.

A hír hallatára a Mekkai király Omar segítségét kérte, hogy az ugyancsak pestisben szenvedő leánya életét is mentse meg. Omar imáinak segítségével a király lánya hamarosan meggyógyult betegségéből. Az uralkodó kérdésére, hogy mivel jutalmazhatja meg Omárt, ő a lányát kérte feleségül.

Ám a király erre nagy haragra gyúlt és elűzte Omárt a városból. Miközben céltalanul vándorolt a sivatagban étlen és szomjan, volt mesterének szelleméhez imádkozott. Imái közben egy pompás madár énekére lett figyelmes, mely madár egy nem mindennapi növényen dalolászott. Amint közelebb ment, hogy enyhítse éhségét, jól megfigyelte a különös növényt. Levelei csillogtak, fehér virágai ékesek voltak és tömérdek terméssel rendelkezett. Hálát adott Shadhellinek, majd a zsebét megtömte a bogyókkal. Este tüzet rakott és ott megfőzte a növény termését, majd elfogyasztotta. A leves felfrissítette, fáradsága eltűnt és újra erősnek érezte magát. Így fedezte fel Omar a kávé.

A kávé felfedezése a leginkább elterjedt történet szerint a XIV. századra tehető, amikor is egy etióp kecskepásztor megfigyelte, hogy ha állatai egy bizonyos növény piros bogyóit legelik, sokkal élénkebben viselkednek. A piros termést magával vitte egy kopt kolostorba, ahol az ott élő szerzetesek készítették el az első kávéfőzetet.

Maga a kávé növény Etiópiában őshonos. A kávéból készült első italt Jemenben jegyezték fel először. Élénkítő hatása miatt a 15. század második felére lett elterjedt. Elsősorban a Szufi rendek virrasztó szertartásain vált jellemzővé fogyasztása, ami fokozatosan hétköznapi szokássá vált a hívők körében.

A 17-18 században Európa-szerte jelentek meg kávéházak, kialakultak a kávékultúrák – elsősorban Németországban, Olaszországban. A kávé így egyre szélesebb réteg számára vált elérhetővé.

Az 1800-as években, a Nílus expedícióban résztvevők fedezték fel a Robusta kávécserejét, amely az Arabikával szemben nagyobb tűrőképességgel, koffeintartalommal és nagyobb terméshozammal rendelkezett.

A kávé egyik legnépszerűbb és legismertebb italunk. Néhány évszázad alatt a világ minden részén elterjedté vált. Diadalmas útjában nem tudták feltartóztatni sem a vallási tilalmak, sem az uralkodók rendelkezései - melyek a kávéfogyasztást igyekeztek korlátozni vagy betiltani. Az araboknál például évszázados kultusza van a kávé főzésének és ivásának, amit szinte szertartásként üznek.

A Korán ugyan tiltja az igaz hívőknek a borivást, de a tiltott és a muzulmánoknál hiányzó bort jól helyettesíti a kávé, amit ezért az "iszlám borának" is neveznek.

A kávé ma már az egész világon szeretik, becsülik nemes ízéért, finom illatáért, frissítő, élénkítő hatásáért. Térhódítása ma sem szűnt meg, fogyasztása folyamatosan növekszik.

A kávéfogyasztás hazánkban is valóságos szenvedéllyé vált. Nap mint nap - otthon és munkahelyünkön, utazás vagy szórakozás közben - rendszeresen kávé iszunk, vendégeinket ezzel kínáljuk. Mindennapi életünk szerves részévé vált. (forrás: <http://kave.merillo.hu/kave-tortenete-hagyomany/>)

### **3.2 Néhány érdekesség:**

- A kávé világméretű elterjedését számos vita és betiltási kísérlet előzte meg. A tiltást megszegőket gályarabsággal, sőt, halálbüntetéssel is fenyegették.
- Ennél érdekesebb kezdeményezések is előfordultak, például a XVII. századi London asszonyai petíciót nyújtottak be IV. György angol uralkodónak, amelyben a város összes kávéházának bezárását kérték, mivel férjeik túl hosszú ideig időztek ott, s elhanyagolták otthoni kötelességeiket.
- A kávé fontosságát mutatta, hogy a török családban való oknak számított, ha a férj nem adott elegendő kávé a feleségének.

A kávé elkészítése során is számos érdekesség figyelhető meg:

- A kávé nem csak italként fogyasztják, hanem a cserje leveléből teát főznek, illetve a nyerscukorral és mézzel ízesített kávészemeket ropogtatnivalóként eszik.
- A **törökös kávé** elkészítése során a finomra őrölt kávé vízzel és cukorral főzik, folyamatosan kevergetik, s többször felforralják.
- **Instant kávé** előállításakor az elkészített kávé lefagyasztják, víztartalmát meleg levegővel eltávolítják, végül a megmaradt masszát porítják.

- A **koffeinmentes változat** gyártása során a koffeint oldószerrel, illetve nagy nyomású szén-dioxiddal vonják ki (amelyet később kólába, energiatalokba kevernek).
- A kávé aromáját a pörkölés során keletkező illékony vegyületek és az italban levő karbonsavak minősége befolyásolja, a 2-metil-valeriánsav például csokoládés, míg a piroszölősav karamelles aromát kölcsönöz a kávénak.

#### Vizsgálatok szerint:

- Egy csésze kávé elfogyasztása után már öt perccel kimutatható a koffein a szövetekben, koncentrációja húsz-harminc perc múlva éri el maximumát. A hatástartam felezési ideje három-hat óra.
- Két dl hosszú kávé 90–180 mg, 0,5 dl presszókávé 100 mg, 2 dl koffeinmentes kávé 3-4 mg, 2 dl tea 30–70 mg, 2 dl kóla 30 mg, míg 3 dkg csokoládé 10–30 mg koffeint tartalmaz.
- Európában a felnőttek naponta átlag 200 mg (100-400 mg) koffeint fogyasztanak, főként kávé és tea formájában, ám üdítőitalokból, beleértve az „energitalokat” is kerül koffein a szervezetbe.
- Mindamellet, az adag mennyisége és koffein tartalma nagyban függ a kulturális szokásoktól. Az Észak-Európai országok ismertek nagymértékű kávéfogyasztásukról: Dániában, Finnországban, Norvégiában vagy Svédországban az átlagos napi koffeinbevitel elérheti a 400 mg-ot.

## 4 Energiaitalok

### 4.1 Történeti áttekintés:

Az első energiaital valószínűleg Skóciából származik, ahol 1901-ben kezdték meg az Irn-Bru (iron brew, vasfőzet) forgalmazását (1. ábra). Az Egyesült Királyság kórházaiban a betegek felépülésének elősegítésére 1929-ben vezették be a Lucozade Energy nevű terméket, melyet roboráló szerként még a 1980-as években is forgalmaztak.

Japánban az 1960-as évektől árusították a Lipovitan nevű készítményt, illetve a Dél-Koreában nem sokkal később a „genki” italokat, melyeket egyértelműen elkülönítettek az üdítőitaloktól.

Az amerikai kontinens üdítőital óriásai közül a Pepsi Cola dobott először piacra energiaitalt Josta néven 1995-ben. 1994-ben Európában, még hozzá Ausztriában tűnt fel az S.Spitz által gyártott Power Horse, de a ma is kapható ital az időközben létrejött vagy beszivárgott rendkívül sok egyéb márka miatt soha nem tudott akkora piaci részesedést elérni, mint a szintén osztrák eredetű, napjainkban leginkább közismert riválisa, a Red Bull.



1. ábra – Iron Brew, az első energiaital.

*Forrás: Google képtár*



### Fogyasztási adatok:

Az energiaiitalok fogyasztásának mértéke világszerte nő, 12-13 évvel ezelőtti tömeges bevezetésük jelentős mértékben átalakította az üdítő- és sportitalpiacot (1. táblázat). Ausztráliában például a vízalapú üdítőitalok eladásai 1997. és 2006. között 13%-kal növekedtek, viszont az eladott mennyiségen belüli megoszlások erőteljesen eltolódtak a cukormentes üdítőitalok, a jeges tea és az energiaiitalok felé. Az energiaiitalok fogyasztóközönsége nagyrészt fiatalokból áll. A vásárlók 65%-a 13 és 55 év közötti, ezen értéken belül a fogyasztók 65%-a férfi.

A hazánkban kapható energiaiitalok egy részét az 1. táblázatban mutatom be.

	<b>Energia ital neve</b>	<b>Koffeintartalom mg/100 ml</b>	<b>+ hatóanyag</b>
1.	Adrenalin	32 mg/100ml	
2.	Blue Bear	32 mg/100ml	
3.	Hell	32 mg/100ml	inozitol
<b>4.</b>	<b>Hell Strong +20%</b>	<b>38,4 mg/100ml</b>	<b>inozitol</b>
<b>5.</b>	<b>Red Bull</b>	<b>32 mg/100ml</b>	<b>arginin</b>
<b>6.</b>	<b>Bomba</b>	<b>15 mg/100ml</b>	<b>inozitol</b>
7.	Burn	32 mg/100ml	inozitol
8.	Watt	32 mg/100ml	inozitol
9.	Budget Energy drink	31,5 mg/ml	niacin
10.	Monster	32 mg/ml	arginin

*1. táblázat – a hazánkban kapható legnépszerűbb energiaiitalok koffeintartalma (A 2011 évi CIII. tv. alapján a Bomba márkájú termék alacsony koffeintartalma miatt nem minősül energiaiitalnak.)*

Malinauskas és mtsai 2007-ben úgy találták, hogy a főiskolai hallgatók 51%-a rendszeresen fogyaszt energiaiitalokat.

Ebből Paddock 2008-ban azt a következtetést vonta le, hogy az amatőr vagy versenyszerű sporttevékenységet folytató diákok körében a fogyasztás mértéke egyező vagy magasabb, hiszen az energiaiitalok reklámjai szellemi, illetve fizikai erőpróba előtt kifejezetten ajánlják e készítmények fogyasztását.

Miller szintén 2008-ban egy új fogalmat is bevezetett.

A „toxikus macsó személyiség” („toxic jock identity”) meghatározás szerint az energiatital elfogyasztása után kialakuló egy olyan ideiglenes állapot, amely a tevékenységhez kapcsolódóan megnövekedett kockázatvállaláshoz, veszélyes viselkedésmódhoz és túlzott maszkulinitáshoz vezet.

## **4.2 Az energiatitalok főbb összetevői:**

Nevük alapján az energiatitalok a hagyományos üdítőitaloknál több energiát tárolnak, illetve képesek átadni az emberi szervezetnek, noha kalóriatartalmuk általában alacsonyabb azokénál valamint fokozzák a szellemi és fizikai teljesítőképességet.

Összetevőik között leggyakrabban metilxantinok (például koffein, de lehet akár teobromin is), B-vitaminok (elsősorban B1, B2, B6 és B12), gyógynövénykivonatok, a magas koffeintartalmú (általában 10-15 mg) guarana (általában 1000 mg), taurin, a (pár tíz-pár száz mg) ginzeng többféle kivonata

(amerikai, szibériai stb.), cukrozott vagy édesített víz, inozitol, karnitin, (általában 600 mg) glükuronolakton és ginkgobiloba-kivonat található.

## **4.3 Az energiatitalok főbb összetevőinek jellemzése:**

- **TAURIN:**

(2-aminoetán-szulfonsav,  $\text{H}_2\text{N}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{SO}_2-\text{OH}$ )

Nem fehérjeépítő aminosav. Az emberi szervezetben is előforduló kéntartamú aminoszulfonsav, amely legnagyobb mennyiségben az agyban, az idegrendszerben található meg.

Az emberi szervezetben kilogrammonként 1 gramm taurin van. Legfőbb forrásai a tenger gyümölcsei (kagyló, rák) és a hal. Alkoholban nem, forró vízben viszont jól oldódik.

Az emberi szervezetben, az idegrendszer és az izmok működésében sokrétű, részben még nem teljesen tisztázott szerepe van. Stabilizálja a sejtmembránokat és szabályozza a kalciumkoncentrációt.

Csökkenti az ionsokk kialakulásának kockázatát. Különböző módokon részt vesz a teljesítmény és az egészség megőrzésének folyamataiban, stabilizálja az agy neurotranszmitterjeinek szintjét. Az izmokban alapvető tápanyagok sejtekbe juttatásával segíti azok működését. Magas szintje az izmokban kedvezően befolyásolja a kalcium és a glükóz izomsejtekbe jutását folyamatos terhelés esetén is, így csökken az izmok károsodásának a veszélye.

