

Nyugat-magyarországi Egyetem Savaria Egyetemi Központ

Természettudományi és Műszaki Kar

Biológia Intézet

## Kávé és energiatalok káros hatásai *in vitro*

### Konzulensek:

Nyáriné Dr. Aleksza Magdolna

F Ph. D., orvosbiológus

egyetemi docens

Dr. Molnár Péter

Ph. D., egyetemi docens

### Készítette:

Pungor Szimonetta

IZZGJY

Biológia Bsc



Szombathely 2015

# 1 Tartalomjegyzék

2	Bevezetés.....	1
3	Célkitűzés.....	2
4	Irodalmi áttekintés.....	3
4.1	A kávé története .....	3
4.2	Kávé jellemzése .....	4
4.2.1	Coffea arabica:.....	4
4.2.2	Coffea robusta: .....	5
4.3	Kávé kémiaja .....	5
4.4	Élettani hatásai.....	9
4.5	Energiaital története.....	10
4.6	Az energiaitalok összetevői .....	11
4.7	Energiaitalok összetevőinek élettani hatásai.....	11
4.7.1	Energiaital kognitív és pszichés képességekre kifejtett hatásai.....	15
5	Toxikológiai módszerek.....	16
5.1	In vitro toxikológiai módszerek.....	16
5.2	Sejttenyészetek a toxikológiában.....	17
5.2.1	A sejt kultúrák fenntartásához szükséges anyagok és eszközök .....	19
5.3	C2C12 egér vázizom sejt vonal .....	21
5.4	Csirke szívizom sejt kultúra.....	21
6	Módszerek.....	23
6.1	Anyagok és eszközök.....	23
6.2	A vizsgálatok előkészítése .....	25
6.2.1	A C2C12 sejt vonal .....	25
6.2.2	A Csirke szívizom sejt tenyészet előkészítése.....	26
6.2.3	Vizsgált anyagok előkészítése.....	26
6.2.4	Koffein hozzáadása sejtekhez.....	27
6.2.5	Sejtpusztulás mérése.....	28
6.2.6	Statisztikai értékelés .....	29
6.2.7	Hipotézis tesztelés .....	30
7	Eredmények.....	31
7.1	Kávé és energiaital hatása C2C12 sejtekre.....	31

7.1.1	Hell energiáitál .....	31
7.1.2	Kávé.....	32
7.2	Csirke szívizomszövet esetében.....	35
7.2.1	Hell energiáitál .....	35
7.2.2	Kávé estében.....	35
8	Összefoglalás és megvitatás.....	37
9	Köszönetnyilvánítás .....	38
10	Referenciák.....	39

## 2 Bevezetés

A világon nap, mint nap rengeteg ember fogyaszt valamilyen koffein tartalmú ételt, italt. Ez nem új keletű dolog, az emberiség ősidőktől fogva használja élvezeti szerként koffein tartalmú növények kivonatát. Napjainkban a koffein fogyasztása mindennapi életünk szerves részét képezi, hiszen a lakosság fele biztosan fogyaszt legalább egy csésze kávé, a nap folyamán iszik teát vagy valamilyen koffein tartalmú szénsavas italt.

Ha saját napi rutinomra gondolok, jómagam is előszeretettel fogyasztom őket. Minden reggeletem egy csésze kávéval indítom, és a nap folyamán valamilyen teát is fogyasztok. Előfordul, hogy a nagy sietségben, a délutáni órákban is megiszok egy kávé esetleg egy energiatalt, hogy lépést tudjak tartani rohanó világunkkal. Máskor egy nyugodt kávéházi beszélgetés „kötelező elemeként” is jól esik egy finoman elkészített kávé, tea.

A koffeint azonban nem csak serkentő hatása és élvezeti mivolta miatt fogyasztják. Előszeretettel használják a gyógyászatban is, például élénkítő szerként alkoholmérgezés és kimerültség kezelésére, valamint különböző fájdalomcsillapító és megfázás elleni gyógyszerek hatóanyaga.

Egyre több fiatal fogyaszt koffein tartalmú szereket, egyre fiatalabb korban, valamint széles társadalmi réteg számára elérhetőek, ezért tartom fontosnak ezek vizsgálatát. Napjainkban a fiatalok már nem csak a felsőfokú képzés során vannak stresszhelyzetbe kényszerítve, hanem egyre nagyobb a nyomás a középiskolákban is. Az iskolai büfék mellett az oktatási intézményekbe kihelyezett kávé és üdítő automaták teszik a diákok számára elérhetővé a különböző koffein tartalmú készítményeket.

Vizsgálataim során arra a kérdésre kerestem a választ, miként hat az energiatalt valamint a kávé (különböző koncentrációban) a váz-, illetve a szívizomsejtekre. Ezen kívül azt is vizsgáltam, hogy az izomsejtek differenciálódását és metabolizmusát miként befolyásolja a koffein *in vitro*.

### 3 Célkitűzés

Kávé és koffein tartalmú energitalok:

- Irodalmának áttekintése, fiziológiai és toxikológiai hatásainak ismertetése
- *In vitro* sejttenyészeteken alapuló toxikológiai módszerek bemutatása
- Kávé és energital akut és krónikus toxikus hatásának vizsgálata sejttenyészeteken

## 4 Irodalmi áttekintés

### 4.1 A kávé története

A történészek, és a különféle tudósok még napjainkban sem értenek egyet a kávé keletkezésével kapcsolatban, így sok monda és legenda kering a világban e téma körül. Egy közös pont mégis akad ezekben a történetekben, méghozzá a kávé keletkezési helye. Minden legenda Etiópiát tartja a kávé hazájának, azon belül Kaffa tartományát.

A kutatók szerint néhány „bűvös ital” az ószövetségből illetve az óidőkből is a kávé meglétére enged következtetni. Például a kávébab lehetett az a „száraz füge” amit Abigail adott Dávidnak és Boáz Ruthnak. Mások szerint a kávé azonos a spártaiak „fekete italával”. A híres olasz utazó, Petrus de Valle írásai alapján a kávé a trójai háború idejéből származik. További elméletek szerint Homérosz Odüsszeiájában szereplő „varázsos szer”, mely minden bajra feledést hoz, a kávé volt.(Kátai 2007)

A források három különböző mítoszról számolnak be. Ezek közös pontja, hogy az Iszlám birodalom területére helyezik a kávé kialakulásának történeti gyökereit. Az egyik mítosz szerint Gábiel arkangyal közvetítésével Allah nyújtott át egy csésze fekete gyógyító italt Mohamednek. Miután ezt a Próféta elfogyasztotta, olyan fiatal erőre kapott, hogy negyven férfit legyőzött és negyven nőt megismertetett a szerelemmel.(Kátai 2007)

A másik monda főszereplője Omar Dervis, aki imáival gyógyította a betegeket, azonban száműzték Mokkából. Egy barlangban talált menedéket, ami előtt egy fa tetején bogyókat talált. Ezeket megfőzte, levüket megitta. Meglepődve tapasztalta, hogy fáradsága elszállt, teste felfrissült. Omar betegeivel is megkóstoltatta az italt, akik ettől egytől-egyig meggyógyultak. A hír eljutott a mokkal királyhoz is, aki visszahívta Omart a városba, melynek védőszentjévé vált. (Kávé története)

A harmadik monda kapta a legtöbb figyelmet, és ezt tulajdonítják leginkább a kávé felfedezés „hiteles” történetének. A legenda egy kecskepásztorról szól, aki kecskéit legeltetve észrevette, hogy egy ideje az állatok nem a megszokott módon viselkedtek, mozgolódtak, táncoltak. Megoldásért a közeli kolostorban élő szerzetesekhez fordult. A szerzetesek megfigyelték az állatokat és azt vették észre, hogy az állatok egy zöld levelű, fehér virágú bokor piros bogyóit ették. Megkóstolva a bogyót, azt kellemesnek találták. Megfőzték, hogy puhább legyen, és kellemes levest készítettek belőle. Az esti ima alatt

észrevették, hogy az álmoság kimegy a szemükből. Ezután gyakran fogyasztották, majd lassan elterjedt a környéken. (Kávé)

Rengeteg elmélet született arra vonatkozóan, hogy miként vált a kávéból étel, később ital. Kezdetben a termést elrágták, hiszen édes húsa igazán ízletesnek bizonyult. Később porrá zúzták, esetleg különféle zsíros anyaggal összekeverték. Harcosok csemegéjévé vált, mert finom és tápláló volt. Később megszáritva, majd tűz fölött pörkölve fogyasztották, és ezután főzték meg. (Kátai 2007)

## 4.2 Kávé jellemzése

A különböző kávékat, különböző koffein tartalmú növényekből készítik. A kávé (*coffea*) növény a buzérfélék (*Rubiaceae*) nemzetségéhez tartozik, melynek megnevezésére a kávéfa vagy kávécserje megnevezést is használják. A kávéfafajok Ázsia és Afrika tópusi területein, illetve Dél-Afrikában őshonos cserjék és fák. (Kávé 2)

A legjelentősebb fajok a *coffea arabica* és a *coffea robusta*. A két kávéfafaj értékes és széles körben elterjedt haszonnövény, mert terméseik magjaiból (kávészemek, kávébabok) készítik a kávé. Bár mindegyik a trópusi vidékről származik, azonban nagy változékonyságot mutatnak, mind méretüket, mind színüket tekintve. Az *arabica* adja a világtermés 70 százalékát, míg a *robusta* csupán 30 százalékát teszi ki. (Kátai 2007)

### 4.2.1 *Coffea arabica*:

A *coffea arabica* örökzöld növény. Természetes élőhelyén akár 10 m magas, kistermetű faként jelenik meg. A kávétermesztés céljára létrehozott termesztett élőhelyeken azonban cserjévé nyírják. 10-15 cm hosszú, elliptikus, bőrszerű levelei átellenesen helyezkednek el. A levelek hónaljában 2 cm hosszú öttagú tölcséres virágok nyílnak. A virágok illata a jázmin illatához hasonló. Csonthéjas termései éretten piros, néha sárga színűek. A termésben két egymással szemben elhelyezkedő bab alakú mag fejlődik, egy pergamenszerű terméscső burkolja őket. Ezt a terméscsőt kívülről egy húsos terméscső borítja (1. ábra). (*Coffea arabica*)



1. ábra- *Coffea arabica* növény

forrás: Google képtár

#### 4.2.2 Coffea robusta:



Platt. XI.—Coffea arabica (Coffea). (Vom Arabien: Experimentell-Pharmakologie und Materie Medica.)

#### 2. ábra- Coffea robusta növény

Forrás: Google képtár

A Coffea robusta növényt a múlt század végén fedezték fel a kongói őserdőben. Elsősorban Közép-Afrikában, Indiában és Indonéziában fordul elő. Morfológiailag jórészt megegyezik az arabica fajjal, azonban magasabbra nő, levelei nagyobbak, lekerekített vállúak, szegélyük hullámos (2. ábra). Az oldalágai nem ágaznak el, és a harmadik életévük után elhálnak, mert helyettük új, termőképessé oldalágak jönnek. A növény

szigorúan „idegenbeporzó” - az arabica fajjal ellentétben (Coffea robusta, Kátai 2007).

Kávéfajták közötti különbségeket a 3. ábra mutatja be.

Jellemzők	C. arabica	C. canephora
Kromoszómaszám	44	22
Gyökérszet	mély	sekély
Magassága	5 m	20 m
Levélzet	50-200x15-70 mm	150-300x50-150mm
Érés idő	9 hó	10-11 hó
Betakarítás	szedegetés, szemelgetés	szedés, tépés
Koffein	0,6-1,5 %	2,0-2,7 %
Hőmérséklet	17-23 °C	18-27 °C
Csapadék	1500-2000 mm	2000-3000 mm
A magvak az érés során	lehullanak	helyben maradnak
Virágzástól bogyó érésig eltelt idő	9 hó	10-11 hó
Termés kg (bab)/ha	1500-2500	2300-4000
A kávé levél rozsdára (Hemileia vastatrix), Nematodákra	érzékeny	rezisztens
	érzékeny	rezisztens

#### 3. ábra- Coffea arabica és Coffea robusta növény közötti különbségek

forrás: <http://egzotikusnovenyek.freeiz.com/Dinnyefa-Kakao.html>

#### 4.3 Kávé kémiája

A különböző kávéfajtáknak nem csak az ízük eltérő, de az egyes termések pörkölés közben is másképp viselkednek, így kémiájuk is változatos. A robustában több klorogénsav és koffein található, míg az arabicában a lipidek és trigonellin mennyisége



dominál. A kémiai összetevők aránya a pörkölés során nagymértékben és többféleképpen megváltozik: mennyiségük csökken vagy növekszik, esetleg teljesen eltűnik vagy a pörkölés során alakul ki. (Kátai 2007)

#### A kávé összetevői:

##### 1. Szénhidrátok– többségében nagy molekulású poliszacharidok

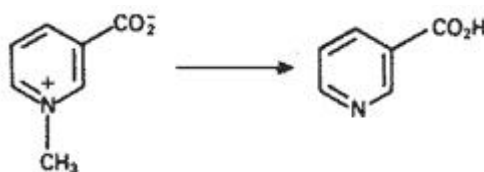
- Cellulóz (10-12%)
- Hemicellulóz (20-22%)
- Nyersrost (25-30%)

Ezen kívül mono-, di-, triszacharidok találhatóak benne. Legnagyobb mennyiségben a szacharóz jelenléte jellemző, akár 8%-át is alkothatja az arabicának.

2. Nitrogén tartalmú vegyületek – alkaloidok: koffein, kis mennyiségben teofilin és teobromin, trigonellin és nikotinsav, valamint aminosavak, fehérjék találhatóak a kávéban.

