

NYUGAT-MAGYARORSZÁGI EGYETEM
MEZŐGAZDASÁG- ÉS ÉLELMISZERTUDOMÁNYI KAR
BIOLÓGIAI RENDSZEREK MŰSZAKI INTÉZETE

„Precíziós Növénytermesztési Módszerek” Alkalmazott
Növénytudományi Doktori Iskola

Doktori Iskola-vezető:

Prof. Dr. Neményi Miklós, MTA levelező tagja

Tudományos vezetők:

Prof. Dr. Érsek Tibor, DSc, egyetemi tanár

Prof. Dr. Neményi Miklós, MTA levelező tagja

**A MIKROHULLÁM HATÁSA A PÉKÉLESZTŐRE
(*SACCHAROMYCES CEREVISIAERE*)**

Készítette:

SZERENCSI ÁGNES

Mosonmagyaróvár
2011

A MIKROHULLÁM HATÁSA A *SACHAROMYCES CEREVISIAE*-re

Értekezés doktori (PhD) fokozat elnyerése érdekében

Készült a Nyugat-magyarországi Egyetem „Precíziós Növénytermesztési

Módszerek Alkalmazott Növénytudományi Doktori Iskola”

Termőhelyspecifikus precíziós növénytermesztés műszaki

feltételrendszere alprogramja keretében

Írta: Szerencsi Ágnes

Témavezetők: Prof. Dr. Érsek Tibor, DSc és Prof. Dr. Neményi Miklós,

MTA levelező tagja

Elfogadásra javaslom (igen / nem)
(alíírás)

A jelölt a doktori szigorlaton % -ot ért el,

Sopron/Mosonmagyaróvár
a Szigorlati Bizottság elnöke

Az értekezést bírálóként elfogadásra javaslom (igen /nem)

Első bíráló (Dr.) igen /nem

Második bíráló (Dr.) igen /nem

Esetleg harmadik bíráló (Dr.) igen /nem

A jelölt az értekezés nyilvános vitáján% - ot ért el.

Sopron/Mosonmagyaróvár
a Bírálóbizottság elnöke

A doktori (PhD) oklevél minősítése

.....
Az EDT elnöke

TARTALOMJEGYZÉK

| | |
|--|----|
| Tartalomjegyzék..... | 1 |
| Kivonat | 2 |
| Abstract | 3 |
| 1. Bevezetés, Célkitűzés | 4 |
| 1.1. Bevezetés | 4 |
| 1.2. Célkitűzések | 6 |
| 2. Irodalmi áttekintés | 7 |
| 2.1. A nemionizáló elektromágneses (EM) és rádiófrekvenciás (RF) sugárzás | 7 |
| 2.1.1. A mikrohullám | 9 |
| 2.1.2. A mikrohullám biológiai hatása | 12 |
| 2.1.3. A mikrohullám hatása vizes közegekre..... | 19 |
| 2.2. A pékélesztő (<i>Saccharomyces cerevisiae</i>) főbb tulajdonságai | 21 |
| 2.3. Antibakteriális antibiotikumok jellemzése..... | 28 |
| 2.4. Antifungális antibiotikumok jellemzése..... | 32 |
| 3. Anyag és módszer | 33 |
| 3.1. A pékélesztő besugárzásának vizsgálata | 33 |
| 3.1.1. Mikroorganizmus, törzstenyészet..... | 33 |
| 3.1.2. A kísérleti sejtrendszer kialakítása | 34 |
| 3.1.3. Konstans hőmérsékletű mikrohullámú besugárzási protokoll | 37 |
| 3.2. A vizes közeg besugárzásának vizsgálata | 42 |
| 3.2.1. A víztartalmú folyadékminták mikrohullámú besugárzása | 43 |
| 3.2.2. Elektrolízises vizsgálat | 44 |
| 4. Eredmények..... | 47 |
| 4.1. A 2,45 GHz mikrohullám hatása az élesztőgombára | 47 |
| 4.2. A 2,45 GHz mikrohullám hatása a vízre | 60 |
| 5. Eredmények megvitatása..... | 64 |
| 6. Összefoglalás..... | 75 |
| 7. Új tudományos eredmények..... | 78 |
| 8. Köszönetnyilvánítás | 80 |
| 9. Irodalomjegyzék..... | 81 |