Hatással van az inzulin és az adrenalin szintjére, az anyagcserére, a zsiradékok emésztésére, az immunrendszerre, valamint a koleszterinszintre. Extrém magas mennyiségek toxicitást okoznak, ami hasmenést, depressziót, rövid távú memóriavesztést, elvonási tüneteket és gyomorfekélyt eredményezhet.

- **KOFFEIN:**

A koffein a kávé (1-1,5%), tea (2-5%) és kóladió (kb. 1,5%) alkaloidja.

Kis mennyiségben a kakaóbab is tartalmazza.

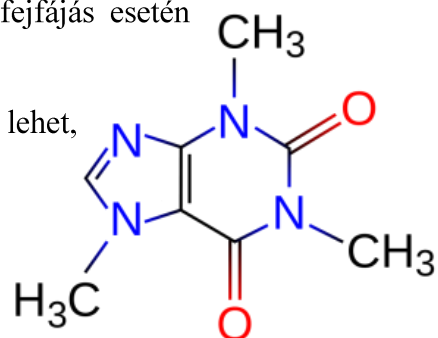
A központi idegrendszert izgatja, élénkíti a szív működést, javítja a szellemi funkciókat, csökkenti a fáradtságot és álmoságot.

Az agy légzőközpontjának ingerlése révén növeli a légzés térfogatát és frekvenciáját.

Az izmok teljesítőképességét fokozza. Az agyalapi vegetatív központok izgatása révén emeli a testhőmérsékletet, a mellékveséből adrenalinot vesz el, hatására a vese erek tágulása miatt fokozódik a vizelet kiválasztás. A nem kábító fájdalomcsillapítók hatását erősíti (elsősorban fejfájás esetén hatásos).

Egyszeri, 250 mg feletti adagja veszélyes lehet, növeli az infarktus, ill. az agyvérzés kockázatát.

A 2. ábra a koffein kémiai szerkezetét ábrázolja.



2. ábra A koffein kémiai szerkezete

- **GUARANA** (kávé-helyettesítő)

A guarana (*Paullinia cupana*) a kétszikűek (Magnoliopsida) osztályába a szappanfaalakúak (Sapindales) rendjébe és a szappanfafélék (Sapindaceae) családjába tartozó faj, mely a brazíliai Amazon esőerdőben honos (3. Ábra).

Jelentős mennyiségű guaranint tartalmaz.

A bennszülött törzsek évszázadok óta használják a teljesítmény és az állóképesség fokozására, étvágycsökkentésre, fáradtság és hasmenés ellen – még másnaposság elleni tünetek, elsősorban fejfájás gyógyítására használták.

A guarana 4-6 % koffein tartalmánál fogva a legerősebb természetes formában előforduló koffein. Biztosítja a kávé stimuláló hatását, azzal a különbséggel, hogy hosszán, 6-8 órán át tartós frissességet biztosít, és nincs semmilyen ismert káros mellékhatása.

A koffeinhez hasonlóan a guarana stimulálja a mellékvesét, hogy az több adrenalin, noradrenalin és dopamint termeljen. Stimulálja a központi idegrendszert illetve a szív-és érrendszert, ami segít legyőzni vagy csökkenteni a fáradtságot. Mennyiségtől függően fokozza a szívösszehúzóerő erejét, gyorsabbá teszi a vizelet kiválasztást, a zsír és cukor lebontását, valamint elősegíti a gyomornedv kiválasztását és gátolja a vérlemezkék összecsapódását. Nemrég fedezték fel, hogy a magokban tesztoszteron gátló 5-alfa-reduktáz is található. Az élénkítő hatású italok készítésén kívül a guaranát általános testi gyengeség, fáradtság ellen, fogyókúrákban és enyhe hasmenés kiegészítő kezelésében alkalmazzák. Fokozza a szellemi teljesítőképességet is. Sportolóknak, szellemi foglalkozásúaknak egyaránt ajánlott. Fájdalomesillapító hatása is ismert.



3. ábra:

*A Guarana növény képe  
Forrás: Google képtár*

- **GINZENG:**

5000 éve használják gyógynövényként, az amerikai kontinensen és a közel-keletirégiókban őshonos. Számos alfaja ismert, gyökerének kivonatát vagy szárított őrleményét hasznosítják. Az energiatalokban a „Panax” nevű alfaj extraktuma található meg. Atléták széles körben használják energiaforrásként, mert növeli a zsírfelhasználást és javítja a hosszú időn át kifejtett izommunkát (alacsonyabb artériás közepnyomás és szívfrekvencia). Erősítő hatással van a kognitív folyamatokra is.

- **L-KARNITIN:**

Egy természetben is előforduló aminosavszerű vegyület, ami a zsírsavak anyagcseréjében játszik szerepet (zsírbontást segíti elő, erre a célra főleg testépítők használják nagy mennyiségben súlycsökkentés céljából).

Történtek vizsgálatok fogyást elősegítő szerepének tisztázására, de ezt a hipotézist egyetlen tanulmány sem igazolta.

<b>Néhány ismert ital koffein tartalom összehasonlítása</b>		
	<b>Koffein tartalom</b>	<b>Átlagos koffein tartalom 6 pohár termékben *</b>
Guarana mag ( <i>Paullinia cupana</i> )	4–8%	200–400 mg
Kávészemek ( <i>Coffea sp</i> )	1–2.5%	100–250 mg
Fekete tea ( <i>Camellia sinensis</i> )	2,5–4,5%	10–60 mg
Csokoládé (kakaó mag)	0,25%	13 mg

\*átalános elkészítési módot feltételezve

2. táblázat –Egyes koffeintartalmú növények koffeintartalmának összehasonlítása Forrás: [htt://www.guarana.hu](http://www.guarana.hu)

## **5 Irodalmi áttekintés**

### **5.1 A koffein szerkezete, élettani hatása, hatásmechanizmusa**

A koffein számos növényben előforduló alkaloid. A kávécsesze (Coffea arabica) magja, a kávébab 1-2% koffeint, a tea (Thea sinensis) levele mintegy 2% koffeint, valamint teofillint (1,3-dimetil-xantint), a kakaó (Theobroma kakaó) magja kevesebb koffeint és teobromint (3,7-dimetil-xantint) tartalmaz (2. táblázat).

Ezek mellett koffeinben gazdag az afrikai Cola acuminata (kóladió), a közép-amerikai Paullinia surbilis (guarana) és a dél-amerikai Ilex paraguayensis (mate tea).

A koffein metilxantin-származék (caffeine) (1,3,7-trimetil-xantin,  $C_8H_{10}N_4O_2$ ), fehér, keserű ízű, kristályos vegyület. Olvadáspontja:  $238^\circ C$ ,  $178^\circ C$  fölött szublimál. Mivel vízben rosszul oldódik, ezért a jól oldódó kettős sóit használják.

A teofillinhez hasonlóan a koffein izgatja a központi idegrendszert; ebből a szempontból a teobromin gyakorlatilag hatástalan.

Elsősorban az agykéregre és a nyúltagyi légző- és vazomotorcentrumra hat izgatólag.

A kéregre kifejtett hatása révén a amfetaminnál mintegy 10-szer gyengébb pszichostimuláns. 150-200 mg-os adagban jelentősen fokozza a szellemi működést és a testi erő kifejtést. Serkenti a gondolattársítást, ítéletalkotást, megfigyelőképességet.

A mozgékonyt fokozza, gátolja a fáradtságérzetet. Állatkísérletekben növeli a feltétlen reflexes tevékenységet, erősíti a kidolgozott feltételes reflexet, de a differenciálást felborítja.

A teobromin, amely a kérget nem izgatja, nem befolyásolja az izommunkát, nem csökkenti a fáradtságérzést.

A metil-xantinok a béka izolált saltorius izmának összehúzóadásait is elősegítik. Ezt a hatást valószínűleg a szarkoplazmatikus retikulumban létrehozott

fokozott  $\text{Ca}^{2+}$ -permeabilitás okozza, mert a koffein elősegíti a szarkoplazmatikus retikulum terminális ciszternájából a  $\text{Ca}^{2+}$  felszabadulását.

A nagyobb adagok álmatlanságot, fokozott ingerlékenységet, izgatottságot okoznak. Toxikus adagokban az idegrendszer minden részére ingerlőleg hat, rendkívül erősen fokozódik a reflexingerlékenység. Állaton a mérgező adagok hatására klónusos görcsök alakulnak ki, és a légzésbénulás halált okoz. Emberben a halálos mérgezést okozó adag 10 g felett van.

A koffein a nyúltagyi légző- és vazomotorközpontot izgató hatása révén hasznos analeptikum. Collapsus állapotában szűkíti a splanchnicus érterületet, az innen kiszoruló vér az agy-, szív-, bőr-, izom-, és tüdő erekbe áramlik át, amelyeket a koffein, közvetlenül az érfalra hatva, kitágít. Így megszűnik a bő étkelés utáni fáradtság, mert az agy több vért kap.

A xantilok az ereket általában tágítják, de az agyi ellenállást növelik, direkt módon hatva az arteriolák izomzatára, vazokonstriktációt okoznak.

Légzőközpont-izgató hatása valószínűleg azért van, mert fokozza annak érzékenységét a  $\text{CO}_2$  iránt. Ezzel a hatással a teofillin is rendelkezik. Izgatja a nyúltagyi vagusközpontot, emellett gátolja a kolinészteráz aktivitását is. E hatások következtében pulzusgyérülést és más paraszimpatikus jellegű izgalmi tünetet válthat ki.

A központi idegrendszeri hatások mellett a koffein számos perifériás hatással is rendelkezik, melyek azonban sok tekintetben ellentétesek a központi idegrendszeri izgalom következményeivel.

Így például míg a vagusközpont izgatása révén csökken a pulzus, ugyanakkor közvetlen szívhatásával fokozza az ingerképzést mind a Sinus-, mind a Tawara- csomóban, sőt a kamrákban is. E hatások eredőjeként a vaguszizgalom után először bekövetkező pulzusgyérülést szapora pulzus, esetleg extrasystolés arrhythmia követi. Az ingervezetést nem befolyásolja, a szívizom munkáját viszont serkenti.

A koffein vízben rosszul (1,6%-ig) oldódik. Gyógyszerként főleg citromsavas sója, a Coffeinum citricum és az injekciós célra elsősorban alkalmazott Coffeinum natrium benzoicum használható. A koffeinsók mintegy

50% koffeint tartalmaznak. A koffein orálisan és parenteralisan egyaránt jól felszívódik, a májban metabolizálódik.

A molekulák kisebb része demetilálódik, és mint di-, illetve monometilxantin ürül a vizelettel. Nagyobb részük azonban oxidálódik és dimetilkarbaminsavig bomlik le.

Terápiás dózisa 0,05-0,3 g, ebben a mennyiségnek kevés mellékhatása van. A gyomornedv volumenét és aciditását fokozza. Ez a kávénál is megfigyelhető mellékhatás, mert a feketekávé serkenti gyomorszekréciót, bár ebben a koffein mellett a pörköléskor keletkező aromás anyagoknak is szerepet játszanak. A gyomorirritáló hatás tejjel és/vagy tejszínnel gátolható. Gyomornyálkahártyát izgató hatása miatt fekély betegség esetén a koffein fogyasztását kerülni kell. A szokásos kávéfogyasztással bejutó koffeinmennyiségek izgató hatása a hipertóniás betegeknek esetleg káros lehet. Tolerancia, habituáció nem alakul ki tartós koffein fogyasztás esetén sem.

(Forrás: Gyógyszertankönyv ???)

## **6 Vizsgálataim alapjai:**

Jelenlegi tudásunk szerint több mint 60 növényfaj tartalmaz különböző mennyiségben koffeint (Sawyer et. al, 1981; Barone Roberts 1984). Még manapság is rengeteg tudományos vizsgálat foglalkozik azzal, hogy feltérképezze, pontosan hogyan fejti ki hatását a koffein. A koffeint elsősorban mint nem szelektív adenosine antagonistát tartják számon, ez az a mechanizmus, amellyel kifejti fő idegrendszeri hatását például az alvásra, gondolkodásra, tanulásra és a memóriára (Ribeiro and Sebastiao, 2010).