Koffein: az arabica 1-2%-ban tartalmazza, - a robustában majdnem dupla mennyiségben fordul elő.

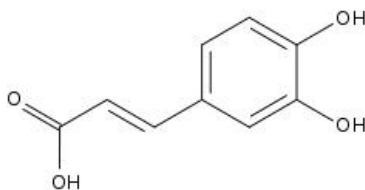
Trigonellin(4. ábra): A niacin anyagcsere-terméke, egy metilcsoport addicionálódik a niacin nitrogénjére. Alkaloid, a zöld kávéban 1%, a pörkölés után 0,4%. Hő hatására bomlik, pirrol és piridin származékok keletkeznek belőle. A *S.mutans* baktériumtörzsek foghoz tapadását akadályozza meg, így a fogszuvasodás ellen hat.



4. ábra: Trigonellin és nikotinsav (forrás: Google képtár)

3. Klorogénsavak a kinasav észterei, gyakran az 5. szénatom OH csoportja észteresedik kávéssavval (4. ábra). Zöld kávéban a koffein klorogénsavhoz kötött, pörkölés során válik szabadabbá. Szintén a pörkölés során, hő hatására a klorogénsav kávéssavra és kinasavra bomlik. Ezek a fenolos vegyületek más gyümölcsben, zöldségben is megtalálhatóak, a szín kialakításában játszanak szerepet, szabadgyökfogó hatással rendelkeznek. A le nem bomlott klorogénsav irritálja a gyomor nyálkahártyáját. Ez a „mellékhatás” a robusta

fogyasztás után kifejezettebb, mert nagyobb (4%) a klorogénsav tartalma, mint az arabicának (0,8-1,2%).



5. ábra: kávésav (3,4-dihidroxi fahéjsav) (forrás: Google képtár)

4. Illékony komponensek- nagy részük a pörkölés alatt keletkezik. a kávé aromájának kialakításáért nagyrészt ezek az anyagok felelősek. Itt különösen fontos megemlíteni, hogy az illó anyagokban rendkívül nagy variációt mutatnak az egyes kávéfajták, hiszen ízüket akár több száz alkotórész nagyban befolyásolja. HPLC vagy gázkromatográfia módszerével lehet őket elkülöníteni egymástól, de ez idáig még korántsem sikerült az összes ide tartozó elemet azonosítani. (1. táblázat)

<u>Összetevő</u>	<u>Szám</u>	<u>Összetevő</u>	<u>Szám</u>	<u>Összetevő</u>	<u>Szám</u>
Szénhidrogének	72	Pirrolok	67	Nitrogénvegyületek	22
Alkoholok	20	Benzopirrolok	5	Kénvegyületek	17
Aldehydekek	29	Pirazinok	71	Fenolok	40
Ketonok	68	Benzopirazinok	11	Furánok	112
Savak	22	Piridinek	12	Benzofuránok	3
Észterek	29	Benzopiridinek	4	Piránok	2
Éterek	2	Tiofének	30	Pironok	4
Acetálok	1	Benzotiofének	1	Laktonok	9
Oxazolok	24	Tiazolok	26	Anhidridek	3
Benzoxazolok	5	Benzotiazolok	1	<u>összesen</u>	<u>712</u>

1. Táblázat: Pörkölés után az azonosított illó komponensek elnevezése száma

5. Karbonsavak– oldalláncaikban lévő OH – csoportok a pH változásra disszociálódnak, ez ízbeli változást okoz. A zöld kávéban főként citromsav, maleinsav, oxálsav, borkósav van, pörkölés után viszont több mint 30 alifás savat is találtak, illékony és nem illékony formát egyaránt, mint például hangyasav, ecetsav, tejsav. A csokoládés ízért a 2- metil – valeriánsav, a karamellhez hasonlóért pedig a piroszőlósav a felelős. A kávéaroma fő komponense az alfa- furfuril merkaptán, mely a képviseli a jellegzetes „kávé ízt”.

6. Vitaminok, melyek a kávéban megtalálhatók:

- pantoténsav -B5 vitamin
- folsav – B9 vitamin, M vitamin
- tiamin – B1 vitamin
- nikotinsav – B3 vitamin, niacin

7. Ásványi anyagok, melyeket sikerült kimutatni a kávéból:

- kálium
- magnézium
- mangán
- kalcium
- foszfor-foszfát
- kén-szulfát

8. A kávéban antioxidánsok is találhatóak, úgymint a klorogénsav, kávésav, vagy a csersavak különféle izomerjei

A Scranton Egyetemen 2005-ben kutatást kezdtek a kávé antioxidáns tartalmának meghatározására. A mérések során megállapították, hogy a kávéban lévő antioxidánsok mennyisége meghaladja a zöldteában lévő szintet (előbbi 150-550 mg-ot, utóbbi 150-200 mg-ot tartalmaz). Az antioxidánsok megvédik a sejteket az oxidálódástól.

Az íz kialakításában fontos szerepet játszik még a kávéban lévő kávéolaj, mely 20%-ban a telített palmitinsavból, 80%-ban a telítetlen linolsavból áll (Kátai 2007).

## 4.4 Élettani hatásai

Magyarországon naponta 22-23 millió adag kávé fogy. A háztartások 83%-a rendszeresen kávézik, így a kávé a legnépszerűbb élvezeti cikkek egyike.

A kávé 99%-a víz, míg a fennmaradó 1% a fent tárgyalt komponensek sokasága. A szervezetbe jutó koffeint a májban a citokróm nevű enzim bontja le. A lebomlás folyamatának ideje nagyban függ az enzim aktivitásától, egyénenként változó. A katabolizmus során a kakaóbabban is megtalálható teobromin képződik, ami húgysavvá oxidálódva a veséken keresztül távozik a szervezetből.

Számos vizsgálatban kimutatták, hogy napi 6 csésze kávé rendszeres fogyasztása megemelheti a szérumkoleszterin szintet, ezáltal növelve az érlemezésedést, a szív- és érrendszeri megbetegedések kockázatát. Ennek oka azonban valószínűleg nem a koffein, hanem a kávéfőzés során termelődő kafesztol és kaveol. Más tanulmányok arról számolnak be, hogy a koffein nincs hatással a magas koleszterinszint kialakulására, mert azt a kávébabban található olajok okozzák; így ha papírszűrőn keresztül főzzük a kávé, az olajok visszamaradnak.

A koffein serkenti a szív működést, növelve a szívfrekvenciát, ami az egyéni érzékenység függvényében akár kellemetlen szívdobogásérzetté, remegéssé erősödhet. Egyes állatkísérletek szívritmuszavart is kimutattak, de humán vizsgálatok ezt a hatást nem erősítették meg. A koffein a szisztolés és diasztolés vérnyomást is 5-10%-kal megemeli. Ez a hatás 1-3 órás időintervallumban figyelhető meg. Egy 1980-as vizsgálat eredménye szerint a férfiaknál napi öt, vagy annál több csésze kávé fogyasztása esetén előfordulnak szívpanaszok. Ugyanakkor egy újabb vizsgálat szerint ugyanez a mennyiség a nőkre nincs hatással, akkor sem, ha érszűkületük vagy szívritmuszavaruk van.

Sokáig úgy tartották, hogy mivel a koffein fokozza a kalcium vizelettel való kiürülését, növeli a csontritkulás kialakulásának kockázatát is. Azonban ez a hatás olyan csekély, hogy nem befolyásolja a kalcium-anyagcserét, így a csontsűrűséget sem. Megfelelő mennyiségű kalcium bevitel mellett a kávéfogyasztás nem növeli a csontritkulás kialakulásának kockázatát.

A kávé anyagcsere növelő hatása rendszeres fogyasztás mellett nem érvényesül, illetve fiataloknál, sportolóknál, elhízottaknál nem érvényesül úgy, mint idős korban, kevésbé edzetteknel, sovány egyéneknél. Akik nem fogyasztanak rendszeresen kávé, azoknál 5-25%-al növeli az anyagcsere folyamatok intenzitását.

A koffein hatására tágulnak a veseerek, így növeli a vesén áthaladó vér mennyiségét - ezáltal viszont csökken a víz, a Na-, a K-, és a Cl-ionok visszaszívódása a vese csatornácskáiban.

A kávé fokozza a gyomornedv-elválasztást, így elősegítve az emésztést. Savtúltengés esetén azonban gyomorégést, gyomorfekélyt okozhat.

13 különböző, és több mint 20000 emberre kiterjedő vizsgálat eredményei egyértelműen bizonyítják, hogy a rendszeres kávé-, illetve teafogyasztás nem növeli a rosszindulatú daganatok kialakulásának veszélyét. A kávé természetes antioxidáns tartalma miatt szerepet játszhat a szervezetben képződő szabadgyökök lekötésében; így védelmet nyújt az érlelmeszesedés, valamint a daganatos megbetegedések ellen.

A nagymértékű kávéfogyasztás és a vastagbél-, illetve a végbélrák kialakulása között is összefüggés vélhető fel, ugyanis azoknál, akik legalább napi öt kávéfogyasztottak, a daganat kialakulásának kockázata 40%-al alacsonyabbnak bizonyult. A floridai egyetem kutatói is megállapították, hogy a kávézás csökkenti a bizonyos daganatfajták kockázatát, gátolja a tumor növekedését és fokozza a kemo- és sugárterápiák hatékonyságát. Ezért egyre több kutató véli úgy, hogy a kávének szerepe lehet a daganat elleni kutatásokban. Egereken végzett kísérletek során nagy dózisu UV sugárzással bőrdaganatot idéztek elő az állatokon, majd koffein tartalmú oldattal ecsetelték a tumort. A terápiában részt vett egerek esetében 72%-kal kevesebb tumor képződött, mint nem kezelt társaikban. (Kávé hatása)

## 4.5 Energiailal története

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

Japánban az 1960-as évektől árusították a Lipovitan nevű készítményt, illetve Dél-Koreában a „genki” italokat, melyeket egyértelműen elkülönítettek az üdítőitaloktól (például barna gyógyszeres üvegben vagy csak gyógyszertárakban voltak kaphatóak).

Európában 1994-ben Ausztriában tűnt fel a S. Spitz által gyártott Power Horse-nak elnevezett energiailal, ami azonban nem tudott akkora piaci részesedést elérni, mint a szintén osztrák eredetű, napjainkban leginkább közismert riválisa, a Red Bull.

Az amerikai kontinens üdítőitalóriásai közül a Pepsi Cola dobott először piacra energiailalt Josta néven 1995-ben, majd a riválisok is (főleg a Coca Cola) csatlakoztak a

Pepsihez. Főleg ezen termékek miatt a Red Bull 1998-as 70%-os részesedése napjainkra 45% körülire csökkent.

Vannak olyan országok, melyek a Red Bull forgalmazását -általában helyi haláleset miatt- nem vagy csak receptre felírva engedélyezik és az energiaital gyógyszertárakban kapható (például Franciaországban, Dániában, Svédországban, Norvégiában) Más országokban eredeti összetétel megváltoztatásával engedélyezik árusítását. Mindezek ellenére az energiaital karrierje a mai napig töretlen.

Az energiaitalok eddigi viszonylag rövid történelmük során számos változáson mentek keresztül, egyvalami azonban változatlan maradt: a kiindulási alapként szolgáló ősi keleti italokban is megtalálható három alapvető kulcsösszetevőt (a taurin nevű aminosavat, a koffeint és a glükuronolakton nevű szénhidrátot) tartalmazzák (Grósz és Szatmári 2012).

#### 4.6 Az energiaitalok összetevői

Az energiaitalok – mint azt nevük is mutatja -, több energiát tartalmaznak a hagyományos üdítőitaloknál, úgy, hogy kalória tartalmuk kevesebb. Az energiaitalok reklámjai megnövelt a szellemi és a fizikai aktivitást ígérnek.

Összetevőik között leggyakrabban metilxantinok (például koffein, de lehet akár teobromin is), B-vitaminok (elsősorban B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, B<sub>6</sub> és B<sub>12</sub>), gyógynövénykivonatok, magas koffeintartalmú guarana (általában 1000 mg-nyi), taurin (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. Egyesekben folsav, valamint nyomelemek is szerepelnek. Szénhidrát tartalmuk attól függően változik, hogy a termék cukrot vagy édesítőszer alkalmaz. Az energiaitalok központi összetevője az önmagában előforduló, illetve a guaranában vagy egyéb kivonatban található koffein. (Szatmári és Grósz 2012)

#### 4.7 Energiaitalok összetevőinek élettani hatásai

**L-aurin** (2-aminoetán-szulfonsav, H<sub>2</sub>N-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-SO<sub>2</sub>-OH) :

A szervezet elsősorban tengeri kagylók, rákok, halak fogyasztásával jut taurinhoz, de a szervezetben metionin- vagy ciszteinprekursorokból szintetizálódik is. Szerepe van az epe viszkózitásának fenntartásában, emellett antiaritmiás és pozitív inotropiás hatással

rendelkezik. Szükséges a retina és a látás normál anyagcsere-folyamataihoz, továbbá növelheti az inzulin elválasztását.

A szervezet napi taurinigénye 60 mg (az energiatalok dobozonként általában 1000 mg-ot tartalmaznak – két bekezdéssel fentebb nem ezt írtad.). Eddig egyetlen közlemény sem utalt arra, hogy a taurin tartós fogyasztásának egészségjavító hatása lenne. Túladagolásával toxicitást okoznak, ami hasmenéssel, depresszióval, rövid távú memóriavesztéssel, elvonási tünetekkel és gyomorfekélyel járhat együtt.