KIVONAT

A 2,4 GHz frekvenciájú mikrohullám biológiai hatásának kutatása során a szerző vizsgálta a besugárzás pékélesztőre (*Saccharomyces cerevisiae*), valamint a biológiai médiumokat és enzimidatokat alkotó vízre történő hatását. Az alkalmazott, optimalizált besugárzás nem változtatta meg az élesztőtenyészet normál fiziológiás növekedését. Megállapítható, hogy a 2,4 GHz frekvenciájú mikrohullám az élesztő sejtmembránjának permeabilitását a besugárzás ideje alatt reverzibilisen és tranziensen növelni képes, vagyis e folyamatokra biológiai értelemben vett hatás érvényesül. Ismertetésre kerül, hogy a talált jelenség detektálására az antibakteriális kloramfenikol, gentamicin és neomicin antibiotikumok riportertermolekulákként alkalmazhatók. Kimutatható, hogy a mikrohullám a vizes közegben változást képes előidézni. A kifejlesztett rendszer önmagában alkalmas eszköz a mikrohullámú sugárzás biológiai hatásainak vizsgálatára.

ABSTRACT

The effect of 2,4 GHz microwave irradiation was examined on baker's yeast (*Saccharomyces cerevisiae* M26 strain) and on water, which is present in all aqueous media and enzyme solutions. The applied optimized irradiation protocol did not alter the normal physiological growth of the yeast cultures. In the course of the irradiation, a transitory and reversible change take place in plasma membrane permeability of *Saccharomyces cerevisiae* M26 cells. We can claim that in this process the biological effect of microwave does exist. The observed phenomenon can be detected with antibiotics: chloramphenicol, gentamicin and neomycin used as reporter molecules. It was detected that microwave induces changes in irradiated water. The applied experimental system is an appropriate tool for researching biological effects of radiofrequency electromagnetic irradiation.

1. BEVEZETÉS, CÉLKITŰZÉS

1.1. Bevezetés

Az utóbbi évtizedekben gyorsan nő az elektromágneses, így a mikrohullámú sugárzást kibocsátó berendezések használata mind ipari, mind lakossági körökben. A sugárzás különböző hatásainak alapkutatása nehezen tud lépést tartani a nagymértékű hétköznapi gyakorlati alkalmazáskor felmerülő potenciális hatásokkal.

A Biológiai Rendszerek Műszaki Intézetében régóta kutatás tárgyát képezi a különböző besugárzási módszerek biológiai anyagokon történő vizsgálata, melynek során a besugárzott anyagban lejátszódó fizikai és biológiai hatások meghatározását végzik (Neményi és mtsai, 2003). Megállapították, hogy a mikrohullám hatása nem homogén módon érvényesül, hanem a besugárzott anyagban eltérő mértékű felmelegedés és nagy hőeloszlásbeli különbségek tapasztalhatók. A mikrohullám használatával lehetőség nyílt például az ipari élesztő hatékonyabb szárítási eljárásának megvalósítására. A mikrohullám és a konvektív szárítócsatornás eljárás kombinált alkalmazásával csökkenthető az élesztő szárítási ideje, miközben életképessége jobban megőrizhető (Berecz, 1999). A mikrohullámmal kombinált eljárás a tejsír meghatározási módszer pontosításához vezetett; a nyers- és fogyasztói tej zsírtartama így két század pontossággal meghatározható (Lakatos, 2006; Neményi és mtsai, 2006). A mikrohullám hatására egyes biokémiai folyamatok fokozhatók. A besugárzás hatására a cellobiáz enzim aktivitása 25%-kal növelhető (Lakatos, 2009; Lakatos és mtsai, 2009). Ennek alapján feltételezik, hogy a mikrohullám hatással bír a

vizes közegre, amely az enzimoldat, illetve az élesztőtényészetek tápoldatának is meghatározó alkotója.

Az elektromágneses sugárzás különböző tartományainak egyre jobban nő a felhasználhatósága. Az alap kutatás fontos feladata a sugárzások hatásainak felderítése.