Számos szakirodalmi forrás utal arra, hogy a koffein magas koncentrációban gátolja a sejtek proliferációját, valamint sejthalált indukál. A sejtosztódás gátlása során a koffein elnyomja a sejtciklus progresszióját a G0/G1 fázisban. A gátló mechanizmus a sejtnövekedés visszafordításához vezet, ami a karcinogenezis, vagyis tumorsejtek kialakulásának gátlását eredményezi (Hashimoto et al. 2004). Mindezen hatások mellett a koffeinnek a szövetek regenerációjában is lehet befolyásoló szerepe (Suzuki and Hirs, 1999). A koffein hatásáról kísérletekkel



alátámasztott tények bizonyítják, hogy a vázizom teljesítőképességének a növelésére is alkalmas az anyagcsere folyamatok befolyásolásának köszönhetően. A nagy dózisban adagolt koffein képes növelni az állóképességet - például élsportolók esetében.

Más tanulmányok szerint viszont a koffein teljesítménynövelő hatása az állóképesség növelésében részben a vázizom szintjén valósul meg, nem pedig a metabolikus aktivitás megváltozásának eredménye (Tarnopolsky, 2000). Vizsgálataim során arra a kérdésre kerestük a választ, hogy a koffein egy adott koncentrációban (100-szoros hígítás esetén) hogyan hat a vázizomsejtek differenciálódására egy in vitro környezetben.

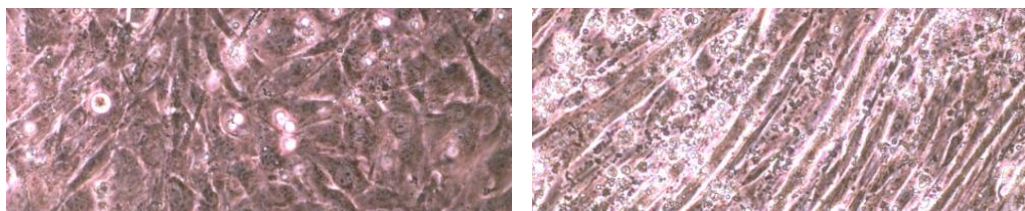
(forrás: (Lakatos 2014) Caffeine hatása vázizomsejtek differenciációjára, Lakatos Renáta és Molnár Péter).

## **6.1 A C2C12 sejt vonal**

A C2C12 sejt vonal Yaffe és munkatársai által 1977-ben létrehozott egér vázizom eredetű myoblast sejt vonal egyik szubklónja (Yaffe & Saxel 1977, Blau et al. 1983). A sejtek a felnőtt C3H egértörzs lábának harántcsíkolt izomzatából nyert immortalizált myoblastok, melyek lószérum hatására myotubulusokat képeznek (4. ábra).

A differenciáltatást 90%-os sejtsűrűségnél kell megkezdeni, ugyanis ezen mértékű denzitás biztosítja a sejtfúziót megelőző sejt-sejt interakció meglétét.

A myoblast tenyészet fenntartásához és a proliferációjuk elősegítéséhez a DMEM tápoldatot 10% FBS-sel, 50 U/ml penicillinnel, és 50 µg/ml streptomycinnel egészítjük ki. Kísérleteinkhez a tenyészetet izomcsövekké differenciáltatjuk, miután elérték az ehhez szükséges 80-90%-os konfluenciát. A differenciálódás elindítása a tápoldat összetételének módosításával történik (Oláh et al. 2011).



4. ábra: A konfluens C2C12 vázizomsejtek mikroszkópikus képe

## 7 Anyagok és eszközök

**AZ ÁBRÁK Számozását javítsd!! A szövegben valahol minden ábrára kell hivatkozni. (Különbenek vannak ott, ha nem hivatkozol rájuk?)**

Tenyésztőedények: Petri-csésze (Lásd 5. ábra), Tenyésztő Flaska (Lásd 4. ábra), Plate (Lásd 5. ábra), Lombik (Lásd 6. ábra), CO2 inkubátor (MedicalExpo) (Lásd. 7. ábra), Steril fülke (S@femate1,2) (Lásd. 8 ábra), Centrifuga Hermle (Lásd 9. ábra)



3. ábra: Petri csésze



8. ábra: Co2-os inkubátor

5. ábra: A differenciálódott egy hetes C2C12 vázizom sejtenyészet mikroszkópikus képe



6. ábra: Tenyésztő flaska



7. ábra Steril fülke

9. ábra: centrifuga

## **8 Kísérlet menete:**

### **8.1 A sejtvonala előkészítése:**

A C2C12 sejteket eredeti flaskájukból eltávolítottuk, mégpedig úgy hogy a rajtuk lévő médiumot szivattyú segítségével leszívattuk amennyire csak lehetséges.

Ezután a sejtekre 3 ml mennyiségű tripszint pipettáztunk, amely a letapadt sejteket feloldotta az edény aljáról és faláról. Körülbelül 5-10 perc alatt a sejtek felúsznak az oldatba, amely mikroszkóp alatt jól látható. Ezek után a sejteket megfelelő mennyiségű médiumot tartalmazó kémcsőbe helyeztük és lecentrifugáltuk. Kísérleteink során kémcsőenként 5 ml médiumot és 4,5 ml tripszin oldatos sejt kultúrát használtunk. A centrifugálást 5 percig kétezres fordulatszámon és 20 °C-on végeztük.

A centrifugálás után a kémcsőben a sejtek és a médiumos tripszines oldat két fázisra különült. A felülúszót pipetta segítségével eltávolítottuk, majd a sejteket 7,5 ml médiumba pipettáztuk, majd 24 lyukú plate-ekbe 100 µl-enként szétosztottunk. Ezek után 37°C-on 5% CO<sub>2</sub> tartalmú inkubátorba tároltuk 24 óráig, míg a sejtek teljesen konfluensek nem lettek.

### **8.2 Vizsgált termékek előkészítése:**

Kísérleteink során 5 kávékülönlegességben, 3 energiatalban valamint egy koffein tablettában található koffein hatását figyeltük.

Az energiatalok közül három eltérő koffeintartalmút választottuk ki (Bomba – 15 µl/100 ml; JAVÍTSD a koncentrációkat, én már egyszer kijavítottam az előző verzióban. mg szerintem, nem ul Hell 32 µl/100 ml; a Hell által forgalmazott +20%-kal magasabb koffeintartalmú energiatal, amelyet a továbbiakban Hell Strong névvel illettek - 38,4 µl/100ml).

Tehát az össz koffeintartalom:

- Bomba: 37,5  $\mu$ l/250 ml (egy doboz)
- Hell: 80  $\mu$ l/250 ml (egy doboz)
- Hell Strong: 96  $\mu$ l/250 ml (egy doboz)

A kávék közül a mindennapi életben leggyakrabban fogyasztott kávékat választottuk.

Ezek a következők voltak:

- főzött feketekávé cukor hozzáadása nélkül
- főzött feketekávé cukorral
- instant granulátumos Nescafé
- 2in1 porkávé
- zöldkávé (granulátumos Nescafé)

A kávék elkészítése során ügyeltünk arra, hogy azok a mindennapokban fogyasztott kávé mennyiségi összetételét tükrözzék. Cukrot csak egy esetben adtunk az egyik kávéhoz, mégpedig az egyik főzött feketekávé esetében, a többi készítéséből kihagytuk. Emellett sem tejet, sem kávétejszínt nem alkalmaztunk.



A vizsgált kávék pontos koffeintartalmát a vizsgálatához szükséges eszközök hiánya miatt nem tudtuk elvégezni.

Ezért az irodalmi átlagértékeket vettük figyelembe:

- pörkölt őrölt kávé átlagos koffeintartalma 85 mg/150 ml (1 csésze),
- az instant kávé 60 mg.

10.-11.-12. ábra:

A vizsgált kávékról készült fotók  
Készítette: Fürst Nikolett

### 8.3 Koffein hozzáadása a sejtekhez

A vizsgált koffeintartalmú termékeket direkt módon adtuk hozzá a sejtenyészethez.

A kísérlet során ügyelni kell a sterilitásra, így magát a kísérletet steril elszívó fülke alatt végeztük steril eszközökkel és laboratóriumi felszerelést alkalmazva. 100-szoros hígításban vizsgáltuk a koffein hatását.

Tehát egy plate-en belül a következő mennyiségeket használtuk: 500  $\mu$ l médiumba 100  $\mu$ l a fenti leírás szerint előkészített sejtszuszpenziót és 6  $\mu$ l vizsgálandó anyagot pipettáztunk. Ezután a plate-eket visszatettük az inkubátorba és egy nap elteltével vizsgáltuk a változást.

A sejtenyészetben bekövetkező sejtszámbeli változásokat illetve a sejtpusztulás mértékét egyrészt mikroszkóp alatt figyeltük, másrészt a sejtek metabolikus működését vizsgáltuk az Alamar Blue assay segítségével.

A kísérlet mozzanatai a 13.-14.-

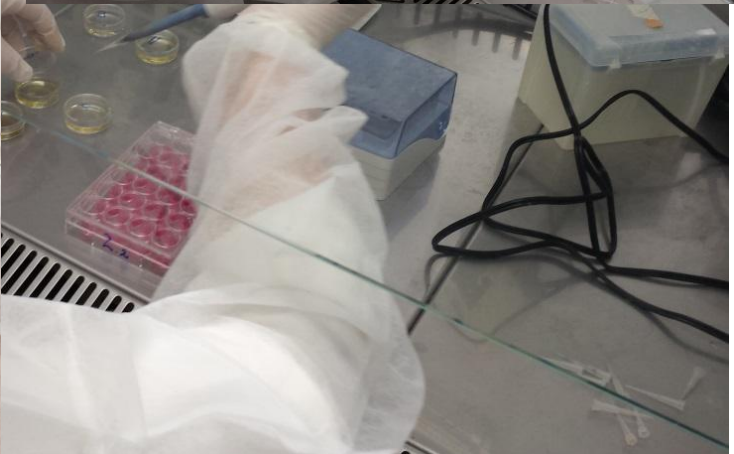
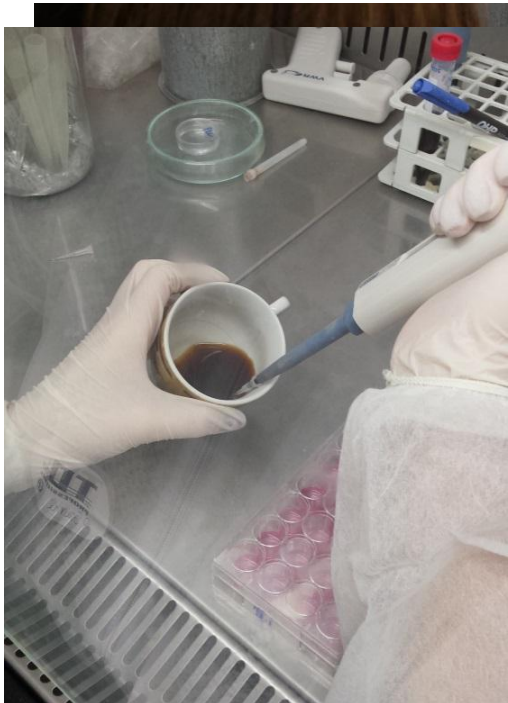
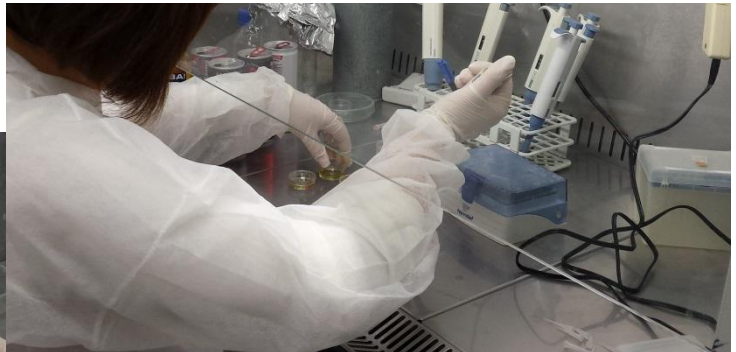


15.-16.-17. fotón figyelhetők meg.