### **L-karnitin:**

A karnitin egy, a természetben is előforduló aminosavszerű vegyület, ami a zsírsavak anyagcseréjében játszik szerepet. Mivel a zsírbontást segíti elő, erre a célra főleg testépítők használják nagy mennyiségben súlycsökkentés céljából. Végeztek vizsgálatokat, hogy tudományosan igazolják fogyást elősegítő szerepét, de ezt a hipotézist egyetlen tanulmány sem igazolta. 2000 mg/nap alatti dózisban szedve káros hatása nem mutatható ki, felette hasmenés, testszag, hányás, kiütés jelentkezhethet

### **Ginzeng:**

A ginzenget 5000 éve használják gyógynövényként, az amerikai kontinensen és a közeli régiókban őshonos. Számos alfaja ismert, gyökerének kivonatát vagy szárított őrleményét hasznosítják. Az energiatalokban a „Panax” nevű alfaj extraktuma található meg. Széles körben használják energiaforrásként, mert növeli a zsírfelhasználást és javítja a hosszú időn át kifejtett izommunkát. Emellett alacsonyabb artériás középnyomást és szívfrekvenciát okoz. Javítja a kognitív folyamatokat is. Az amerikai ginzeng a vizsgálatok által megerősítetten csökkenti a megfűlés és az influenzavírus okozta tünetek erősségét.

### **Guarana:**

A guarana a közép-amazóniai medencében élő növény. A kétszikűek (*Magnoliopsida*) osztályába, a szappanfavirágúak (*Sapindales*) rendjébe, a szappanfafélék (*Sapindaceae*) családjába tartozó faj. Piros toktermésében 1-3 mag található. A mag nagy részét a szikleveél teszi ki. A termés feldolgozása során a szikleveleket pörkölik, finomra aprítják, vízzel összepréselik és szárítják.

Őshonos területén főleg italok formájában régóta használják természetes stimulálószerként. Serkentő hatásának nagy részét magas, 2-8%-os koffeintartalma okozza, ami terápiás megkettőződéshez vezethet. Ez azt jelenti, hogy az energiatalokban található koffein és a guarana koffeintartalma kétszeres erősségű koffeinhatást hoz létre. Ez főleg megvonáskor okoz hátrányos tüneteket.

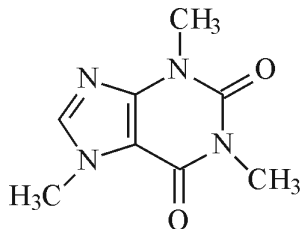
A guaranában találhatóak pszichoaktív anyagok is, melyek javítják a kognitív teljesítményt és a koncentrációképességet. 75 mg guaranakivonat – feltehetően a koffeinnel való kombinálódás útján – már kifejti ezt a hatást. (Szatmári és Grósz 2012)

A guarana 2-8 %-os 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 növény alkalmazása veszélytelen, de nagy mennyiségben (100 mg-ot meghaladó), egyénenként változóan, a koffein mellékhatásaként szapora szívverést, gyomorfájást, hányingert, fejfájást, idegességet, álmatlanságot, remegést okozhat. Túladagolása fokozza a spontán vetélés és a koraszülés veszélyét (Szatmári és Grósz 2012, Guarana)

### **Koffein(1,3,7trimetil-xantin):**

A koffein a xantil-származékot tartalmazó növényekben megtalálható alkaloid. A kávé, a tea és a kóladió alkaloidja, de a kakaóban is tartalmazza. Hamar felszívódik, hatása az elfogyasztást követően 1 órán belül tetőzik.



5. ábra- A koffein kémiai szerkezete (forrás: Google képtár)

A koffein serkenti a szívizmokat, általa a szívverés erősebb és gyorsabb lesz, mert megemeli a kalcium tranziens amplitúdóját. A sejtekben az akciós potenciál alatt létrejövő kalcium beáramlásra a szívizomsejtek fokozottan érzékenyek lesznek. A gyorsabban és erősebben verő szív hatására pedig emelkedik a vérnyomás.

A koffein a vázizmokra is hatással van, ugyanis a szívizomsejtekhez hasonló módon javítja a szarkoplazmatikus retikulum kalcium áteresztő képességét, így a harántcsíkolt izmok nagyobb erőhatást képesek kifejteni.

Kutatások szerint az edzés előtt 1 órával bevitt kb. 300-350 mg-nyi koffein jelentősen, 20%-kal növeli a fizikai munkavégzés várható erő- és időtartalmát. Az erőnövekedés mértéke és a koffein dózis között nincs összefüggés, illetve az egyének tolerancia értéke is eltérő. Ennek oka az ingerületátviteli küszöb értékének csökkenése, az akciós potenciálok



hamarabbi és könnyebb kialakulása, illetve a motoros egységek könnyebbé és gyorsabbá válása.

Koffeinhatás alatti fizikai munkavégzés során javul a zsírmetabolizmus, csökken a szénhidrátok oxidációja, vagyis a szervezet zsírt éget és cukrot raktároz.

Az agyalapi vegetatív központok izgatása révén emeli a testhőmérsékletet, a mellékveséből adrenalint szabadít fel, hatására a veseerek tágulása miatt a vesében kis mértékben növeli a glomerulus filtrációt és csökkenti a nátrium tubuláris reabszorpcióját, ezért fokozódik vizelet kiválasztása, fokozza a gyomorban a sav- és pepszinszekréciót.

Ugyancsak közismert a gondolkodásért felelős cerebrocorticalis mezőkre gyakorolt serkentő hatása: fokozza a szellemi tevékenységet, javítja a szellemi funkciókat, gyorsítja a szellemi gondolattársítást, javítja az ítéletalkotást és a megfigyelőképességet, csökkenti a fáradtságot és álmodást.(Szatmári és Grósz 2012, Gyógyszertan, Knoll J, Medicina Könyvkiadó Rt, Budapest,1995, Koffein)

### **Monoszacharidok (glükóz, fruktóz):**

Fizikai munkavégzés során. raktározott molekulák bomlásából származó energia kerül felszabadulásra. A szervezet energiaigényének nagyjából a felét glikogén, a másik felét pedig zsír elégetésével fedezi. Az izmok, illetve a máj glikogén raktárai gyorsan kiürülnek, ami a fizikai munkavégzés drasztikus romlásához, fáradtságához, a koncentrációs állapot leromlásához, remegéshez, izzadáshoz, szédüléshez, majd pedig kimerüléshez vezet; annak ellenére, hogy oxigén és zsír nagy mennyiségben áll rendelkezésre. . A glikogén lebomlásából hirtelen nagyobb mennyiségű glükózhoz juthat a szervezet. Ez főként az agy felhasználása szempontjából fontos, mert az agy csak glükózt képes energiaforrásként felhasználni.

Természetesen a táplálék is tartalmaz szénhidrátokat. A glükóz mellett más monoszacharidokhoz, például fruktózhoz is hozzájuttat így a szervezet. A mindennapi élet során használt kristálycukor diszacharid, melynek bomlása során egy glükóz és egy fruktóz molekula keletkezik.

Ha az energiatartalék cukrot tartalmaz, és nem édesítőszer, akkor a koffeinnel együtt előidézhet rövid idejű, átmeneti teljesítményjavulást. Ez azonban megfelelő vízpótlás mellett valósulhat meg, ugyanis a koffein diuretikus hatása miatt ez gyorsan kiürül.(Szatmári és Grósz 2012)

#### 4.7.1 Energiaitalok kognitív és pszichés képességekre kifejtett hatásai

Az energiaitalok teljesítményjavító tulajdonságátért elsősorban a bennük található koffein, kisebb mértékben a szénhidrátok a felelősek.

Kísérletek azt mutatják, hogy a nagy odafigyelést igénylő, fárasztó kognitív feladatok megoldása közbeni hangulatot, illetve a teljesítményt az energiaitalok szinten tartják és/vagy javítják azt. Megvonáskor a koncentráció képesség jelentősen csökken. Ugyanezek a tünetek figyelhetők meg a koffein elvonásakor is, tehát az energiaitalok pozitív hatásaiért főként a koffein felelős. A szénhidrátok - típusaiktól függően - javítják a hangulatot. Némelyikük azonnal, míg mások csak később fejtik ki hatásukat (Levy és Tapsell 2007; Smith és mtsi. 2004)

A vezető márkájú energiaitalok hatóanyag összetétele javítja többek között a reakcióidőt, a koncentrációs képességet, valamint, a memóriát. Ezen hatásokra, illetve a szubjektív figyelemre és a fizikai teljesítőképességre összpontosító vizsgálatokból kiderült, hogy az energiaital átmenetileg jelentősen javítja e kritériumokat. A jelenség oka a koffein volt (Alford és mtsi. 2001).

Az energiaitalok népszerű „tanulási segédletek”. A kognitív képességekre kifejtett átmeneti teljesítményfokozó hatásuk a bennük található két fő komponensnek, a koffeinnek, és a taurinnak köszönhető. Vannak azonban olyan kísérleti eredmények is, melyek szerint ezek a rövidtávú memóriát nem befolyásolják, csupán csökkentik a szívfrekvenciát, és emellett emelik az artériás központi nyomást, ezzel javítva az agy vér-, illetve tápanyag ellátását ( Smith és mtsi. 2004).

A diákok mellett a gépkocsivezetők is előszeretettel használják az energiaitalokat éberségi szintjük emelésére, fenntartására. Reyner és munkatársai szimulátorban tesztelték az energiaitalok ilyen irányú hatását. A kísérleti alanyokat a kísérlet előtt nem engedték aludni, alvásmegvonásban részesültek, majd egy szimulátor segítségével vezetési feladatokat hajtottak végre. A kísérlet során 80 mg koffeint és taurint, valamint glükuronokat tartalmazó energiaitalokat ittak. A kísérlet során azt tapasztalták, hogy ezek az italok csak az első 90 percben fejtették ki kedvező hatásukat. Az alanyok teljesítménye másfél óra után drasztikusan csökkent, és a kipihent, éber állapot által nyújtott eredmény alá csökkentek (Reyner és Horne 2002).

Tanulmányozták azt is, hogy az energiaitalok egyformán befolyásolják-e a női, illetve a férfi gondolkodást. A kísérletben mérték az alap képességeket, valamint energiaital és placebo elfogyasztása utáni képességeket. Az eredmények meglepőek, ugyanis férfiak

esetében jelentősen nőtt a reakcióidőt mérő feladatokra adott válaszok sikeressége, míg a nők esetében ez a sikeresség nem volt megfigyelhető (Mucignat-Caretta, 1998).

## 5 Toxikológiai módszerek

A koffein a leggyakrabban és a legszélesebb körben használt aktív hatóanyag. Annak ellenére, hogy évszázadok óta használjuk, és évtizedek óta kutatjuk hatásait, főként krónikus adagolásnál, nem teljesen ismertek (Lakatos 2014)

Jelenlegi tudásunk szerint több mint 60 növényfaj tartalmaz különböző mennyiségben koffeint (Sawyer és mtsi. 1981).

Napjainkban is sok tudományos vizsgálat foglalkozik azzal, hogy feltérképezze, pontosan hogyan fejti ki hatását a koffein. A koffeint elsősorban mint nem szelektív adenosin antagonistát tartják számon, ez az a mechanizmus, amellyel kifejti fő idegrendszeri hatását például az alvásra, gondolkodásra, tanulásra és a memóriára (Ribeiro és Sebastiao 2010).

Mindezen hatások mellett a koffeinnek a szövetek regenerációjában is lehet befolyásoló szerepe (Suzuki és Hirs 1999).

A koffein hatásával kapcsolatosan számos kísérlettel alátámasztott tény bizonyítja, hogy a vázizom teljesítőképességének a növelésére is alkalmas, ugyanis az anyagcsere folyamatokat befolyásolja. 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 kerestem a választ, hogy a koffeinfogyasztás miként befolyásolja a vázizmok illetve a szívizmok differenciálódását, metabolizmusát; valamint hogy az energiáit és a kávé élettani hatásai hogyan működnek az *in vitro* és az *in vivo* kísérletek folyamán.

### 5.1 *In vitro* toxikológiai módszerek

Számos szakirodalmi forrás utal rá, hogy a koffein magas koncentrációban gátolja a sejtosztódást, valamint sejthalált indukál. A gátlás során a koffein elnyomja a sejtosztódást a G0/G1 (nyugalmi) fázisban. A gátló mechanizmus a sejtnövekedés visszafordításához

vezet, ami karcinogenezis, azaz a tumorsejtek kialakulásának gátlását eredményezi (Hasimoto és mtsi. 2004; Alao és Sunnerhagen 2009; Liang és mtsi. 1997).

## 5.2 Sejtenyészetek a toxikológiában

Sejt- vagy szövettenyészetnek azokat a preparátumokat nevezzük, amelyekben sejteket legalább 24 órán át tartunk fenn. A tenyésztési körülményeket a felhasználás céljának megfelelően választjuk meg. Változtathatjuk a tenyésztett sejtek mennyiségét, elrendeződését, a tenyészetek sejtösszetételét, a sejtnövekedés és/vagy specializálódás megengedett mértékét stb.

A különböző felhasználásoknak megfelelően, a sejt- és szövettenyészetek igen sok típusa alakult ki.

Készíthetünk olyan tenyészeteket, amelyek jobban vagy kevésbé őrzik meg, illetve egyáltalán nem tükrözik az intakt szövet szerkezetét.

Sejtenyésztés során az egészséges vagy tumoros szövetből elkülönített sejteket fenntartják és szaporítják. Ennek három típusa lehet, a primer tenyészet, a sejtörzs és a sejtvonat.