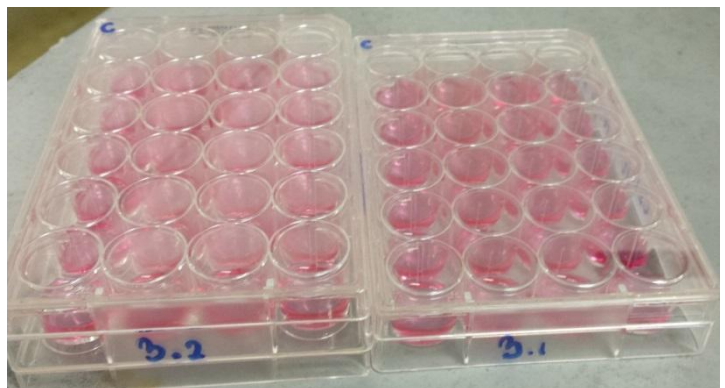
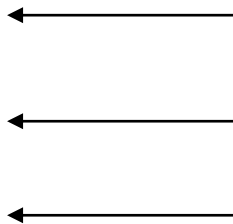
13. ábra: Az energiatalok sejtenyészethez történő hozzáadása automata pipetta segítségével

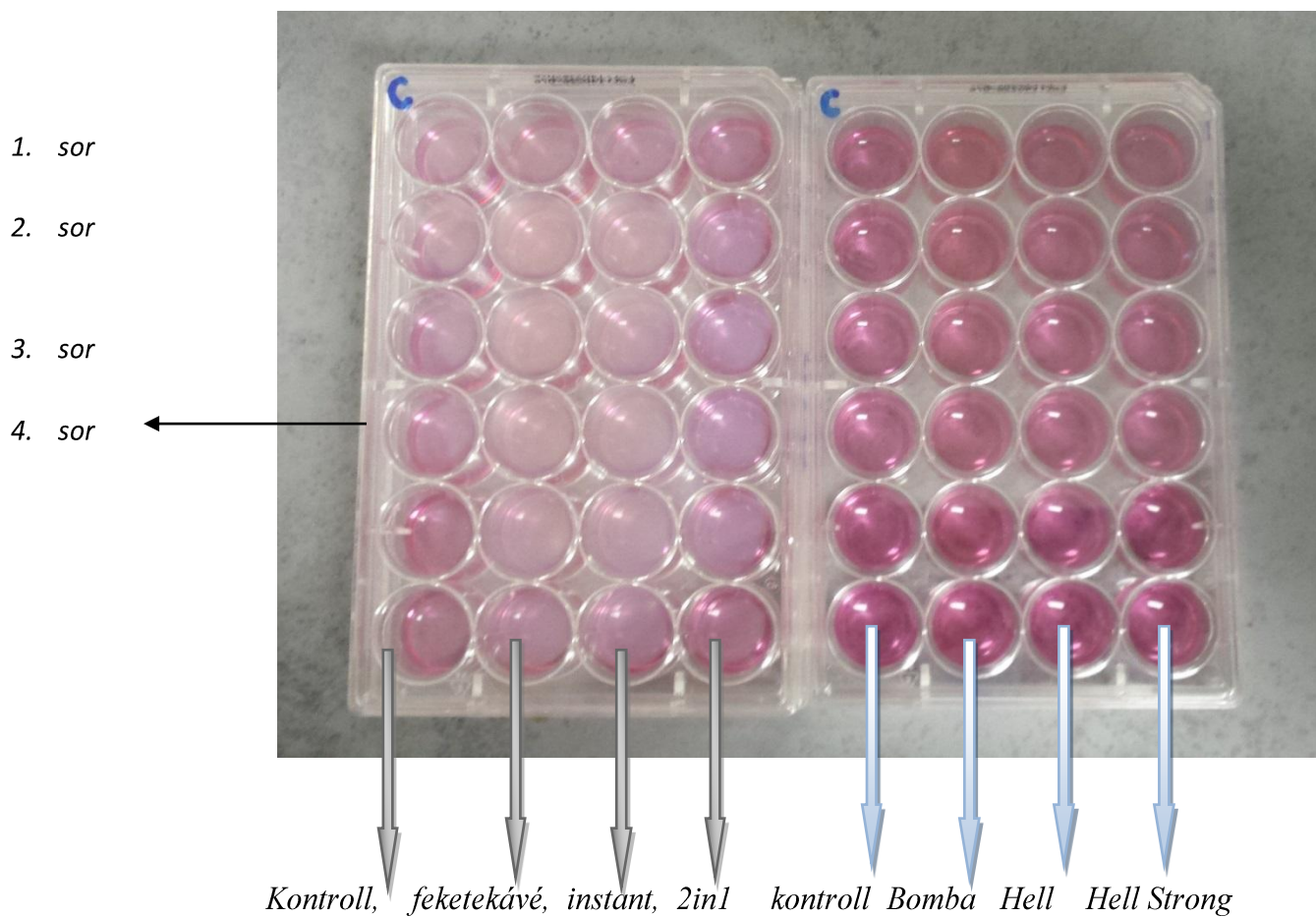
14.-15.-16.-17. képek



A vizsgált anyagokat egy oszlopon belül 6 ismétlésben vizsgáltuk és egy külön oszlopba nem tettünk semmilyen anyagot - ez lett a negatív kontroll.

Ezt a következő ábrán mutatom be:





18. ábra: A kísérlet során használt Palte-ek

#### 8.4 A sejtek túlélésének mérése

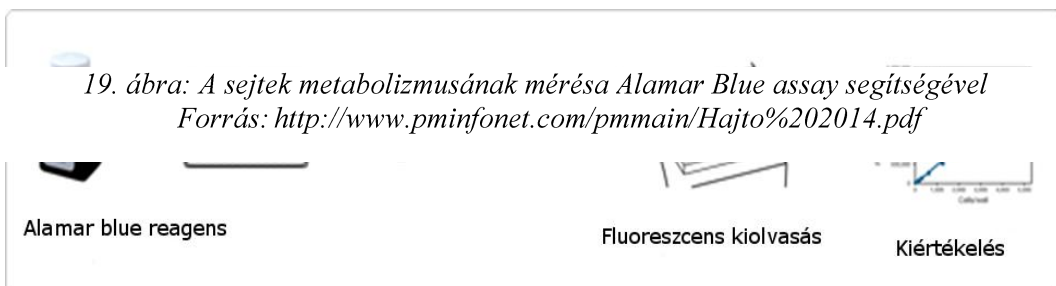
Az inkubálást követően fotók (fáziskontraszt mikroszkóppal, 40x objektívvel készített) segítségével rögzítettük a koffein sejtenyészeteken kiváltott hatását.



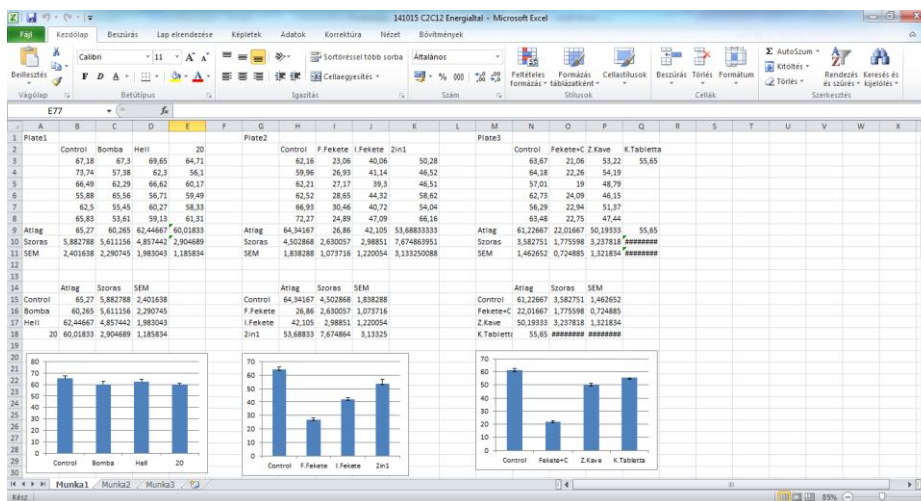
Ezután 0,01 mg/ml Alamar blue festéket adtunk a tenyészetekhez és lemértük a termelődő fluoreszcens metabolit mennyiségét egy fluoreszcens plate reader segítségével (Cytofluor 4000, excitáció: 530 nM, emisszió: 580 nm) minden 5 percben, 30 percen keresztül. ([http://www.pharmacelsus.de/resazurin\\_assay/](http://www.pharmacelsus.de/resazurin_assay/))

## 8.5 Ábrázolás és statisztikai értékelés

Az adatok értékeléséhez és szemléltetéséhez Microsoft Excel programot használtunk.



20. ábra: Az adatok ábrázolása Excelben

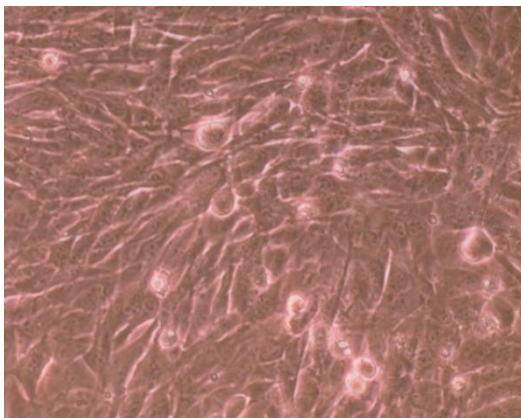


## 9 Eredmények:

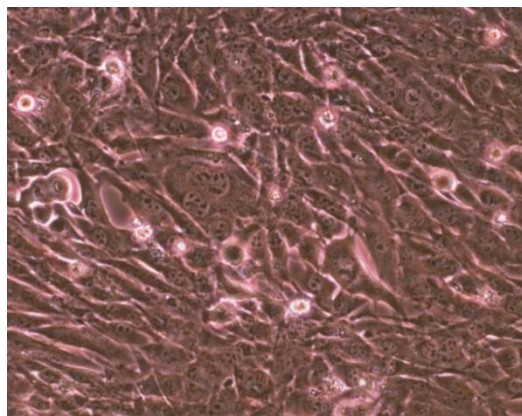
### 9.1 Az energiatalok esetében:

- 1. számú energiatal, a Bomba esetében:

A koffein hatását a differenciált C2C12 sejteken 24 órás kezelést követően vizsgáltuk. A sejtenyészetéről készült fotókon jól látható (1-2. ábra), hogy számottevő sejt számbeli változás nem tapasztalható a két sejtenyészet között.



1. ábra: Konfluens C2C12 sejtenyészet



2. ábra: Bomba energiatallal kezelt C2C12 sejteszészet 24 óra eltelte után

	<i>kontroll sejtek száma (db)</i>	<i>kezeletlen C2C12 sejtek száma (db)</i>	<i>Bombával kezelt sejtenyészetben lévő sejtek száma</i>
1.	120	124	130
2.	121	126	124
3.	119	119	129
4.	128	121	118
5.	129	134	130
6.	124	125	125
<b>Átlag:</b>	<b>123,5</b>	<b>124,83</b>	<b>126</b>
<b>Szórás:</b>	<b>4,2308</b>	<b>5,1929</b>	<b>4,6904</b>

1. táblázat

A kontroll, kezeletlen és Bombával kezelt sejtek száma  
– első kísérlet

	<i>kontroll sejtek száma (db)</i>	<i>kezeletlen C2C12 sejtek száma (db)</i>	<i>Bombával kezelt sejtenyészetben lévő sejtek száma</i>
1.	126	122	128
2.	125	122	124
3.	116	119	121
4.	121	130	118
5.	125	125	124
6.	126	124	125
<b>Átlag:</b>	<b>123,16</b>	<b>123,66</b>	<b>123,33</b>
<b>Szórás:</b>	<b>3,970</b>	<b>3,723</b>	<b>3,444</b>

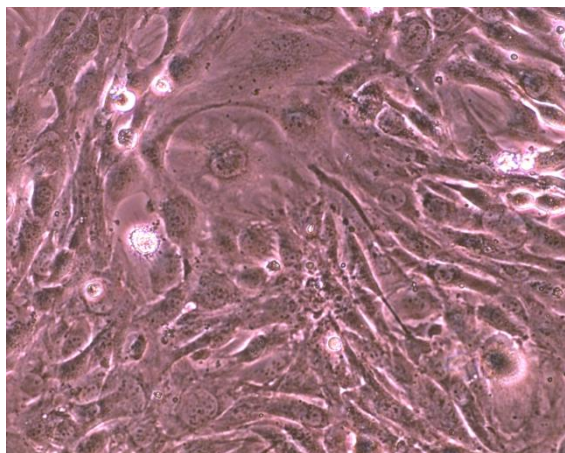
2. táblázat

*A kontroll, kezeletlen és Bombával kezelt sejtek számának változása  
– második kísérlet*

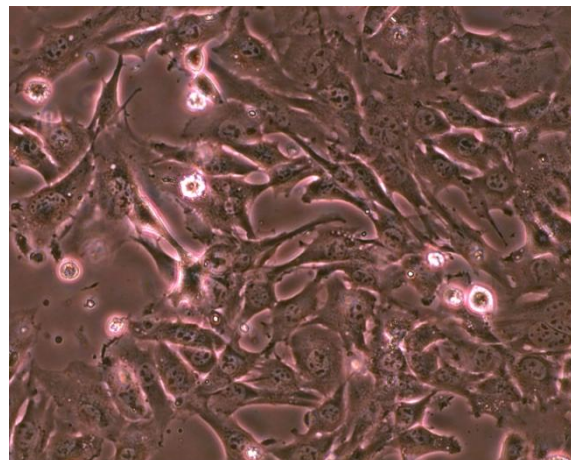
A sejtszám változását több alkalommal is vizsgáltuk és számoltuk, de számottevő sejtpusztulás nem figyelhető meg a Bombával kezelt sejtek esetében.

- **2. számú energiaital a Hell esetében:**

A koffein hatását a differenciált C2C12 sejteken 24 órás kezelést követően vizsgáltuk. A sejtenyészetről készült fotókon jól látható, (3. és 4. e-s ábra) hogy számottevő sejtszámbeli változás nem tapasztalható.



3. ábra: Kezeletlen konfluens C2C12 sejtenyészet.



4. ábra: 2. ábra: Hell energiaitalal kezelt C2C12 sejteszészet 24 óra eltelte után

	<i>kontroll sejtek száma (db)</i>	<i>kezeletlen C2C12 sejtek száma (db)</i>	<i>Hell-el kezelt sejtenyészetben lévő sejtek száma</i>
1.	115	134	136
2.	119	136	125
3.	130	125	128
4.	128	138	122
5.	125	139	121
6.	119	143	119
<b>Átlag:</b>	<b>122,666</b>	<b>135,833</b>	<b>125,166</b>
<b>Szórás:</b>	<b>5,887</b>	<b>6,112</b>	<b>6,177</b>

3. táblázat

*A kontroll, kezeletlen és Hell energiáitallal kezelt sejtek száma – első kísérlet*

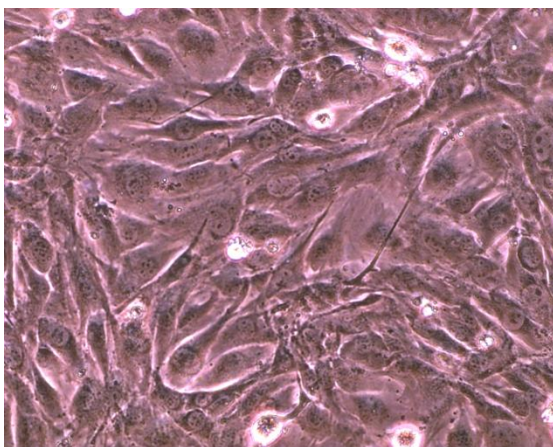
	<i>kontroll sejtek száma (db)</i>	<i>kezeletlen C2C12 sejtek száma (db)</i>	<i>Hell-el kezelt sejtenyészetben lévő sejtek száma</i>
1.	115	134	116
2.	119	136	108
3.	120	125	115
4.	121	121	120
5.	125	129	118
6.	125	123	119
<b>Átlag:</b>	<b>120,833</b>	<b>128</b>	<b>116</b>
<b>Szórás:</b>	<b>3,816</b>	<b>6,066</b>	<b>4,335</b>

4. táblázat

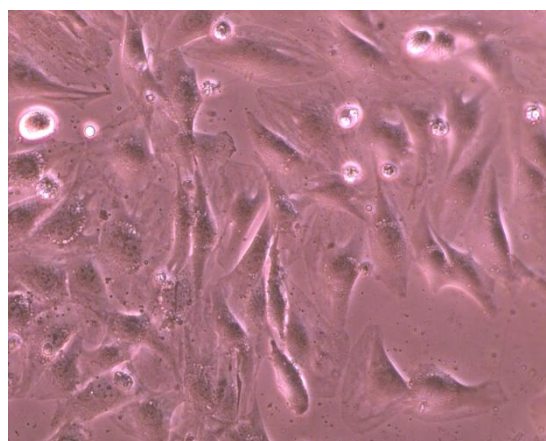
*A kontroll, kezeletlen és Hell energiáitallal kezelt sejtek száma – második kísérlet*

- **3. számú energiáitallal a Hell Strong esetében:**

A koffein hatását a differenciált C2C12 vázizom sejteken vizsgáltuk. A sejtekhez hozzáadott energiáitallal ebben az esetben sem okozott számottevő változást. A sejtenyészetről készült fotókon ez ismételten jól látható (5. és 6.-os ábra). Bár az előző két esethez képest itt nagyobb volt az eltérés, ami valószínű, hogy a magasabb koffeintartalomnak tudható be. (38,4ul/100ml)



5. ábra: A kezeletlen konfluens sejtenyészet



6. ábra: Hell Strong energiával kezelt C2C12 sejtenyészet

	<i><b>kontroll sejtek száma (db)</b></i>	<i><b>kezeletlen C2C12 sejtek száma (db)</b></i>	<i><b>Hell Srtonggal kezelt sejtenyészetben lévő sejtek száma</b></i>
1.	135	134	106
2.	139	135	108
3.	130	136	95
4.	131	128	99
5.	125	129	118
6.	125	123	109
<i><b>Átlag:</b></i>	<i><b>130,833</b></i>	<i><b>130,833</b></i>	<i><b>105,833</b></i>
<i><b>Szórás:</b></i>	<i><b>5,528</b></i>	<i><b>5,036</b></i>	<i><b>8,084</b></i>

5. táblázat

*A kontroll, kezeletlen és Hell Srtong energiával kezelt sejtek száma –második kísérlet*

### **Összegzés:**

Az energiákkal való kezelés során a koffein százszoros hígítás esetén egyszeri hozzáadás alkalmával nem volt drasztikus hatással a konfluens C2C12 vázizomsejtekre. A 24 órás koffein kezelés látszólag nem változtatta meg a C2C12 sejtek számát. (lásd. 1-es és 2-es ábra, 3-mas és 4-es ábra és 5-ös és 6-os ábra összehasonlításánál)

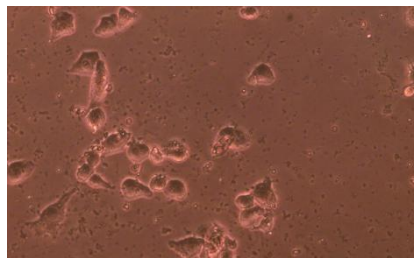
A vizsgálat során nem tapasztaltunk a sejteknél drasztikus sejtszám csökkenést, illetve láthatóak a sejtek osztódásában és további differenciációjában sem következett be számottevő változás.

## **8.1 A kávé esetében:**

Amikor a kávékat készítettük és azokat a sejtenyészetekhez hozzáadtuk, sokkal jobban kellett ügyelni a sterilitásra, mint az energiatalok esetében ugyanis itt nem kész termékekkel dolgoztunk, hanem saját magunknak kellett a kávé t lefőzni és ügyelni hogy csakis tiszta edényt használjunk a kiméréséhez és az elkészítéshez. Ez gyakran meghiúsult így több alkalommal is befertőződtek a tenyészetek.

Ezekben az esetekben volt hogy a sejtek sajnos nem tudtak konfluens tenyészetet létrehozni.

Ez látható a következő 7. ábrán.

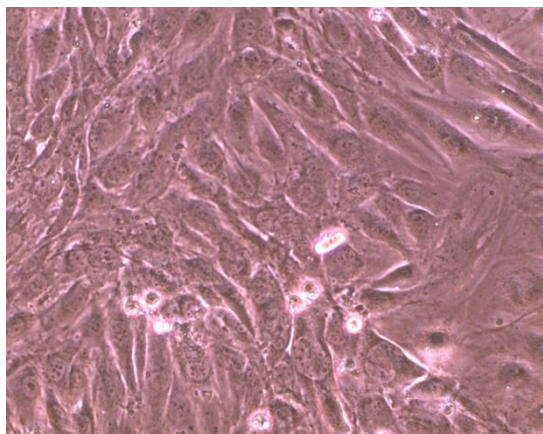


*7. ábra a fertőzött tenyészet mikroszkópikus képe*

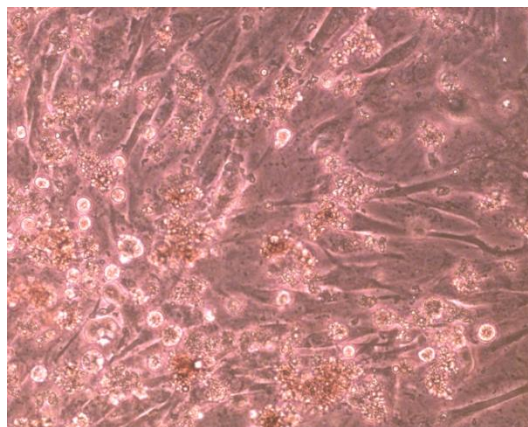
- **A fekete kávé esetében:**

A fekete kávé kávéfőzőben lefőztük, a főzetet steril Petri csészébe töltöttük és ebből adagoltuk a sejtekhez.

A mikroszkóp segítségével fotókat készítettünk a még nem kezelt és a más kávéval kezelt sejtekről és figyeltük a változást. Ez látható a 8. és 9. ábrán.



*8. ábra: A kezetlen konfluens sejtenyészet mikroszkópikus képe*



*9. ábra: fekete kávéval kezelt C2C12 vázizom teszsztat mikroszkópikus képe*

A sejtek számának változása:

	<i>kontroll sejtek száma (db)</i>	<i>kezeletlen C2C12 sejtek száma (db)</i>	<i>Feketekávéval kezelt sejtenyészetben lévő sejtek száma</i>
1.	144	134	80
2.	139	135	108
3.	148	136	95
4.	131	128	99
5.	125	129	98
6.	148	123	102
<b>Átlag:</b>	<b>139,166</b>	<b>130,833</b>	<b>97</b>
<b>Szórás:</b>	<b>9,453</b>	<b>5,036</b>	<b>9,423</b>

6. táblázat

*A kontroll, kezeletlen és feketekávéval kezelt sejtek száma – első kísérlet*

	<i>kontroll sejtek száma (db)</i>	<i>kezeletlen C2C12 sejtek száma (db)</i>	<i>Feketekávéval kezelt sejtenyészetben lévő sejtek száma</i>
1.	130	145	120
2.	128	151	118
3.	146	139	109
4.	145	142	124
5.	129	140	119
6.	133	134	121
<b>Átlag:</b>	<b>135,166</b>	<b>141,833</b>	<b>118,5</b>
<b>Szórás:</b>	<b>8,183</b>	<b>5,776</b>	<b>5,089</b>

7. táblázat

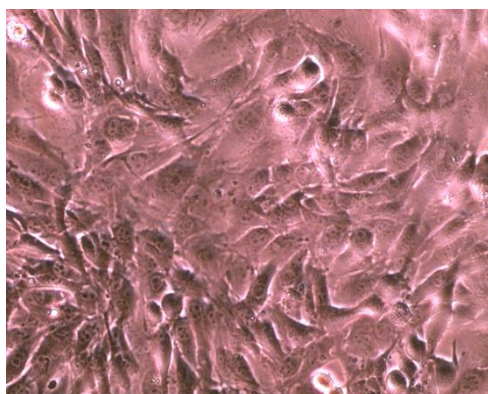
*A kontroll, kezeletlen és feketekávéval kezelt sejtek száma – második kísérlet*

Megfigyelés: A feketekávé esetében figyelhető meg a leginkább a koffeinnel kezelt sejtenyszetben a sejtszám csökkenése, ám a 24 órás vizsgálat alkalmával nem számottevő a különbség.

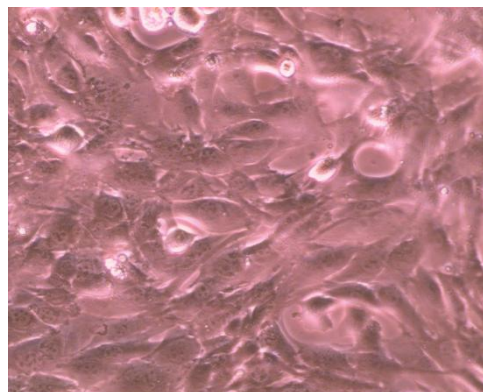
- **Feketekávé cukor hozzáadásával:**

A cukrozatlan feketekávéval ellentétben, ebben az esetben nem csökkent a sejtszám láthatóan. Ennek oka valószínűleg a cukor lehet, mivel ez táplálékul szolgál a sejteknek és ezzel segíti azok osztódását, differenciálódását és így gyengíti az erő feketekávé hatását.