A primer tenyészet valójában a tenyésztés kiinduló pontja. Az e sejtenyészetek a szövetből kiszabadított egyedi sejtek kiültetésével készülnek. A primer tenyészet a kiindulási szövetben jelenlevő sejtípusok heterogén preparátuma. Primer tenyészetben a sejt differenciációs és regenerációs folyamatok révén újraalakulhatnak a szövetre jellemző sejt kapcsolatok. (SOTE)

Átültetéssel a primer sejtenyészetekből másodlagos, harmadlagos stb. tenyészetek hozhatók létre, ezek az ún. sejtörzsek. Sejtösszetételük minden átültetéssel módosul: a gyorsabban osztódó sejtfeleségek aránya fokozatosan nő. Élettartalmuk végleges (maximum 1-2 hónap), de ez idő alatt megőrzik minden, a fajra jellemző fiziológias tulajdonságukat.

Sejtörzs helyett kialakulhat sejtvonat is. A sejtvonat megfelelő körülmények között tartva, korlátlan életidejű lehet, de az eredeti sejt nem minden élettani és szöveti tulajdonságát őrzi meg. Genetikailag viszonylag homogén sejt kultúra. A legtöbb esetben vagy egészséges sejtek in vitro transzformációjával vagy tumoros sejtek (amelyek a normál sejtek szervezeten belüli transzformált változatainak tekinthetők) felhasználásával nyerik a sejt vonalakat. A tumor sejtek a normál sejtek szervezeten belüli transzformált változatainak tekinthetők.

A sejt kultúrákat alkothatják szuszpenzióban illetve letapadva növekvő sejtek. Ez utóbbi esetben a sejtek mátrix fehérjék termelésével, illetve a táptalajban található Ca ionok segítségével képesek szorosan a tenyésztő edény falához tapadni, így ún. egyrétegű (monolayer) kultúrákat alkotnak. A szuszpenzióban növekvő sejtek a tápoldatban lebegve nőnek, osztódnak. (Műszeroldal)

A legelső in vitro körülmények között fenntartott emberi sejtvonal Henrietta Lacks nevéhez kapcsolódik. Ez a HeLa sejtvonal, melyet a nőbeteg méhnyak karcinómájából tenyésztettek ki 1951-ben. ( ELTE)

A sejteken, illetve a sejt kultúrákon elvégzett kísérleteket napjainkban különböző sejtenyésztéseken végzik, amely technikának az előnyei a következők:

- Az állati és növényi szerv, illetve szövet több különböző sejt típusból épül fel. A sejt kultúrákban történő tenyésztés során lehetőség nyílik különböző sejt típusok szeparáltan történő tenyésztésére, amely a tulajdonságaikat tekintve homogénebb sejt populációt eredményez.
- A kísérleti körülmények kontrollálása sejt kultúrák esetén könnyebben megoldható, mint intakt organizmusok esetén.
- A szervekben, szövetekben nehéz elkülöníteni a sejtek „saját” tulajdonságait a többi, ott jelen lévő sejt típusal való kölcsönhatásból következő sajátosságoktól; sejt kultúrák esetén ez nem jelent problémát.
- Sok esetben egyetlen sejtől is kifejlődhet egy genetikailag homogén sejt populáció, ami egyszerűbbé teszi a genetikailag különböző sejtek elkülönítését és vizsgálatát. (Műszeroldal)

A sejt kultúrák fenntartása in vitro sejtenyésztést jelent. Ez azt jelenti, hogy a vizsgálni kívánt sejteket a fiziológiai körülményeikhez legközelebbi állapotok között kell tartani, ezért megfelelő tápoldatban (úgynevezett médiumban) 37°C inkubáljuk. Az adott sejtsűrűséggel indított sejt kultúra sejtszáma egy ideig exponenciálisan nő, amíg eléri az ún. telítési szakaszt, ahol a sejtek befejezik az osztódást - ekkor G1/G0 fázisban vannak), így a sejtszám nem változik tovább. Általában ebben a stádiumban történik a sejtek passzálása. A passzálás azt jelenti, hogy a sejteket friss médiummal „meghígítjuk”, így újból képesek az osztódásra.

A passzálás több módon történhet. A szuszpenzióban növekvő sejteknek sokszor elegendő, ha a sejtsuszpenziót megfelelő arányban friss médiummal meghígítjuk. A másik

lehetőség, hogy a szuszpenzió lecentrifugálását és a felülúszó eltávolítását követően a sejteket megfelelő mennyiségű friss oldatba vesszük fel.

A letapadó sejtek passzálása általában a konfluens kultúra elérésekor történik. A konfluens sejteket előbb szuszpenzióba kell vinni. Ez néhány esetben a tenyésztő edény enyhe rázogatóásával, ütögetésével is elérhető, de legtöbbször enzimekre vagy kelátképző anyagokra van szükség ahhoz, hogy a sejteket elválasszuk a tenyésztő edény falától. Leggyakrabban enzimként tripszint alkalmaznak, gyakran EDTA-val (etilén-diamin-tetraacetát) együtt használva. Tripszinezés során először a médiumot el kell a sejtekről távolítani, amit egy PBS-es öblítés követ. Ezután a megfelelő pufferben előkészített tripszinoldatot ráöntik a letapadt sejtekre, majd 1-2 perces 37°C-os inkubáció következik. Az eljárás végén friss médium hozzáadásával leállítják a reakciót, a sejteket lecentrifugálják, és a kívánt mennyiségű médiumban veszik fel. (Műszeroldal)

### 5.2.1 A sejt kultúrák fenntartásához szükséges anyagok és eszközök

Tápfolyadék (médium):

Feladat, hogy a sejtek számára biztosítsa a növekedéshez szükséges tápanyagokat, növekedési faktorokat, a megfelelő fizikai és kémiai környezetet. Összetétele sejt típusonként különböző lehet, mindig az adott sejt sajátosságaihoz mérten kell összeállítani.

Legfontosabb alkotóelemei:

- sóoldat: tartalmazza a nélkülözhetetlen anorganikus ionokat ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Cl}^-$ , foszfátionok, hidrogénkarbonát), így fenntartja az ozmotikus folyamatokat.
- glükóz: energiaforrásként szolgál, oxidatív lebontása során nagy mennyiségű ATP szabadul fel. Emellett felhasználható szénhidrátok, lipidek, nukleinsavak, a szerin, az alanin valamint a glicin szintézisére.
- esszenciális aminosavak: arginin, hisztidin, izoleucin, leucin, lizin, metionin, fenilalanin, treonin, triptofán, valin. Ezeket az aminosavakat a gerincesekből származó sejtek nem képesek előállítani, így a tápoldat nélkülözhetetlen alkotóelemei.
- vitaminok: kolin, folsav, nikotinamid, inozitol, pantoténsav, piridoxin, riboflavin, tiamin, biotin,  $\text{B}_{12}$  vitamin.

- pufferrendszer, ami a pH fenntartásához nélkülözhetetlen. Általában oldott CO<sub>2</sub>/bikarbonát puffer segítségével tartják fenn a megfelelő pH-t, így az oldott CO<sub>2</sub> szintet a CO<sub>2</sub> nyomás megfelelő beállításával szabályozzák.
- A fenolvörös a pH ellenőrzéséhez nélkülözhetetlen indikátor. Erre azért van szükség, mert a sejtek metabolizmusuk során savas kémhatású anyagokat termelnek, amelyek - az alkalmazott pufferek ellenére - egy adott szint felett megváltoztatják a tápfolyadék pH-ját, ami sejtkárosodáshoz vezethet. A fenolvörös indikátorként szolgál, ugyanis savas közegben sárga, míg lúgos közegben lila színű.
- szérum: a legtöbb sejtípus esetén 5-20%-os magzati vagy felnőtt szérummal egészítik ki a médiumot. A szérum a sejt kultúrában végbemenő proliferációhoz nélkülözhetetlen anyagokat tartalmazza (pl. a legtöbb gerinces sejt növekedéséhez elengedhetetlen inzulint).
- antibiotikum: a bakteriális fertőzések ellen nyújtanak védelmet.

#### Steril fülke:

A szűrt levegővel ellátott steril fülke nélkülözhetetlen a médiummal és sejttenyésztéssel végzett műveletek során, hiszen steril környezetet teremt. A fülkében megfelelően szűrt levegőt áramoltatnak. Az alkalmazott szűrőrendszer kiszűri a 0,3 mikrométernél nagyobb részecskéket (vagyis a legtöbb baktériumot és gomba spórát a levegőből), így a tenyésztés befertőződésének veszélye jelentős mértékben csökken. Előnye még, hogy a levegő áramoltatása következtében a sejtek kezelése közben keletkezett aeroszolt is eltávolítja.

#### Inkubátor:

A sejttenyésztés során használt inkubátorok alaptulajdonsága, hogy a bennük tartott sejt kultúrák számára az optimális növekedési hőmérsékletet biztosítják. Általában állandó parciális nyomású és CO<sub>2</sub> atmoszférát és megfelelő páratartalom biztosítására is szükség van. Ezek szabályozása elektronikus úton történő folyamat.

#### Mikroszkóp:

A sejtek növekedésének nyomon követése a napi feladatok közé tartozik, és ennek alapkelléke az invert mikroszkóp.(Műszeroldal)

Kísérleteimet C2C12 egér vázizom sejt vonalon, illetve csirke szívizom tenyésztéken végeztem.

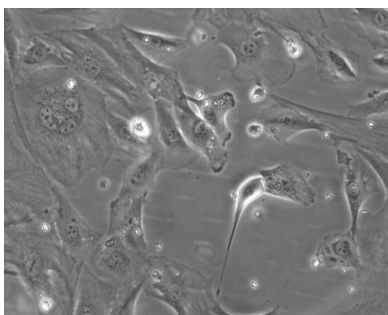
### 5.3 C2C12 egér vázizom sejtvonala

A C2C12 sejtvonala a Yaffe és mtsai. által 1977-ben létrehozott egér vázizom eredetű myoblast sejtvonala egyik szubklónja (Yaffe és Saxel 1977, Blau és mtsi. 1983).

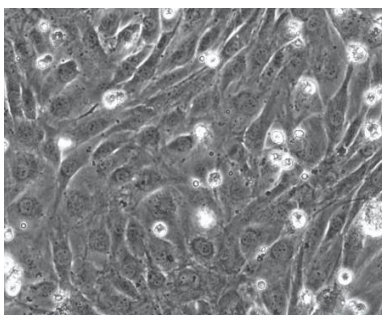
A sejtek a felnőtt C3H egértörzs lábának harántcsikolt izomzatából nyert immortalizált myoblastok, melyek lószérum hatására myotubulusokat képeznek. (7.ábra)

A differenciáltatást 90%-os sejtsűrűségnél kell megkezdeni, ugyanis ez a mértékű denzitás biztosítja a sejtfúziót megelőző sejt-sejt interakció meglétét. (8.ábra)

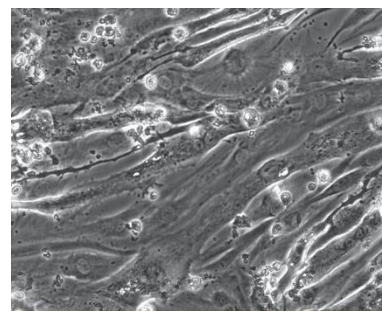
A myoblast tenyésztés fenntartásához és a proliferációjuk elősegítéséhez a DMEM tápoldatot 10% FBS-sel, 50 U/ml penicillinnel, és 50 µg/ml streptomycinnel egészítjük ki. A kísérleteinkhez a tenyésztetet izomcsövekké differenciáltatjuk, miután elérték az ehhez szükséges 80-90%-os konfluenciát. A differenciálódás elindítása a tápoldat összetételének módosításával történik, melynek során a 10% FBS-t – a többi összetevőt nem változtatva – 5% lószérumra (HS) cseréljük. A kísérleteket 5-6 napos differenciált myotubulusokon végezzük (Oláh és mtsi. 2011).



**6. ábra-C2C12 sejttenyésztet, 0.napja** (saját fotó)



**7. ábra- A konfluens C2C12 sejttenyésztet** (saját fotó)



**8. ábra- Differenciálódott C2C12 sejttenyésztet** (saját fotó)

### 5.4 Csirke szívizom sejt kultúra

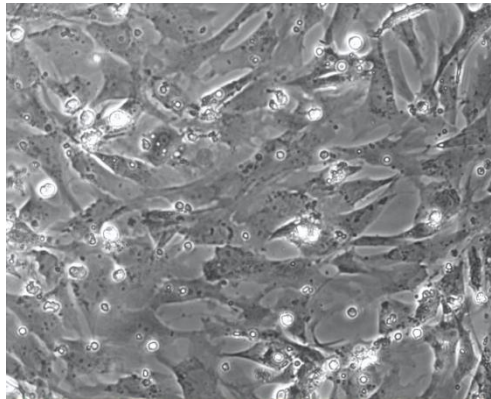
A primer sejttenyésztetek készítésénél a szöveti kapcsolataikból „kiszabadított” sejtek szuszpenzióit ülepítjük a megfelelően előkezelt tenyésztőfelületekre. A tenyésztendő szövet kiválasztásánál figyelembe kell venni, hogy milyen mértékű túlélés, sejtosztódás, regeneráció várható a szöveti szerkezet megbontása után. Végdifferenciált (sejtciklusból végleg „kilépett”, specializált) sejteket tartalmazó szövetek (pl. idegszövet, vázizom, szívizom, stb.) tenyészteteit fiatal posztnatális vagy embrionális mintákból érdemes indítani.



A csirke szívizom sejtenyészet előállítása csirke embrió felhasználásával készül. Kedvelt és gyakran használt sejt-kultúra, mert az előállítás jól reprodukálható, és a tojások is könnyen beszerezhetők.

Az embrió tojásból történő eltávolítása a szívizmok kellő differenciációja után történik. A szervek és szervkezdemények kialakulása a csirke 21 napos ciklusa alkalmával a 8-9. nap környékére tehető, így a mennyiségi változások és az intenzív, dinamikus növekedés ezután kezdődik. Ennek következtében a tojásból való kivétel ideális időpontja a 10. nap után esedékes).

Egyesek az emlős tenyészeteket részesítik előnyben, ugyanis azok biztosabb eredményt adnak azokra vonatkoztatva.



**9. ábra- Konfluens csirke szívizom tenyészet (saját fotó)**

## 6 Módszerek

### 6.1 Anyagok és eszközök

a) Tenyésztőedények:

- Petri-csésze (10.ábra)
- Flaska (12.ábra)
- Plate (13.ábra)
- Lombik (11.ábra)

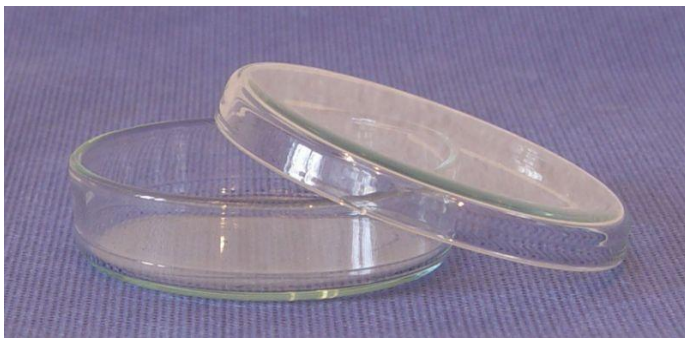
b) CO2 inkubátor (MedicalExpo)

c) Steril fülke

d) Centrifuga

e) Mikroszkóp (Olympus invertált fáziskontraszt mikroszkóp)

f) Plate reader (Cytofluor 4000)



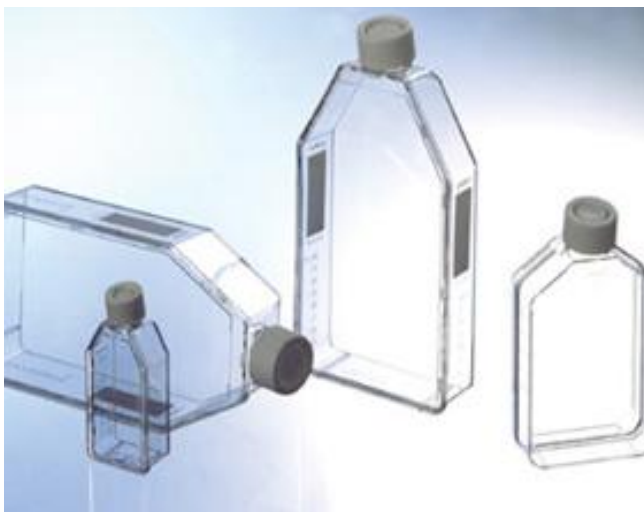
**10. ábra-Petri-csésze**

forrás: Google képtár



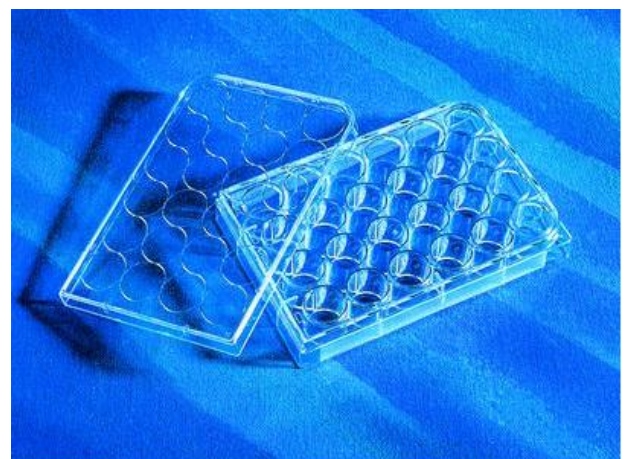
**11. ábra- Lombik**

forrás: Google képtár



**12. ábra-Tenyésztő flaska**

forrás: Google képtár



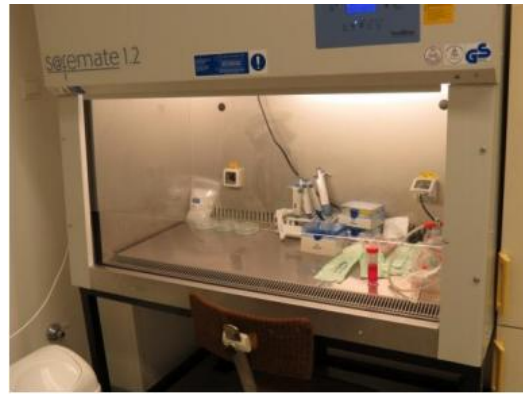
**13. ábra- Tenyésztő plate**

forrás: Google képtár



**14. ábra-CO2 inkubátor (MedicalExpo)**

forrás: Google képtár



**15. ábra-Sterik fülke**

*(saját fotó)*



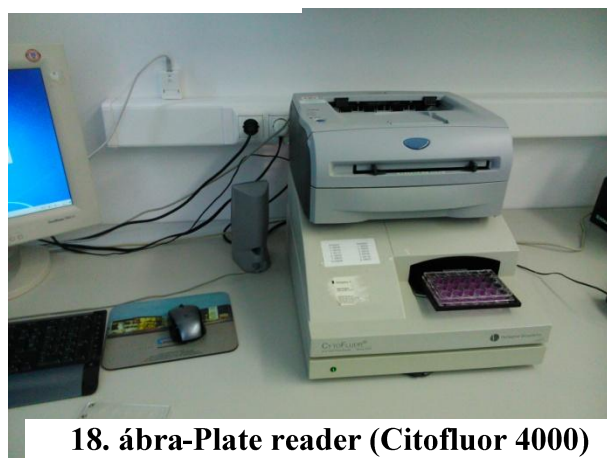
**16. ábra-Centrifuga**

*(saját fotó)*



**17. ábra-Mikroszkóp**

forrás: Google képtár



**18. ábra-Plate reader (Citofluor 4000)**

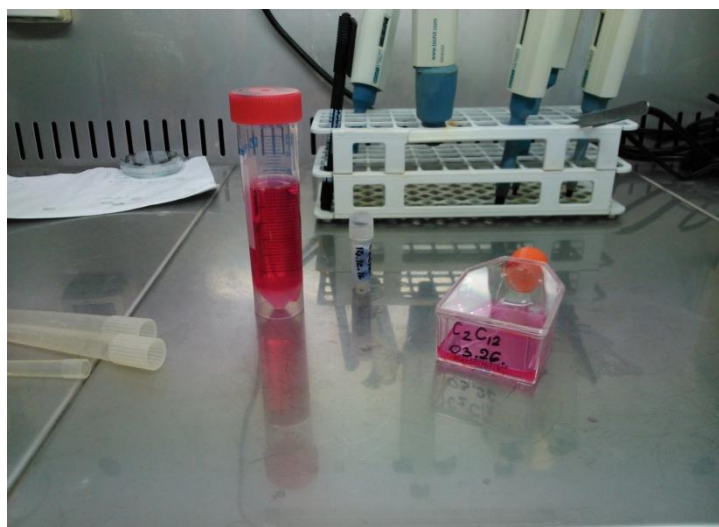
*(saját fotó)*

## 6.2 A vizsgálatok előkészítése

### 6.2.1 A C2C12 sejtvonala

A sejtek tárolása lefagyasztott állapotban, folyékony nitrogénben történt, így ezeket fel kellett olvasztanunk. A folyamatot kb. 40 °C-os langyos folyóvíz alatt végeztük. A felolvasztás során ügyelni kellett arra, hogy a felolvasztás gyors legyen, ugyanakkor a sejteket ne melegítsük túl, mert így nem okoztunk membránkárosodást illetve sejtpusztulást. A sejteket ezután 5 ml médiumhoz adtuk, amit egy 15ml-es centrifugacsőbe helyeztünk, majd 5 percig 2000-es fordulatszámra centrifugáltuk. Eközben a tenyésztőflaskába 5 ml médiumot pipettáztunk.

A centrifugálást követően a sejtekről a médiumot leszívtuk egy szivattyú és egy üveg pipetta segítségével. A centrifugacsőben maradt sejteket 1 ml médiumba felvettük, és pipettával homogenizáltuk, majd a tenyésztőflaskában lévő médiumhoz adtuk, és egy napig inkubátorba helyeztük.



**18. ábra- C2C12 sejttenyészet tenyésztőflaskában**

*(saját fotó)*

Következő nap a sejteket a tenyésztőflaskákból eltávolítottuk, és tenyésztő plate-be helyeztük át. A rajtuk lévő médiumot eltávolítottuk, szintén a szivattyú és az üveg pipetta segítségével.

Ezután 3 ml tripszint adtuk a sejtekhez, amely a letapadt sejteket feloldotta a flaska aljáról. A fellazuláshoz 5-10 perc volt szükséges. Az eredmény mikroszkóp alatt is jól

látható volt. Következő lépésként a sejteket 5 ml médiummal centrifugacsőbe helyeztük, és 5 percen keresztül 2000-es fordulatszámom, 25°C-on centrifugáltuk. A centrifugált sejtuszpenzióról a felülúszót pipetta segítségével eltávolítottuk, majd a sejteket 7,5 ml médiumba pipettáztuk, végül 24 lyukú tenyésztő plate-ekbe helyeztük. A sejteket 100 µl-enként osztottuk szét, majd pedig 37°C-on tároltuk őket 5% CO<sub>2</sub> tartalmú inkubátorban, amíg a konfluens tenyészet létre nem jött.

### 6.2.2 A Csirke szívizom sejtenyészet előkészítése

A sejt kultúra előkészítését a fentiekben leírt eljárás szerint készítettük. A kísérlethez csirke embrió szívizomszövetét alkalmaztuk, amihez az embriót körülbelül 11 napig keltettük, majd kipreparáltuk a szívet steril körülmények között. Ezután a szívet izoláltuk, és médiumot öntöttünk hozzá, majd pengékkel feldaraboltuk és 0,05%-os tripszinbe (Sigma) helyeztük 6 órán át. A tripszin e kísérlet során szintén a sejt-sejt közötti kapcsolatok fellazítása végett szükséges. Miután ez bekövetkezett disszociáltuk a sejteket egy nagyobb, majd egy kisebb pipetta segítségével.

Ezután 5 ml médiumba helyeztük a sejteket, majd centrifugáltuk őket 5 percig 700-as fordulatszámom. A felülúszót szivattyú és üveg pipetta segítségével leszívtuk, és a leülepedett sejtekhez 2 ml médiumot adtunk, majd enyhén összeráztuk. A sejtuszpenziót 24 lyukú tenyésztő plate-ekbe helyeztük pipetta segítségével, majd 37°C-os CO<sub>2</sub> inkubátorba helyeztük, amíg konfluensé nem váltak.

### 6.2.3 Vizsgált anyagok előkészítése

Kísérleteim során a társadalom által leginkább preferált élénkítő szerek - a kávé és az energiatartal - hatását vizsgáltam. Mind a két vizsgálati termék esetében egy-egy terméket használtunk, melyek különböző koncentrációjú oldatának sejtekre kifejtett hatását mértük.

A közvélemény kutatások és az eladási adatok szerint Magyarország legkedveltebb kávéja a klasszikus Omnia kávé, így én is ezt alkalmaztam erős eszpresszó formájában. Elkészítése során ügyeltem arra, hogy a fogyasztói szokásoknak megfelelően főzzem le, de nem adtam hozzá semmilyen édesítőszer, illetve tejet és tejszínt sem. A sterilitás elérése érdekében a lefőzött kávé át szűrtük 0,45 µm-es steril fecskendőszűrővel (19. ábra).



**19. ábra- Steril fecskendőszűrők** (forrás: [www.biocente.hu/termekek](http://www.biocente.hu/termekek))

A vizsgált kávé pontos koffein tartalmát a vizsgálathoz szükséges eszközök hiánya végett nem tudtuk megmérni, így az irodalmi átlagértéket vettük figyelembe: pörkölt őrölt kávé koffein tartalma 57 mg/100 ml, így egy csészényi (150 ml) kávé 85 mg koffeint tartalmaz.

Energiaital szempontjából is egy átlagos és kedvelt fajtát választottam, a piacvezető Hell Classic márkát. Az energiaitalt nem szűrtük át steril fecskendőszűrőn, mivel feltételeztük annak sterilitását (20. ábra). A vizsgált energiaital koffeintartalma 32 mg/100 ml, tehát egy dobozban (250 ml) 80 mg található.

#### 6.2.4 Koffein hozzáadása sejtekhez

A vizsgált koffein tartalmú termékeket direkt módon adtuk a C2C12-, illetve a szívizom sejtenyészetekhez. Mind a kávé, mind az energiaital esetében arra a kérdésre kerestük a választ, hogy milyen hatással vannak a különböző sejt kultúrákra a kisebb, illetve a nagyobb koncentrációban alkalmazott koffein tartalmú szerek. Így 100-szoros, és 20-szoros hígításban vizsgáltuk azokat.

- 100-szoros hígítás esetén a következő mennyiségeket használtuk: 500  $\mu$ l médiumba 100  $\mu$ l sejtuszpenziót, és 6  $\mu$ l vizsgálandó anyagot pipettáztunk.
- 20-szoros hígítás esetén a következő mennyiséget használtuk: 500  $\mu$ l médiumba 100  $\mu$ l sejtuszpenziót, és 30  $\mu$ l vizsgálandó anyagot pipettáztunk.

Ezek után a sejteket visszahelyeztük az inkubátorba, és figyelemmel kísértük a sejtek differenciálódását.