Ezt támasztja alá a sejttenyészetekről készített mikroszkópos felvétel, illetve a sejtszámlálós vizsgálat, amelyeken nem figyelhető meg sejtpusztulás. (Lásd. 10.-11. ábra)



10. ábra: A kezeltlen konfluens sejttenyészet mikroszkopikus képe



11. ábra: A cukrozott feketekávéval keelt sejtek mikroszkópikus képe

	<i>kontroll sejtek száma (db)</i>	<i>kezeltlen C2C12 sejtek száma (db)</i>	<i>Cukrozott feketekávéval kezelt sejttenyészetben lévő sejtek száma</i>
1.	138	141	128
2.	128	131	129
3.	126	139	124
4.	135	142	123
5.	129	140	126
6.	133	134	131
<b>Átlag:</b>	<b>131,5</b>	<b>137,833</b>	<b>125,166</b>
<b>Szórás:</b>	<b>4,593</b>	<b>4,355</b>	<b>3,060</b>

8. táblázat

A kontroll, kezeltlen és cukrozott feketekávéval kezelt sejtek száma

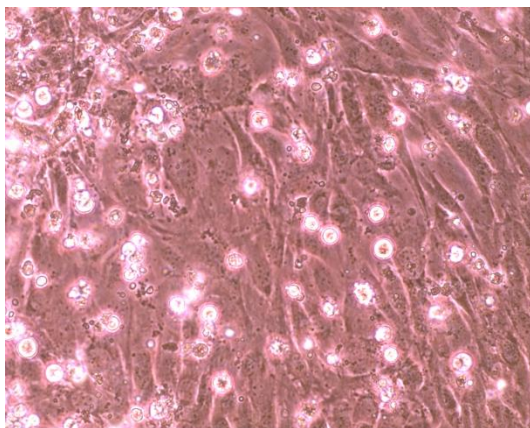


- **Instant főzött kávé esetében:**

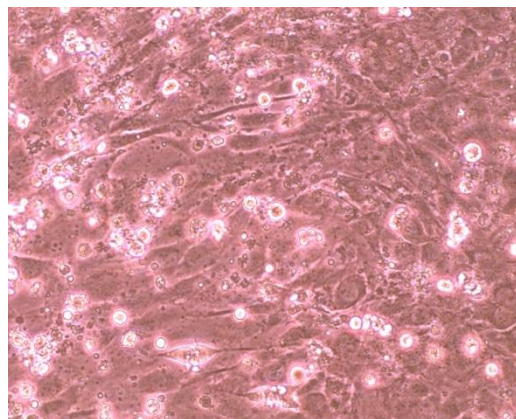
A instant kávé forró vízben feloldottuk és felforraltuk majd miután kihűlt pipettával hozzáadtuk a sejtekhez.

Instant kávéból a hagyományos Nescafé-t használtuk a kísérletek során.

A mikroszkópos képen 24 óra után nem figyelhető meg változás a sejtek számát illetően. Ez látható a 12. és a 13. ábrán.



12. ábra: A kezeltlen konfluens C2C12 sejtek mikrokópius képe



13. ábra: Az instant kávéval kezelt C2C12 sejtenyészet mikroszkópius képe 24 óra elteltével

Sejtszámok alakulása:

	<i>kontroll sejtek száma (db)</i>	<i>kezeltlen C2C12 sejtek száma (db)</i>	<i>Instant kávéval kezelt sejtenyészetben lévő sejtek száma</i>
1.	130	145	120
2.	128	131	118
3.	126	139	119
4.	135	142	124
5.	129	140	123
6.	133	134	121
<b>Átlag:</b>	<b>130,166</b>	<b>138,5</b>	<b>120,833</b>
<b>Szórás:</b>	<b>3,311</b>	<b>5,167</b>	<b>2,316</b>

9. táblázat

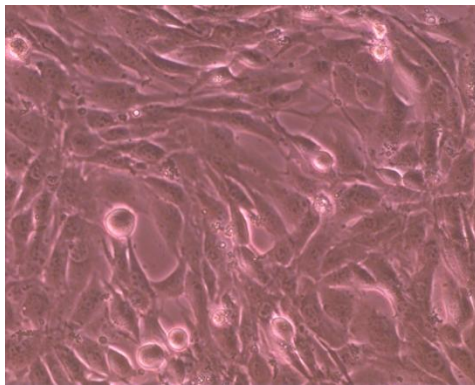
A kontroll, kezeltlen és instant kávéval kezelt sejtek száma

- **2in1 esetében:**

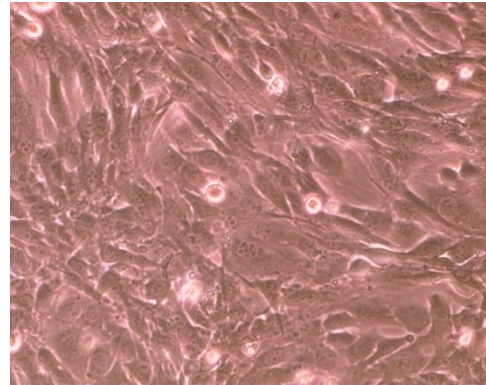
Az instant kávék is 100% valódi kávéból készül. A Nescafé felmérésben megkérdezettek közel harmada tévesen úgy véli, hogy az instant kávéba mesterséges anyagok kerülnek a készítéskor, ráadásul egyharmaduknak fogalma sincs, hogyan és miből készül ez a fajta fekete. Pedig az instant teljes mértékben valódi kávé, arabica és robusta fajták keveréke. A két fajta keverésének aránya adja meg a különböző instant kávékra jellemző ízt.

A kettő az egyben jelents az takarja, hogy a tasakban a tejből származó tejfehérje is megtalálható, így annak készítésekor a tej is benne van már a bögrében.

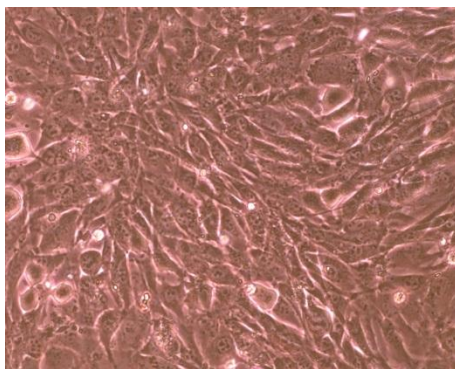
Vizsgálataink során ennél a kávéfajtánál is hasonló eredményeket kaptunk, mint az előbbieknél. A 24 órás tenyészetben nem volt jelentős sejtpusztulás megfigyelhető. Lásd. 14.- 15. és a 16.-17. ábrákon.



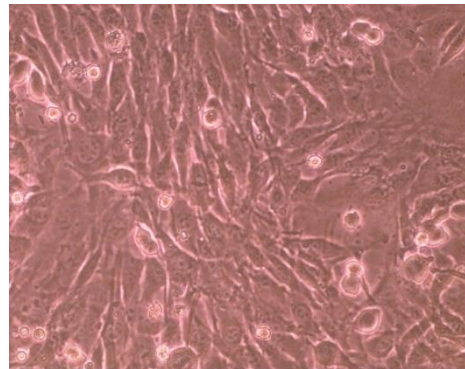
14. ábra: A kezeletlen konfluens C2C12 sejtek mikrokópikus képe



15. ábra A 2in1 porkávéval kezelt sejtek mikroszkópikus képe



16. ábra: A kezeletlen C2C12 sejtek



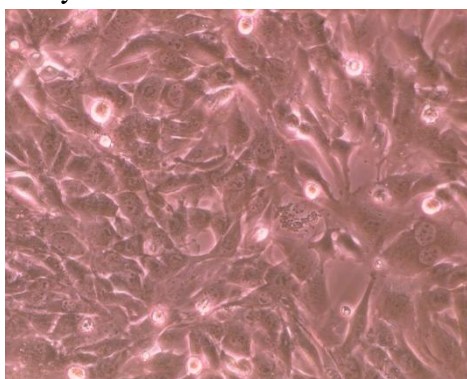
17. ábra: A 2in1 porkávéval kezelt sejtek

- **A zöldkávé esetében:**

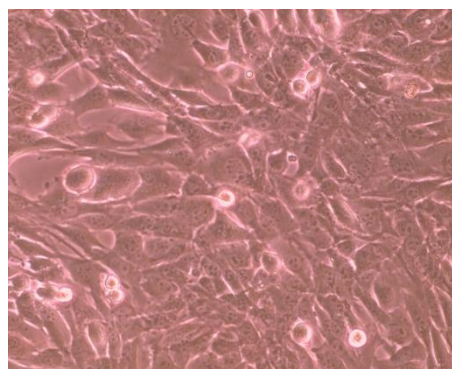
A zöld kávé különlegessége a Coffea arabica L. babszemeken nyugszik. A zöld kávébab abban különbözik a hagyományos kávébaktól, hogy a feldolgozási eljárás során nem pörkölik meg, így az aktív hatóanyagok és élő enzimek nem semmisülnek meg, ezáltal minden érzékszervi és tápanyagtartalmi tulajdonságát változatlanul megőrzi. A Dél-Amerikából származó kávébab hatóanyaga, vagyis klorogénsav-tartalma igen magas.

Emellett a zöldkávében található koffein a lassabban szabadul fel és hosszabb időn át fejti ki hatását a hagyományos kávékkal ellentétben.

A vizsgálataink során azonban nem tapasztaltuk, hogy a zöld kávé másként hatna a sejtek osztódására és differenciálódására, mint a hagyományos kávék közül bármelyik.



18. ábra A kezeltlen C2C12 sejtek



19. ábra: A zöldkávével kezelt C2C12 sejttenyészte mikroszkópikus képe

	<b><i>kontroll sejtek száma (db)</i></b>	<b><i>kezeltlen C2C12 sejtek száma (db)</i></b>	<b><i>Instant kávéval kezelt sejttenyészetben lévő sejtek száma</i></b>
1.	130	145	120
2.	128	131	118
3.	126	139	119
4.	135	142	124
<b><i>Átlag:</i></b>	<b><i>130,166</i></b>	<b><i>138,5</i></b>	<b><i>120,833</i></b>
<b><i>Szórás:</i></b>	<b><i>3,311</i></b>	<b><i>5,167</i></b>	<b><i>2,316</i></b>

10. táblázat

A kontroll, kezeltlen és a zöld kávéval kezelt sejtek száma

- **A koffeintabletta esetében:**

Az általunk használt koffeintabletta összetételét tekintve 100 mikrogramm koffeint tartalmaz és emellett még taurin is található benne.

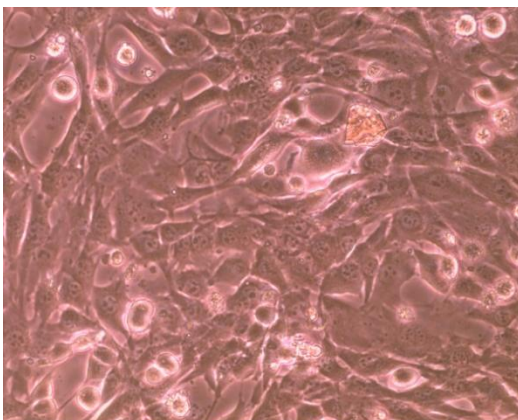
A koffeintabletta mivel magas koncentrációban tartalmazza a koffeint ezért a hatása jóval nagyobb, mint egy sima kávé elfogyasztásakor.



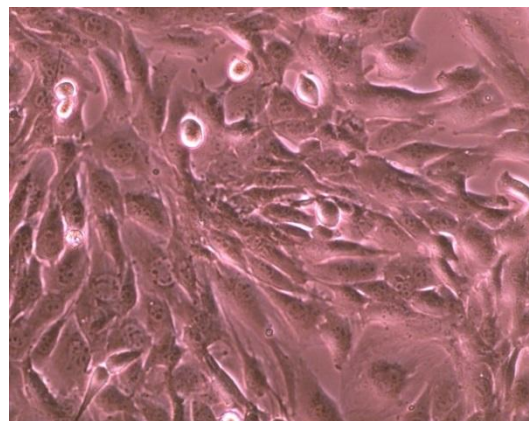
A kísérlet során egy darab tablettát porrá őröltünk azt minimális mennyiségű (kb. 10 ml) vízben feloldottuk és ezt az oldatot adagoltuk a sejtekhez. Meglepően tapasztaltuk, hogy a magas koffeintartalom ellenére a koffeintabletta nem volt kiemelkedően káros hatással a sejtenyészetre.