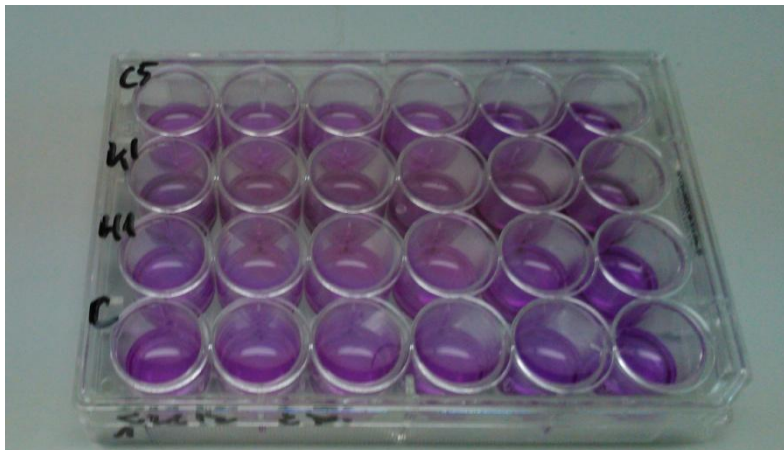
A sejtenyészetben bekövetkező sejtszámbeli változásokat illetve a sejtpusztulás mértékét egyrészt mikroszkóp alatt figyeltük, másrészt a sejtek metabolikus működését plate reader segítségével állapítottuk meg.



**20. ábra –Energia ital hozzáadása a sejtenyészethez**

(saját fotó)

A vizsgált anyagot egy oszlopon belül 6 ismétlésben vizsgáltuk. Minden tenyésztő plate tartalmazott egy oszlopot, melybe nem tettünk vizsgálandó anyagot, ez kontroll tenyészetként szolgált. A kísérletek folyamán mindig 2 plate-re volt szükség.



**21. ábra- A vizsgálandó anyagot tartalmazó tenyésztő plate. (A kép készítésekor a sejtenyészetekhez már hozzáadtuk az Alamar blue fluorescens festéket, így a médium rózsaszín színe lilára váltott.)**

C: kontroll tenyészet sora

H1: Hell energia itallal kezelt sejtenyészet sora 100-szoros hígításban

K1: Kávéval kezelt sejtenyészet sora 100-szoros hígításban

C5: Hell energia itallal kezelt sejtenyészet sora 20-szoros hígításban

(saját fotó)

A második tenyésztő plate egy kontroll sejtenyészetet, illetve egy kávéval kezelt sejtenyészetet tartalmazott 20-szoros hígításban.

### 6.2.5 Sejtpusztulás mérése

A sejtek differenciálódásáról, illetve a sejtszám alakulásáról folyamatosan fotók készültek, amiket mikroszkóp segítségével készítettünk.

A metabolizmus mérését Plate reader (Citofluor 4000) segítségével végeztük. A gép a tenyészethez adott Alamar blue festék átalakításával termelődött fluorescens metabolit mennyiségét méri minden 5. percben 30 percen keresztül.

A Plate reader stabil 37°C-t biztosít a sejtenyészet számára, és kis mértékben rázza azokat. Az optikai szálon megvilágítja a mintát, majd megméri a fluorescens metabolit

által kibocsátott fényt. Ezután összegzi az adatokat, és egy görbén ábrázolja azokat. A görbe a sejtszámot, illetve a metabolizmust mutatja.(22. ábra)

Méréseink során az excitáció: 530 nm/25, az emisszió: 580 nm/50 volt.

Az Alamar blue-s kimutatást a sejtszám meghatározására használják, azonban ez a módszer nem teljesen pontos, ugyanis nem a sejtek számát méri, hanem azok metabolikus működését, így toxicitás mérésére a legalkalmasabb.

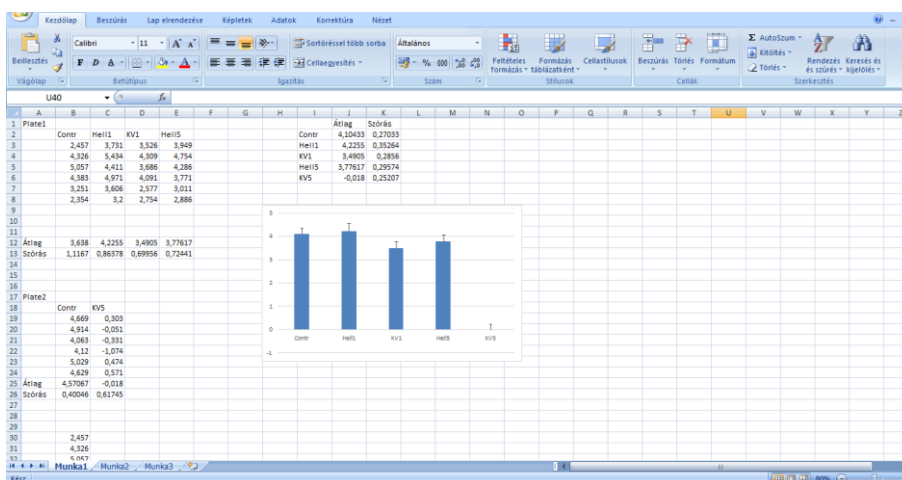


22. ábra- A sejtek metabolizmus mérésének folyamat

forrás: Google képtár

### 6.2.6 Statisztikai értékelés

Az eredmények ábrázolását és azok értékelését Microsoft Excel program segítségével végeztük. Az adatokat átlag±SEM formában ábráztuk.



23. ábra- Adatok ábrázolása Excel program segítségével

(saját fotó)



### 6.2.7 Hipotézistesztelés

A szignifikancia szint a hibás döntés valószínűsége null hipotézis esetén.

Statisztikailag szignifikánsnak akkor nevezünk egy mérést, ha a minta elemszáma elég nagy ahhoz, hogy kizárjuk, hogy véletlenül kaptuk az értékeket, illetve a mintán belüli korreláció olyan magas, hogy nem kell a mintaszám növelésével kiszűrni a zajt. A statisztikai szignifikancia tehát egy valószínűséget ad, mégpedig annak a valószínűségét, hogy a mérés nem véletlenszerű eredményt adott.

A szignifikanciának van mértéke Ezt a  $p$  értékkel jelöljük. Ha 99%, hogy az eredményünk helyes, akkor  $p = 1\%$ , azaz  $p = 0,01$ . Ha csak 95%-ban vagyunk biztosak, akkor  $p = 0,05$  (azaz 5%). Azaz  $p$  azt mutatja, hogy mennyi a bizonytalansági faktor, ezért minél kisebb, annál jobb. (Statisztika)

Vizsgálataink során  $t$ -próba segítségével számoltunk szignifikancia különbséget. A kontroll tenyészet aktív sejteinek számát vetettük össze a különböző koffein tartalmú termékekkel kezelt tenyészetek aktív sejtjének számával. 0,05-nél kisebb adatok tekinthetők szignifikáns eltérésnek (Fürst 2014)

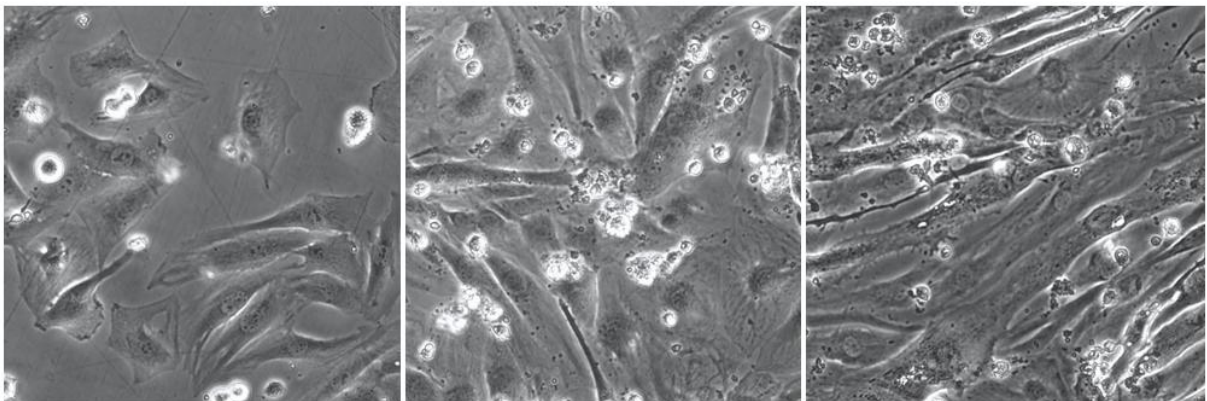
## 7 Eredmények

### 7.1 Kávé és energiáitai hatása C2C12 sejtekre

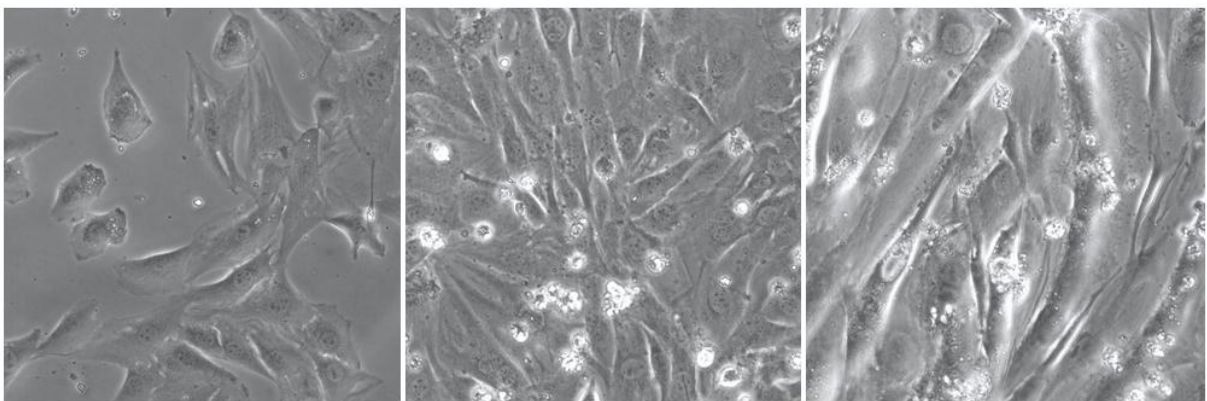
A C2C12 sejtenyészet esetében a koffein tartalmú termékeket folyamatosan adtuk a tenyésztő médiumba, a médium csere után is.

A konfluens tenyészetéről (5 napos) 400  $\mu$ l médiumot leszívtunk, majd 400  $\mu$ l szérummentes médiumot és a megfelelő mennyiségű koffein tartalmú terméket adtuk a sejtekhez. 10 nap elteltével megfigyeltük a sejteket mikroszkóp alatt, illetve elvégeztük az Alamar blue próbát.

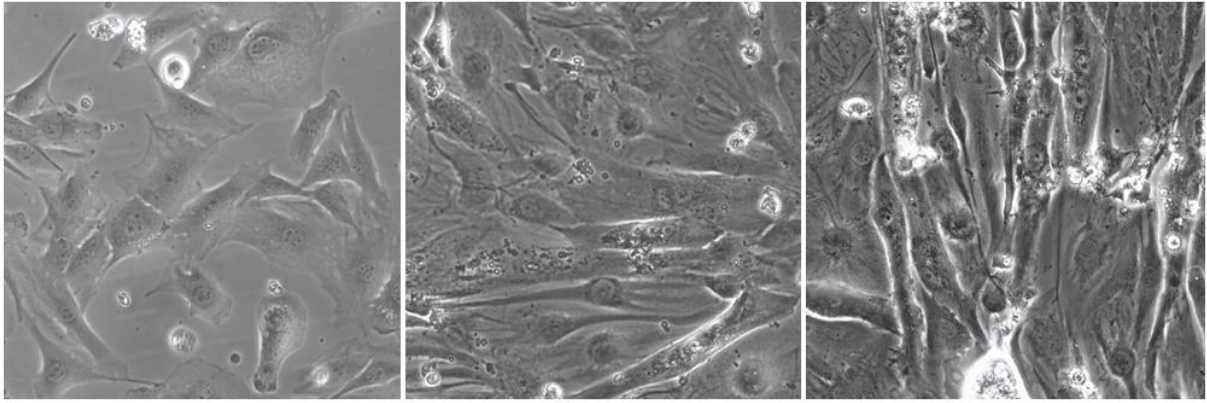
#### 7.1.1 Hell energiáitai



**24. ábra-Kontroll tenyészet sejtdifferenciálódásának folyamata** ( a fotók a tenyészet 1., 5., és 15., napján készültek)  
(saját fotó)



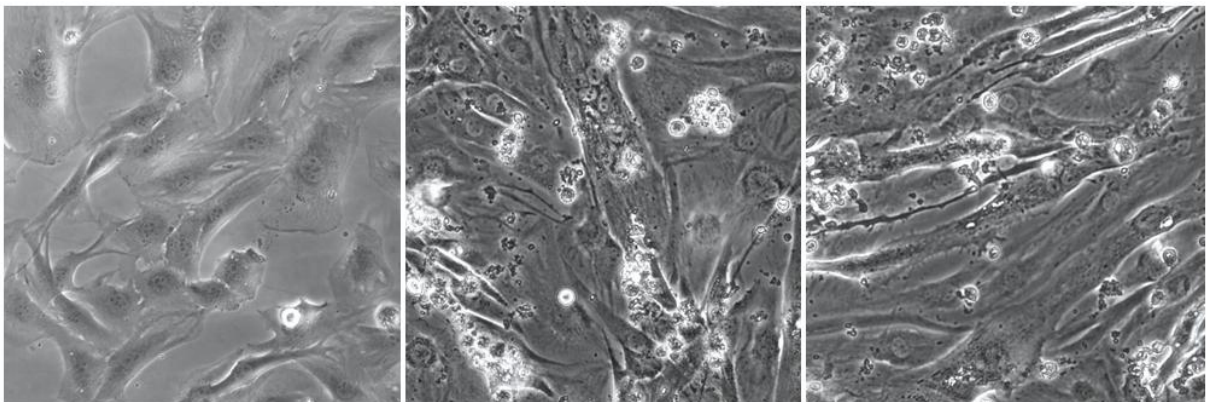
**24. ábra- Hell energiáitai 100-szoros hígításával kezelt tenyészet** (a fotók a tenyészet 1., 5., és 15., napján készültek)  
(saját fotó)