Egy kisebb sejtszám csökkenés volt megfigyelhető ám, a koffeintabletta káros hatásának kimutatásához a rendelkezésünkre álló adatok nem elegendők, így további kísérletek szükségesek.

Mikroszkópos megfigyelés: (lásd 20.-21. ábra)



20. ábra: A kezeltlen C2C12 sejtek



21. ábra: A koffeintablettával kezelt C2C12 sejtek mikroszkópos képe

A sejtek számában bekövetkező változást a 11. és 12. táblázatban mutatom be.

	<i>kontroll sejtek száma (db)</i>	<i>kezeletlen C2C12 sejtek száma (db)</i>	<i>Feketekávéval kezelt sejtenyészetben lévő sejtek száma</i>
1.	144	134	115
2.	149	135	118
3.	148	136	125
4.	151	128	129
5.	145	129	128
6.	148	123	112
<b>Átlag:</b>	<b>147,5</b>	<b>130,833</b>	<b>121,166</b>
<b>Szórás:</b>	<b>2,588</b>	<b>5,036</b>	<b>7,139</b>

11. táblázat

*A kontroll, kezeletlen és fa koffeín tablettával kezelt sejtek száma – első kísérlet*

	<i>kontroll sejtek száma (db)</i>	<i>kezeletlen C2C12 sejtek száma (db)</i>	<i>Feketekávéval kezelt sejtenyészetben lévő sejtek száma</i>
1.	130	145	120
2.	138	141	118
3.	146	139	109
4.	145	142	124
5.	129	140	119
6.	133	134	121
<b>Átlag:</b>	<b>136,833</b>	<b>140,166</b>	<b>118,5</b>
<b>Szórás:</b>	<b>7,413</b>	<b>3,656</b>	<b>5,089</b>

12. táblázat

*A kontroll, kezeletlen és koffeintablettával kezelt sejtek száma – második kísérlet*

Az átlagok először 340-ről 318-ra illetve 330-ról 321 re csökkentek.

Tehát a sejtpusztulás körülbelül 3-7 %-os lehet.

## **10 Négy napos kísérlet:**

A 24 órás kísérletek után úgy határoztunk, hogy további vizsgálatoknak vetjük alá a sejttenyészetet és megfigyeljük, hogy mi történik a sejtekkel, ha folyamatosan adagoljuk hozzájuk a koffeint.

A kísérlet során 4 napon keresztül adagoltunk 6 ul -nyi kávékat illetve energiatalt a C2C12 sejttenyészethez és figyeltük a változást.

Az 24 órás inkubálást követően fotók (fáziskontraszt mikroszkóppal, 40x objektívvel készített) segítségével rögzítettük a koffein sejttenyészeteken kiváltott hatását, majd újra 6 ul koffeint adagoltunk a sejtekhez és ismét az inkubátorba tettük őket 24 órára.

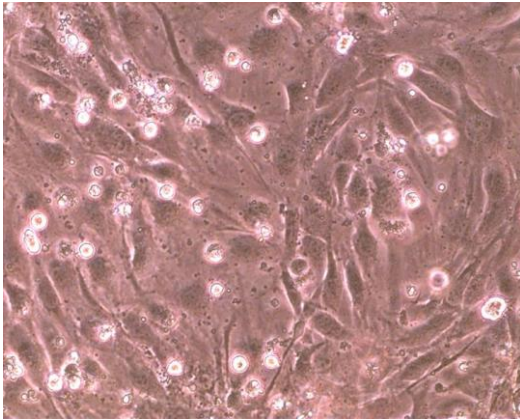
Ezúttal csak 1 kávékülönlegességet és egy energiatalt vizsgáltunk. Aszerint választottunk, hogy melyiknél volt legjobban megfigyelhető a 24 órás kísérlet után a változás. Tehát a két vizsgált koffeintartalmú ital a feketekávé és a Hell Strong energiatalt lett.

- **Eredmények a feketekávé esetében:**

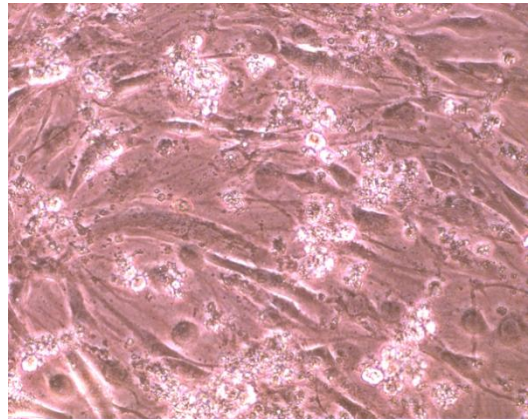
Sejtszámváltozás:

<b>kezelés előtt a sejtek száma</b>	<b>24 óra elteltével</b>	<b>48 óra elteltével</b>	<b>72 óra elteltével</b>	<b>96 óra elteltével</b>
<b>130</b>	<b>145</b>	<b>120</b>	<b>112</b>	<b>100</b>
<b>128</b>	<b>151</b>	<b>118</b>	<b>120</b>	<b>104</b>
<b>146</b>	<b>139</b>	<b>109</b>	<b>105</b>	<b>111</b>
<b>145</b>	<b>142</b>	<b>124</b>	<b>100</b>	<b>108</b>
<b>129</b>	<b>140</b>	<b>119</b>	<b>118</b>	<b>96</b>
<b>133</b>	<b>134</b>	<b>121</b>	<b>106</b>	<b>112</b>
<b>135,166</b>	<b>141,833</b>	<b>118,5</b>	<b>110,166</b>	<b>105,167</b>
<b>8,183</b>	<b>5,776</b>	<b>5,089</b>	<b>7,859</b>	<b>6,337</b>

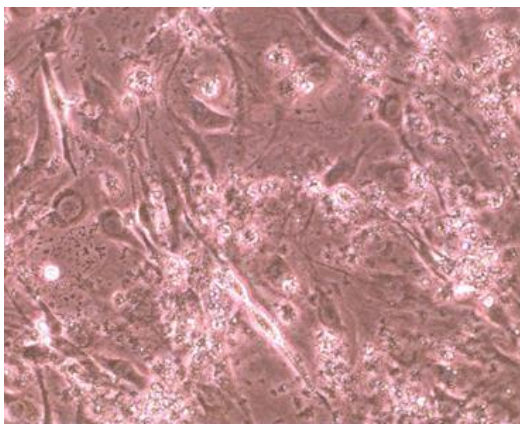
13. táblázat: Sejtszám változás 4 nap alatt a feketekávé esetében



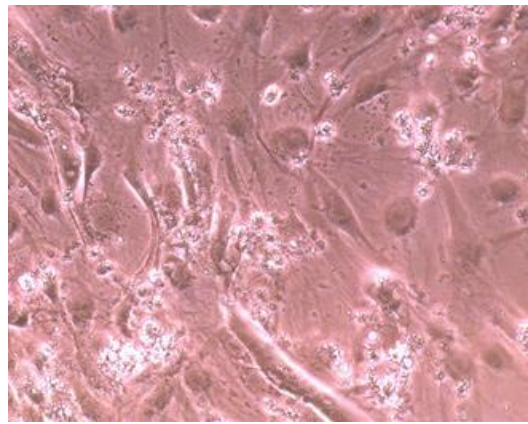
1. ábra : 24 órás kezelés után



2. ábra : 48 órás kezelés után



3. ábra: 72 órás kezelés után



4. ábra: 96 óra elteltével

**Megfigyelés:**

A folyamatos koffeinadagolás hatására egy kisebb, sejtszám csökkenés figyeltünk meg, azonban nagyméretű sejtpusztulást még ez idő alatt sem volt tapasztalható.

A mikroszkópos fotókon jól látszik a sejtek differenciálódása is és a kezdetleges vázizomszövet kialakulása.

- **Eredmények a Hell Strong esetében:**

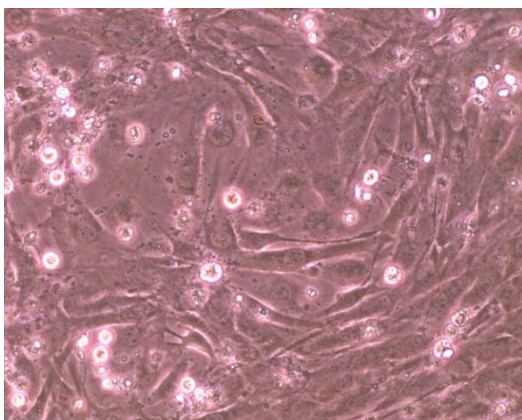
Az energiaital esetében a feketekávéhoz képest sokkal kisebb változást tapasztaltunk. A négy napon át történő folyamatos koffein hatására nem okozott nagyméretű sejtpusztulást, a mikroszkopikus képeken sem figyelhető meg a sejtek nagyméretű csökkenése, viszont az jól látható, hogy a sejtek differenciálódása és szövetté alakulása elkezdődött.

A sejtek számbeli változását a következő táblázatban mutatom be:

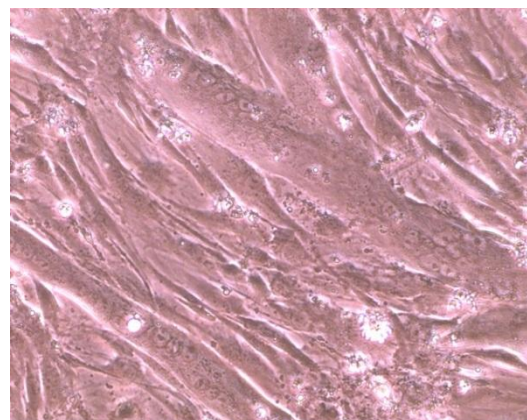
<b>kezelés előtt a sejtek száma</b>	<b>24 óra elteltével</b>	<b>48 óra elteltével</b>	<b>72 óra elteltével</b>	<b>96 óra elteltével</b>
<b>130</b>	<b>145</b>	<b>130</b>	<b>112</b>	<b>101</b>
<b>128</b>	<b>151</b>	<b>128</b>	<b>120</b>	<b>111</b>
<b>136</b>	<b>139</b>	<b>119</b>	<b>105</b>	<b>109</b>
<b>135</b>	<b>142</b>	<b>124</b>	<b>109</b>	<b>104</b>
<b>129</b>	<b>140</b>	<b>119</b>	<b>118</b>	<b>105</b>
<b>133</b>	<b>134</b>	<b>125</b>	<b>116</b>	<b>112</b>
<b>131,833</b>	<b>141,833</b>	<b>125,833</b>	<b>112,667</b>	<b>108,667</b>
<b>3,311</b>	<b>5,776</b>	<b>4,070</b>	<b>4,966</b>	<b>5,240</b>

14. táblázat: Sejtszám változás a Hell Strong energiaital esetében

**Mikroszkóp alatt :**



5. ábra: C2C12 sejtek 24 óra elteltével



6. ábra: C2C12 sejtek 96 óra elteltével



## **11 Sejtek túlélésének mérési eredményei:**

A sejtenyészetben bekövetkező sejtek metabolikus működésének változását vizsgáltuk.