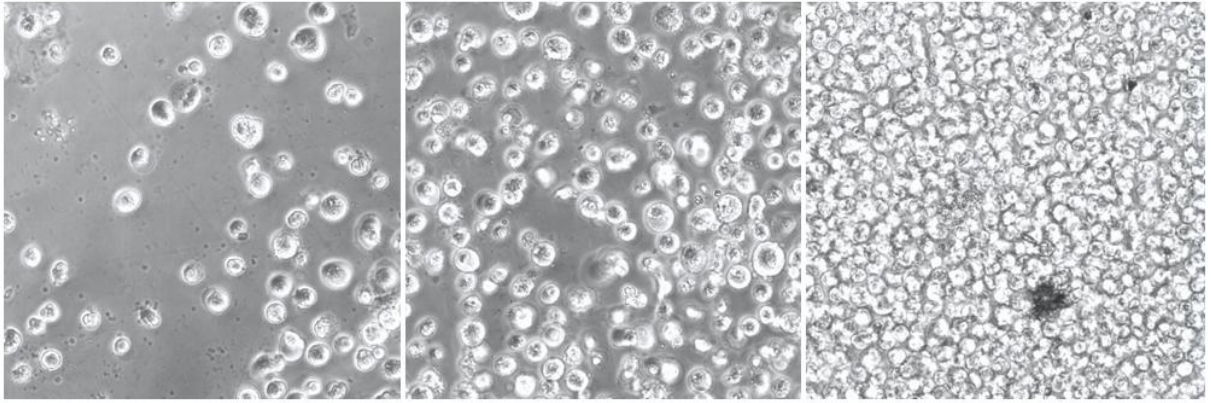
**25. ábra- Hell energiával 20-szoros hígításával kezelt sejtenyészet** (a fotók a tenyészet 1. , 5., és 15., napján készültek)  
(saját fotó)

A fotókon jól látható, hogy az energiával kezelt sejtenyészetek esetében jelentős változást nem történt: differenciálódásuk, és a számbeli változás tekintetében jelentős különbséget nem tapasztaltunk (24.-26. ábra).

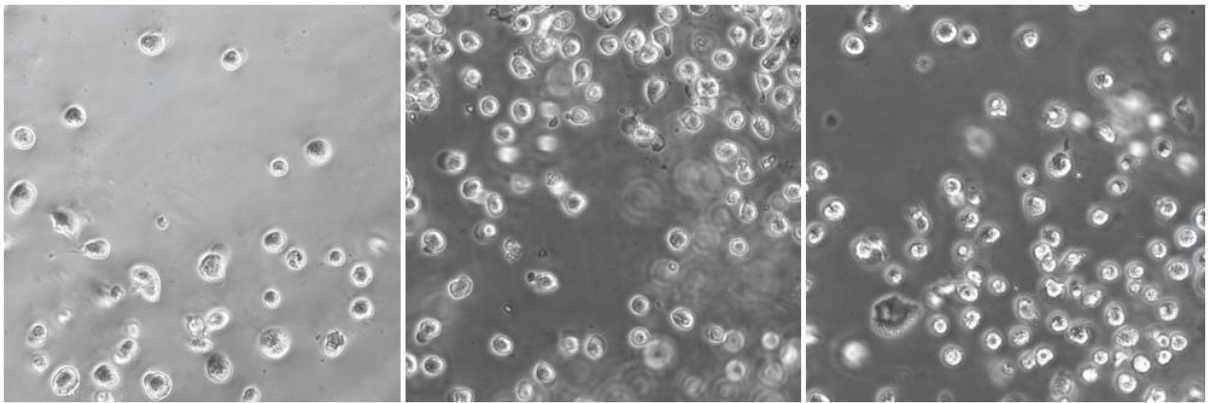
#### 7.1.2 Kávé



**26. ábra-Kontroll tenyészet sejt differenciálódásának folyamata** (a fotók a tenyészet 1., 5., és 15., napján készültek)  
(saját fotó)



**27. ábra- Kávé 100-szoros hígításával kezelt tenyészet** (a fotók a tenyészet 1. , 5., és 15., napján készültek)  
(saját fotó)

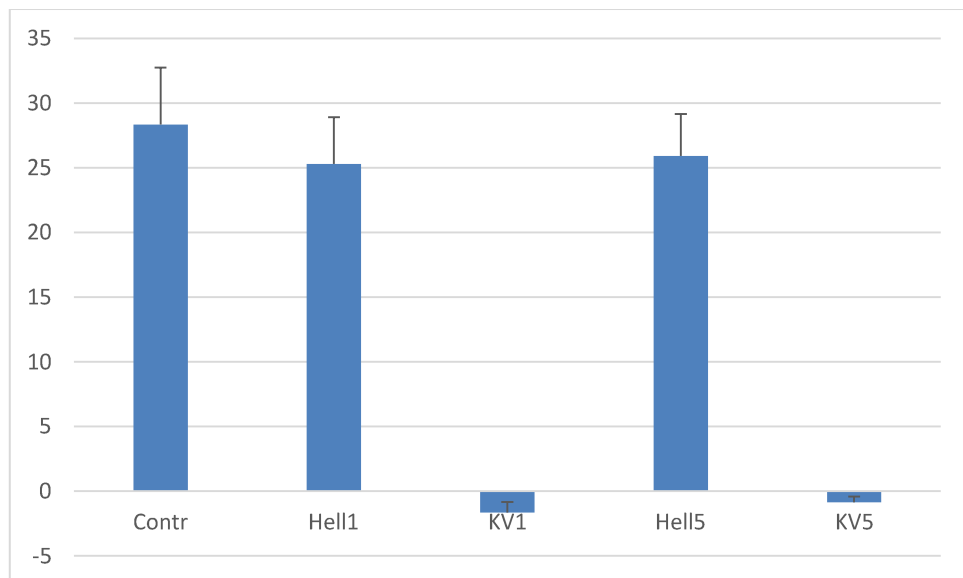


**28. ábra- Kávé 20-szoros hígításával kezelt sejttenyészet** (a fotók a tenyészet 1., 5., és 15., napján készültek)  
(saját fotó)

A fotókon jól látható, hogy a kontroll tenyészet normálisan fejlődött, míg a kávéval kezelt tenyészetek esetében a sejtek a kezelés elején nem tapadtak le a tenyésztőedény aljára, így nem élték túl a kezeléseket.(27.-29. ábra) Ennek az oka valószínűleg a magasabb koffein tartalom lehet.

	Kontroll 1	Hell 1%	Kávé 1%	Hell 5%	Kontroll 2	Kávé 5%
	30,67	29,05	-2,371	24,94	45,21	-0,989
	23,16	21,86	-1,074	25,79	39,94	-1,257
	23,66	22,66	-2,943	24,99	33,9	-0,829
	27,45	22,87	-1,326	21,07	37,1	-1,097
	30,78	24,96	-1,177	30,65	37,65	-1,029
	34,3	30,4	-0,966	28,04	51,24	0,029
Átlag	28,33667	25,3	-1,64283	25,91333	40,84	-0,862
Szórás	4,391604	3,602671	0,814827	3,232081	6,330785	0,45831

2. táblázat: Kontroll, 100-szoros hígításban Hell energiatallal, 100-szoros hígításban kávéval kezelt, illetve 20-szoros hígításban Hell energiatallal, és 20-szoros hígításban kávéval kezelt aktív sejtek relatív mennyisége C2C12 sejtenyészet esetében.



Szignifikancia :

Hell energiatallal:

100-szoros hígításban:  $p_{0,219}$  – szignifikánsan nem tér el

20-szoros hígításban:  $p_{0,301}$ -szignifikánsan nem tér el

Feketekávé:

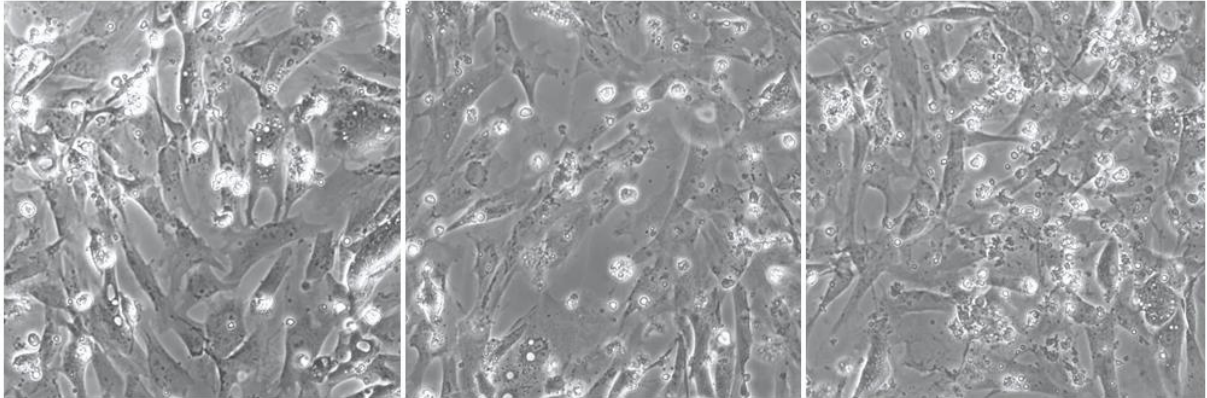
100-szoros hígításban:  $p_{1,443}$  – szignifikánsan eltér

20-szoros hígításban:  $p_{1,667}$ -szignifikánsan eltér

## 7.2 Csirke szívizomszövet esetében

A szívizom tenyészetek esetében a koffein akut hatását vizsgáltuk, így a kezelés konfluens tenyészeteken kezdtük. A sejtek 1 napos kezelésen estek át, majd mikroszkóp alatt vizsgáltuk azokat; ezután szintén elvégeztük az Alamar blue próbát.

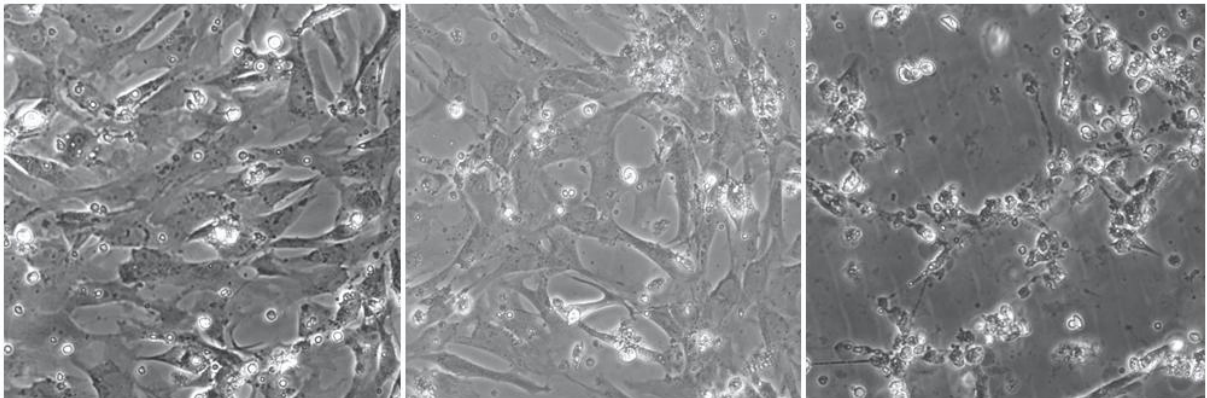
### 7.2.1 Hell energiaital



**9. ábra- Kontroll-, Hell energiaital 100-szoros hígításával-, Hell energiaital 20-szoros hígításával kezelt szívizom tenyészet**  
(saját fotó)

A fotókon jól látható, hogy szívizom tenyészet energiaitalos kezelése nem okozott jelentősebb számbeli változást (30. ábra).

### 7.2.2 Kávé estében

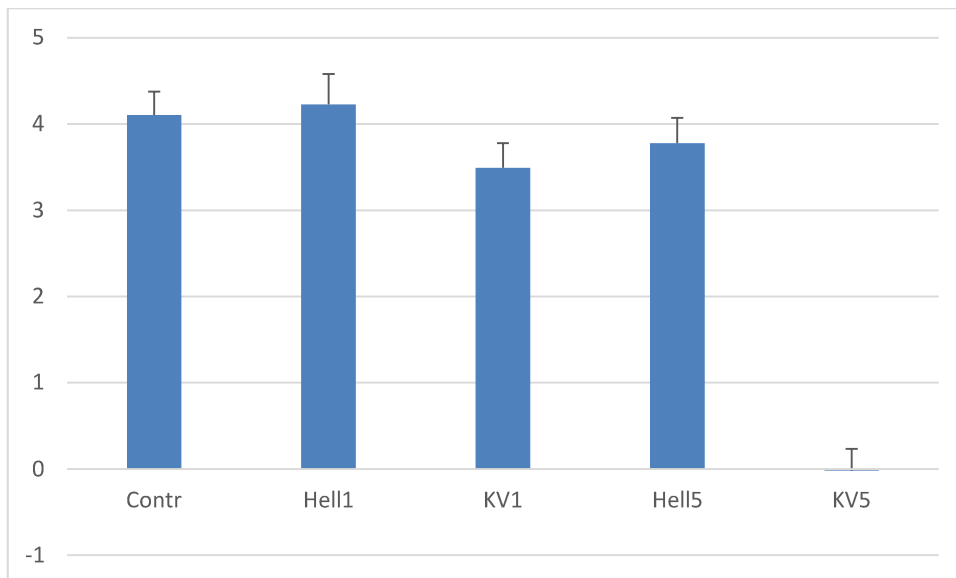


**10. ábra- Kontroll-, Kávé 100-szoros hígításával-, Kávé 20-szoros hígításával kezelt szívizom tenyészet**  
(saját fotó)

Jól látható, hogy a kontroll tenyészet és a 100-szoros hígításban kezelt tenyészet között nincs számottevő számbéli változás, azonban ezekhez képest az 20-szoros hígításban kezelt sejtek száma jelentősen csökkent (31.ábra). Ennek oka valószínűleg a nagyobb dózisban adagolt koffein.

	Kontroll	Hell 1%	Kávé 1%	Hell 5%	Kontroll2	Kávé 5%
	2,457	3,731	3,526	3,949	4,669	0,303
	4,326	5,434	4,309	4,754	4,914	-0,051
	5,057	4,411	3,686	4,286	4,063	-0,331
	4,383	4,971	4,091	3,771	4,12	-1,074
	3,251	3,606	2,577	3,011	5,029	0,474
Átlag	3,638	4,2255	3,4905	3,776167	4,570667	-0,018
Szórás	1,116702	0,863784	0,699562	0,724412	0,400461	0,61745

3. táblázat: Kontroll, 100-szoros hígításban Hell energiaittal, 100-szoros hígításban kávéval kezelt, illetve 20-szoros hígításban Hell energiaittal, és 200-szoros hígításban kávéval kezelt aktív sejtek száma csirke szívizom sejtenyészet esetében.



Szignifikancia:

Hell energiaittal:

100-szoros hígításban:  $p=0,332$  – szignifikánsan nem tér el

20-szoros hígításban:  $p=0,804$  – szignifikánsan nem tér el

Feketekávé:

100-szoros hígításban:  $p=0,789$  – szignifikánsan nem tér el

20-szoros hígításban:  $p=0,000$  – **szignifikánsan eltér**

## 8 Összefoglalás és megvitatás

Kísérleteink során a koffein akut és krónikus hatását vizsgáltuk C2C12 sejtenyészeten, illetve csirke szívizom tenyészetben különböző koffein tartalmú termékek segítségével. A koffeint direkt módon adtuk a sejtekhez, majd figyeltük a sejtekben bekövetkező változásokat.

Megfigyelhettük, hogy a koffein valamelyest befolyásolja az adott tenyészetek élettartalmát, illetve a sejtszámot, és a metabolizmust. Főként azokon a sejtenyészetenél található változás, amelyeket feketekávéval kezeltünk. A sejtszám ebben az esetben drasztikus csökkenést mutat. Az energiatartalomban a változás csekély.

Energiatartalomban számottevő változást nem tapasztaltunk egyik tenyészetnél sem, a bár kismértékű sejtszámú csökkenést megfigyelhettünk. A sejtek túlélésének sikeressége függhet az energiatartalomban összetevőitől, illetve a cukortartalomtól, azonban ez nem bizonyított, így újabb vizsgálatok szükségesek ez irányba.

A kávé toxikus hatása határozottan látszik mindkét tenyészet esetében. Feltételeztük ennek oka a pH egyensúly felborulása a magasabb koffein koncentráció mellett. A kávé savas tulajdonsága kis mértékben eltolhatja a médium pH értékét. Ennek ellenőrzése érdekében pH mérést végeztünk. A médium pH-ja 7,6 volt. 1 ml médiumhoz hozzáadtunk 50 µl feketekávét, majd ennek is megmértük a pH-ját. Kiderült, hogy a kávé nem változtatja meg a médium pH egyensúlyát, ugyanis ez a mennyiség nem elegendő annak savas irányba történő eltolására.

Előfordulhat, hogy a sejtenyészetekben megváltozott a médium ozmolaritása, azonban ilyen mennyiségben nem kellene toxikusnak lennie. Ez irányban további vizsgálatokra van szükség.

Megállapítható tehát, hogy az energiatartalomban nem okozott káros hatásokat, míg a feketekávé toxikusnak bizonyult ezekben a koncentrációkban. Drasztikusan csökkentette a sejtszámot és megváltoztatta a sejtek metabolikus működését C2C12 egér vázizomzat és csirke szívizom tenyészetek esetében.

Ahhoz, hogy a koffein hatásmechanizmusáról és a humán szervezetre gyakorolt hatásáról pontosabb következtetéseket tehesünk, számos további vizsgálatra van szükség *in vivo* és *in vitro* körülmények között.



## 9 Köszönetnyilvánítás

Köszönetet szeretnék mondani a Nyugat Magyarországi Egyetem Természettudományi és Műszaki karán belül a Biológia intézet összes dolgozójának, hogy mindvégig segítettek tanulmányaimat, és példamutató munkájukkal ösztönöztek céljaim elérésében.

Köszönettel, és hálával tartozom konzulenseimnek, Nyáriné Dr. Aleksza Magdolna tanárnőnek és Dr. Molnár Péter tanár úrnak, akik végig támogattak, önzetlenül és türelemmel segítettek munkámat, olyankor is, amikor váratlanul toppantam be felmerülő kérdéseimmel. Nélkülük nem sikerülhetett volna a szakdolgozatom megírása.

Köszönettel tartozom Fürst Nikolettnek, hogy lelkileg támogatta utamat, és segített az akadályok leküzdésében. Megfelelő időpontban ösztönzött, és nyugtatott egyszerre. Bármikor hívhattam, mindig segített.

Köszönetet szeretnék mondani Nagy Editnek, aki elviselt akkor is, amikor nem álltam a helyzet magaslatán, és támogatott mindazon idő alatt.

Nem utolsó sorban szeretnék köszönetet mondani családomnak, és barátaimnak, akik lehetővé tették tanulmányaimat, támogattak és biztosították a szakdolgozatom megírásához szükséges érzelmi háttérrel.

## 10 Referenciák

ALFORD, C., COX, H., WESCOTT, R.: The effects of Red Bull energy drink on human performance and mood. *Amino Acids*, Vol. 21, Number 2, September 2001, 139-150.

Alao, John P and Per Sunnerhagen (2009) The ATM and ATR inhibitors CGK733 and caffeine suppress cyclin D1 levels and inhibit cell proliferation, *Radiation Oncology* 10, :51

Blau HM, Chiu CP, Webster C: *Cell*. 1983 Apr;32(4):1171-80.

Coffea arabica: [http://hu.wikipedia.org/wiki/Arab\\_k%C3%A1v%C3%A9](http://hu.wikipedia.org/wiki/Arab_k%C3%A1v%C3%A9)

Coffea robusta: <http://hu.wikipedia.org/wiki/Robuszt%C3%A1v%C3%A9>

Cornelis M.C. and El-Soheemy A. (2007). Coffee, caffeine and coronary

ELTE: [http://physiology.elte.hu/gyakorlat/BSc\\_30h/Cell\\_cultivation.pdf](http://physiology.elte.hu/gyakorlat/BSc_30h/Cell_cultivation.pdf)

Erdélyi Tünde Orsolya(2013) Ioncsatornákra ható vegyületek farmakológiai vizsgálatának lehetőségei csirke szívizomsejteken, Nyugat-Magyarországi Egyetem Savaria Egyetemi Központ, Szakdolgozat  
<http://www.pminfonet.com/pmmain/Szakdolgozat%202013%20%20Erdelyi.pdf>

Fürst Nikolett(2014) Koffein tartalmú italok hatása tenyésztett C2C12 vázizomsejtire, Nyugat-Magyarországi Egyetem Savaria Egyetemi Központ, Szakdolgozat

Grósz A., Szatmári Á.: Az energiaiitalok története és hatása az emberi szervezetre. *Orvosi Hetilap*, 149. évfolyam 2008/47, 2237-2244.

Guarana: <http://hu.wikipedia.org/wiki/Guarana>

Gyógyszertan, Knoll J, Medicina Könyvkiadó Rt, Budapest, 1995

Hajtó Dorottya, Molnár Péter : Oxidatív stressz hatása vázizomsejtekre  
<http://www.pminfonet.com/pmmain/Hajto%202014.pdf>

Hasimoto , Takashi, Zhiwei He, Wei-Ya Ma, Patricia C. Schmid, Ann M. Bode, Chung S. Yang, Zigang Dong (2004), Caffeine Inhibit Cell Proliferation by G0/G1 Phase Arrest in JB6 Cells, *Cancer Research* 64, 3344-3349

Higdon J. et al (2006). Coffee and health: a review of recent human research. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 46(2):101-23

Kátai Csilla (2007). A kávé és kultúrájának története. *Kaleidoscope Művelődés-, Tudomány- és Orvostörténeti Folyóirat*, Vol. 3.No.4 ISSN: 2062-2597.  
<http://www.kaleidoscopehistory.hu/index.php?subpage=cikk&cikkid=103>

Kávé: <http://hu.wikipedia.org/wiki/K%C3%A1v%C3%A9>,

Kávé

2:

[http://hu.wikipedia.org/wiki/K%C3%A1v%C3%A9\\_%28n%C3%B6v%C3%A9nynemzets%C3%A9g%29](http://hu.wikipedia.org/wiki/K%C3%A1v%C3%A9_%28n%C3%B6v%C3%A9nynemzets%C3%A9g%29)

Kávé története : <http://kave.merillo.hu/kave-tortenete-hagyomany/>

Kávé hatása: <http://www.bioboltos.hu/a-kave-es-a-tudomany-elettani-hatasok>

Koffein: <http://hu.wikipedia.org/wiki/Koffein>

Lakatos Renáta, Molnár Péter: Caffeine hatása vázizomsejtek differenciációjára. Természet-, Műszaki- és Gazdaságtudományok Alkalmazása 13. Nemzetközi Konferencia, Szombathely 2014. május17.

Lakatos Renáta, Péter Molnár: Cell Cultures in Pharmacological and Toxicological Research. (2014) A Nyugat-magyarországi Egyetem Savaria Egyetemi Központ tudományos közleményei. ISSN: 2061-8336.

LEVY, G., TAPSELL, L.: Shifts in purchasing patterns of non-alcoholic, water-based beverages in Australia, 1997-2006. Nutrition & Dietetics, Vol. 64., No. 4., December 2007, 268-279

Liang, Yu-Chih, Shoei-Yn Lin-shiau, Chieh-Fu Chen, and Jen-Kun Lin( 1997) Suppression of Extracellular Signals and Cell Proliferation Through EGF Receptor Binding by (2)- Epigallocatechin Galleate in Human A431 Epidemoid Cercinoma Cells, Journal of cellular Biochemistry 67:55-65

MUCIGNAT-CARETTA, C.: Changes in female cognitive performance after energetic drink consumption: a preliminary study. Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry. Vol. 22., No. 6., August 1998, 1035-1042

Műszeroldal: <http://www.muszeroldal.hu/measurenotes/sejttenyesztes.pdf> Sejttenyésztési alapismeretek

Oláh T, Fodor J, Ruzsnavszky O, Vincze J, Berbey C, Allard B, Csernoch L: Cell Calcium. 2011 Jun;49(6):415-25.

REYNER, L.A., HORNE, J.A.: Efficacy of a functional energy drink in counteracting driver sleepiness. Physiology and behaviour, Vol. 75., No. 3., March 2002, 331-335

Riberio, J.A., and Sebastiano, A.M(2010). Caffein and adenosine. Journal of Alzheimer's Disease: JAD,20 Suppl 1, 67:55-65

Sawyer,Deborah A., Harry L. Julia, Alan C. Turin(1982)Caffein and Human Behavior: Arousal,Anxiety and Performance effects, Journal of Behavior Medicine, Vol.5, No.4

SMIT, H.J., COTTON, J.R., HUGHES, S.C., ROGERS, P.J.: Mood and cognitive performance effects of „energy” drink constituents: caffeine, glucose and carbonation. Nutritional Neuroscience, Vol. 7., No. 3., June 2004, 127-139

SOTE: [http://sotepedia.hu/\\_media/aok/targyak/immun\\_5hetsejttenyesztesdoc\\_1\\_.doc](http://sotepedia.hu/_media/aok/targyak/immun_5hetsejttenyesztesdoc_1_.doc)

Statisztika: [http://www.agr.unideb.hu/~balogh/PhD%20anyagok/parameteres\\_elmelet.pdf](http://www.agr.unideb.hu/~balogh/PhD%20anyagok/parameteres_elmelet.pdf)

Suzuki H., G.D.S. Hirst (1999) Regenerative potentials evoked in circular smooth muscle of the antral region of guinea-pig stomach, *Journal of Physiology*, 517.2, pp. 563-573

Szatmári Á. és Grósz A.: Az energiaital-fogyasztás repülő orvosi vonatkozásai 2012 Repüléstudományi konferencia  
[http://www.szrfk.hu/rtk/kulonszamok/2012\\_cikkek/55\\_Grosz\\_AndorSzatmari\\_Akos.pdf](http://www.szrfk.hu/rtk/kulonszamok/2012_cikkek/55_Grosz_AndorSzatmari_Akos.pdf)

Tarnopolsky, Mark and Cynthia Cupido (2000) Caffeine potentials low frequency skeletal muscle force in habitual and nonhabitual caffeine consumers, *J Appl Physiol* 89:1719-1724

Yaffe D, Saxel O: *Nature*. 1977 Dec 22-29;270(5639):725-7.

## NYILATKOZAT

Alulírott (név) Pungor Szimonetta (Neptunkód:IZZGJY) jelen nyilatkozat aláírásával kijelentem, hogy a

Kávé és energiatalok káros hatásai *in vitro* környezetben  
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, 2015.04.30.

.....  
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.