Eredmények táblázatban és diagramon ábrázolva:

(Az SEM = Standard Error of Mean - az n db mérés átlagának a szórása, = SD (szórás) elosztva n négyzetgyökével)

### **Eredmények táblázatban ábrázolva:**

<b>Plate1</b>				
	<b>Kontroll</b>	<b>Bomba</b>	<b>Hell</b>	<b>Hell +20</b>
	67,18	67,3	69,65	64,71
	73,74	57,38	62,3	56,1
	66,49	62,29	66,62	60,17
	55,88	65,56	56,71	59,49
	62,5	55,45	60,27	58,33
	65,83	53,61	59,13	61,31
<b>Átlag</b>	<b>65,27</b>	<b>60,265</b>	<b>62,44667</b>	<b>60,01833</b>
<b>Szórás</b>	<b>5,882788</b>	<b>5,611156</b>	<b>4,857442</b>	<b>2,904689</b>
<b>SEM</b>	<b>2,401638</b>	<b>2,290745</b>	<b>1,983043</b>	<b>1,185834</b>

*15. táblázat: A kontroll, a Bomba, a Hell és a Hell Strong energiaitalokkal kezelt C2C12 sejtek metabolikus aktivitásának vizsgálata*

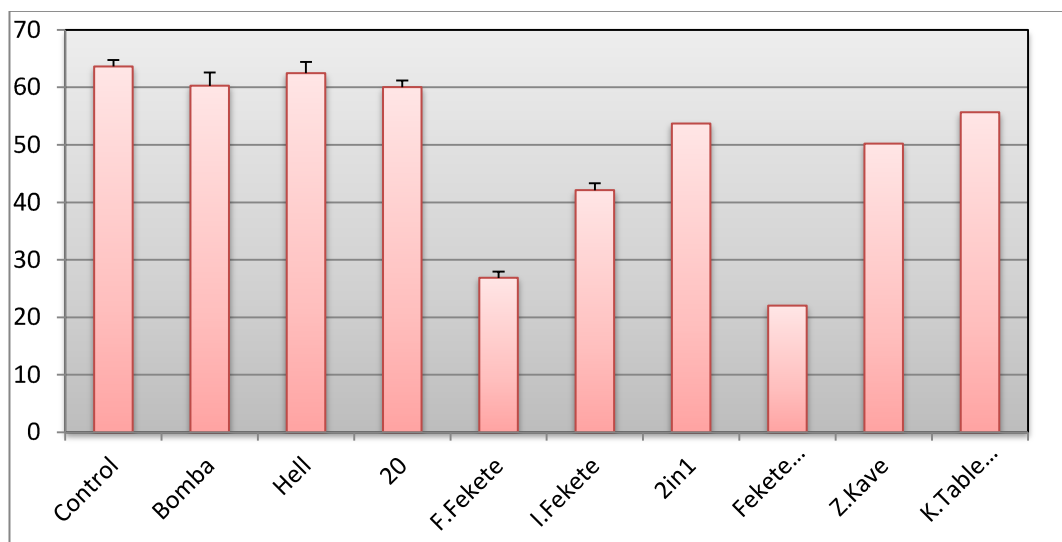
<b>Plate2</b>				
	<b>Kontroll</b>	<b>F.Fekete</b>	<b>Fekete+ cuk.</b>	<b>2in1</b>
	62,16	23,06	40,06	50,28
	59,96	26,93	41,14	46,52
	62,21	27,17	39,3	46,51
	62,52	28,65	44,32	58,62
	66,93	30,46	40,72	54,04
	72,27	24,89	47,09	66,16
<b>Átlag</b>	<b>64,34167</b>	<b>26,86</b>	<b>42,105</b>	<b>53,68833333</b>
<b>Szórás</b>	<b>4,502868</b>	<b>2,630057</b>	<b>2,98851</b>	<b>7,674863951</b>
<b>SEM</b>	<b>1,838288</b>	<b>1,073716</b>	<b>1,220054</b>	<b>3,133250088</b>

*16. táblázat: A kontroll, a feketekévé, a cukrozott feletekává és a 2in1 porkává által kezelt sejtek metabolikus aktivitásának eredményei*

Plate3				
	Control	Fekete+C	Zöld Kávé	KoffeinTabletta
	63,67	21,06	53,22	55,65
	64,18	22,26	54,19	
	57,01	19	48,79	
	62,73	24,09	46,15	
	56,29	22,94	51,37	
	63,48	22,75	47,44	
<b>Átlag</b>	<b>61,22667</b>	<b>22,01667</b>	<b>50,19333</b>	<b>55,65</b>
<b>Szórás</b>	<b>3,582751</b>	<b>1,775598</b>	<b>3,237818</b>	<b>#####</b>
<b>SEM</b>	<b>1,462652</b>	<b>0,724885</b>	<b>1,321834</b>	<b>#####</b>

17. táblázat: A kontroll, a feketekáv, a zöldkáv és a koffeintabletta által kezelt sejtek metabolikus aktivitásának eredményei

### Az eredmények diagramon ábrázolva:



18. táblázat: A C2C12 sejtek metabolikus aktivitásának mérése diagramon ábrázolva

A diagramokból és az adatok átlagából valamint a szórásból jól látható, hogy az energiatalok közül egyik sem gyakorolt káros hatást a sejtek metabolizmusára.

A vizsgált kávék közül egyértelműen a feketekáv (mind cukor nélkül, mind cukrozott formában) okozta a legnagyobb változást a sejtenyészetekben.

## **12 Összefoglalás és megvitatás**

A vizsgálataink során figyeltük a C2C12 sejttenyészetben bekövetkező változásokat különböző féle koffeintartalmú italok hatására. Az eredményeinkből megfigyelhető, hogy a C2C12 sejttenyészethez adott koffein a sejttenyészet életét valamelyest befolyásolja, megfigyelhető egy minimális csökkenés a sejtek számában, azonban kijelenthetjük, hogy ebben a koncentrációban a sejtekhez adott koffein legyen szó akár kávéról vagy energiaiitalról nem toxikus.

A 24 órás kísérletek alatt megfigyeltük, hogy a feketekávé és a Hell Strong energiaiital volt leginkább hatással a sejtekre. A sejttenyészetek 4 napos koffein kezelése után nem tapasztaltunk szemmel látható változást a proliferációt illetően, azonban az Alamar blue teszt eredményei változást mutattak a kontroll csoport és a kezelt sejtek között. Az eredmény a metabolikus aktivitás csökkenésével magyarázható.

Talán a legmeglepőbb megfigyelés, hogy a három energiaiital és az öt kávé különlegesség közül csak kettő volt, amely látható változást okozott a tenyészetben belül. Érdekes eredmény, hogy a legmagasabb koffeintartalommal rendelkező koffeintabletta hatása nem bizonyult olyan nagymértékűnek, mint a feketekávé illetve a Hell Strong.

Megfigyeléseink során kijelenthetjük, hogy a koffein csökkentette a C2C12 sejtek metabolikus aktivitását anélkül, hogy elpusztította volna a sejteket. Ezt a hatást meg lehetett figyelni mind differenciálatlan, mind differenciált sejteken.

Ahhoz, hogy a koffein hatásmechanizmusáról és a sejttenyészetben okozott egyéb változásokról pontosabb következtetéseket tehesünk még számos vizsgálat elvégzése szükséges.

További kísérletek szükségesek a koffein hatásmechanizmusának megismeréséhez, milyen módon befolyásolja a sejtek számának változását, mely koncentrációk azok, amelyek akár már toxikusak is lehetnek?

Számos kérdés, még ami megvitatásra vár, a koffein in vitro sejttenyészetekben betöltött hatásáról, amelyek kiderítésére még számos kísérlet szükséges.

## **13 Köszönetnyilvánítás**

Mindenek előtt szeretném köszönetemet kifejezni a Nyugat-magyarországi Egyetem Természettudományi Karán belül a Biológia Intézet dolgozóinak és oktatóinak, hogy mindazon idő alatt, amit az egyetemen töltöttem kiemelkedő munkájukkal és tapasztalataikkal segítettek engem tanulmányaim során.

Köszönettel tartozom tanáraimnak és konzulenseimnek, Nyáriné Dr. Aleksza Magdolna tanárnőnek, aki áldozatos munkájával hozzájárult a szakdolgozatom elkészítéséhez illetve tudásával segítette munkámat, valamint köszönettel tartozom Molnár Péter tanár úrnak, aki a laboratóriumi munkáim során állandó segítségemre volt a kísérletek elvégzésekor és emellett segítséget nyújtott az adatok elemzésében, értelmezésében, az elméleti háttér gyakorlatban való alkalmazásában.

Köszönetet szeretnék mondani Pungor Szimonettának, aki mindvégig kitartóan támogatott és segített a kísérletek elvégzése és értékelése során. Gondoskodott arról, hogy a hangulat mindig vidám és pozitív maradjon még azokon a napokon is, amikor semmi sem sikerült.

Köszönettel tartozom Varga Holdának, aki számos alkalommal segített a felmerülő informatikai kérdések megoldásában. Bár volt, hogy a technika mindkettőnkön kifogott.

Köszönöm Vasáros Dórának, hogy bármikor hívtam mindig tudott segíteni, ha nehézségen támadt az Exelben.

Nem utolsó sorban szeretném megköszönni a családomnak és barátaimnak, hogy mindvégig szorítottak, hogy időben és tökéletesen elkészüljön a szakdolgozatom.

## **14 Források:**

Lakatos Renáta, Molnár Péter: Caffeine hatása vázizomsejtek differenciációjára. Természet-, Műszaki- és Gazdaságtudományok Alkalmazása 13. Nemzetközi Konferencia, Szombathely 2014. május 17.

- Renáta Lakatos, Péter Molnár: Cell Cultures in Pharmacological and Toxicological Research. (2014) A Nyugat-magyarországi Egyetem Savaria Egyetemi Központ tudományos közleményei. ISSN: 2061-8336.
- <http://kave.merillo.hu/kave-tortenete-hagyomany/>
- Catherine Atkinson - Mary Banks - Christine Mcfadden: A nagy kávéenciklopédia
- M. Segal, Jon Thorn: Kávé GABO KÖNYVKIADÓ ÉS KERESK.KFT. 2008
- Weinberg: The World of Caffeine: The Science and Culture of the World's Most Popular Drug Routledge 2002
- <http://hu.wikipedia.org/wiki/K%C3%A1v%C3%A9>
- <http://mno.hu/tudomany/oriasi-fordulat-a-kave-tudomanyos-megiteleseben-1261298>
- <http://www.eufic.org/article/hu/taplalkozas/funkcionalis-elelmiszerek/artid/Koffein-egeszseg/>
- <http://www.guarana.hu/termekek.html>
- [http://szerves.chem.elte.hu/oktatas/ea/biologiaikemia\\_alkaloidok.pdf](http://szerves.chem.elte.hu/oktatas/ea/biologiaikemia_alkaloidok.pdf)
- <http://www.ujdieta.hu/indexcc34.html?content=450>
- [http://www.szrfk.hu/rtk/kulonszamok/2012\\_cikkek/55\\_Grosz\\_Andor-Szatmari\\_Akos.pdf](http://www.szrfk.hu/rtk/kulonszamok/2012_cikkek/55_Grosz_Andor-Szatmari_Akos.pdf)
- [http://www.pharmacelsus.de/resazurin\\_assay/](http://www.pharmacelsus.de/resazurin_assay/)
- <http://www.pminfonet.com/pmmain/Hajto%202014.pdf>
- Dr. Tóth Marian MHOE: <http://www.homeopata.hu/?q=cikk/hatastalanit-e-a-koffein>

- [http://www.medicalonline.hu/tudomany/cikk/mit\\_tud\\_a\\_cukor\\_vizzel\\_meg\\_koffeinnel](http://www.medicalonline.hu/tudomany/cikk/mit_tud_a_cukor_vizzel_meg_koffeinnel)

## NYILATKOZAT

Alulírott **FÜRST NIKOLETT (Neptunkód: m4dhup)**

jelen nyilatkozat aláírásával kijelentem, hogy a

**Koffein tartalmú italok hatása tenyésztett C2C12 vázizomsejtre**  
című szakdolgozat

(a továbbiakban: dolgozat) önálló munkám, a dolgozat készítése során betartottam *a szerzői jogról szóló 1999. évi LXXVI. tv.*<sup>1</sup> szabályait, valamint az egyetem által előírt, a dolgozat készítésére vonatkozó szabályokat.

Munkám során csak olyan forrásokat használtam fel, amelyekre a jegyzetapparátusban hivatkoztam, illetve, amelyeket a bibliográfiában feltüntettem.

Kijelentem továbbá, hogy a dolgozat készítése során az önálló munkavégzés követelményét betartottam, a konzulenszt ezzel kapcsolatban nem tévesztettem meg.

Jelen nyilatkozat aláírásával tudomásul veszem, hogy amennyiben bizonyítható, hogy a dolgozatot nem magam készítettem, illetve a dolgozattal kapcsolatban szerzői jogsértés ténye merül fel, a szakdolgozat elégtelen érdemjegyű, és ellenem az intézmény fegyelmi eljárást indít.

Kijelentem továbbá, hogy sem a dolgozatot, sem annak bármely részét más felsőoktatási intézményben nem nyújtottam be diplomamunkaként.

Szombathely, 2014. április 14.

.....  
hallgató

-----  
<sup>1</sup> 1999. Évi LXXXVI. Tv. 34 §(1) a mű részletét– az átvevő mű jellege és célja által indokolt terjedelemben és az eredetihez híven- a forrás, valamint az ott megjelölt szerző megnevezésével bárki idézheti.

36.§ (1) Nyilvánosan tartott előadások és más hasonló művek részletei, valamint politikai beszédek tájékoztatás céljára - a cél által indokolt terjedelemben - szabadon felhasználhatók. Ilyen felhasználás esetén a forrást - a szerző nevével együtt - fel kell tüntetni, hacsak ez lehetetlennek nem bizonyul.