A mikrohullám megismeréséhez Percy Spencer, amerikai mérnök 1946-ban bekövetkezett véletlen felfedezése vezetett. A Raytheon cégnél radarberendezésekhez magnetronok kifejlesztésén dolgozva vette észre, hogy a mikrohullám mellékesen hőközlésre is képes. Ennek köszönhetően alkalmazhatunk melegítésre mikrohullámú készülékeket mindennapjaink háztartásában. A gyakorlatban alkalmazott és engedélyezett frekvenciáknak és a lakosság számára forgalomban lévő készülékeknek folyamatosan új hatásai fedezhetők fel, például új biológiai jelenségek megismerése révén. Ezek lehetnek az életminőséget javító új módszerek és létesítmények, gyógyászati és élelmiszeripari technológiák, de a kellő ismeret hiánya egyben kockázat és veszélyforrás is.

Biológiai hatás akkor jelentkezik, amikor az elektromágneses tér hatására sejtszinten biofizikai és biokémiai válasz jön létre. Ezt az élő szervezet vagy érzékeli, vagy nem. Több kutatási eredmény szerint a kis térrejelű elektromos jel hatással van a sejtmembránra, mert azon elektrokémiai kölcsönhatásokat indukál (Panagopoulos és mtsai, 2002). Ezek a sejt belsejébe az intracelluláris térbe transzdukálódva az ott zajló biokémiai folyamatokat úgy befolyásolhatják, hogy a sejt működésében változás következhet be (Banik és mtsai, 2002).

1.2. Célkitűzések

Kutatásaink célja a 2,45 GHz frekvenciájú mikrohullámú besugárzás pékélesztő (*Saccharomyces cerevisiae*) sejtjeire, mindenekelőtt a sejtmembránra gyakorolt hatásának, illetve a vízre, mint a folyékony biológiai médiumok nélkülözhetetlen alkotórészére történő hatásának vizsgálata. Kutatásainkat abban a reményben végeztük, hogy célkitűzéseink megvalósulásával hozzájárulhatunk a mikrohullámú sugárzással foglalkozó alapkutatás jelenlegi ismeretanyagának bővítéséhez. Vizsgálatainkkal az alábbi kérdésekre kerestük a választ:

- Hatással van-e a 2,45 GHz frekvenciájú 37 °C konstans hőmérsékletű besugárzás a *Saccharomyces cerevisiae*, és esetében kimutatható-e ún. biológiai hatás?
- Milyen változások következnek be az élesztő sejtmembránján, amely az élő sejt transzportfolyamatainak alapvető szabályozója?
- Miben rejlik a 2,45 GHz frekvenciájú folyamatos mikrohullámú besugárzás vizes közegre kifejtett hatása, ill. milyen jellegű változások mennek végbe?

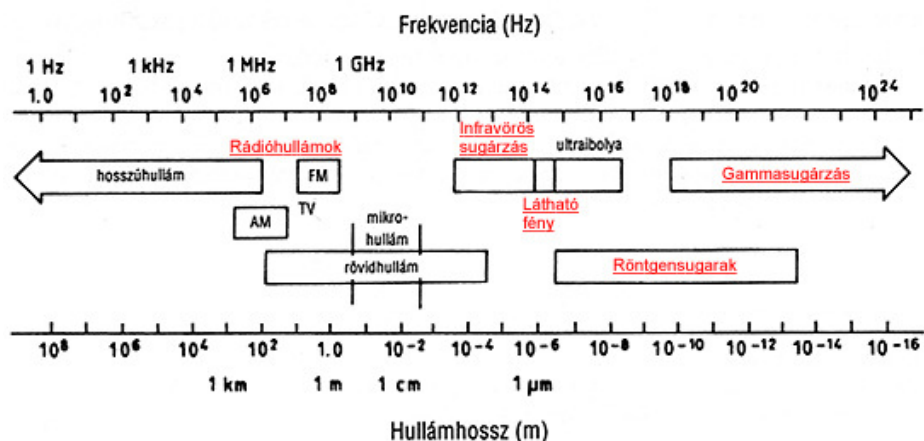
2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS

2.1. *A nemionizáló elektromágneses (EM) és rádiófrekvenciás (RF) sugárzás*

A mesterséges nemionizáló sugárforrások száma és kisugárzott teljesítménye hatalmas mértékben megnövekedett az elmúlt évtizedekben. Mindennapjaink részévé vált az olyan készülékek széles körű alkalmazása, melyek különböző hullámhosszúságú elektromágneses sugárzást bocsátanak ki. Ezek használatának engedélyezése a WHO (*World Health Organization*), az ICNIRP (*International Commission on Non-Ionizing Radiation Protection*) és a Directive 2004/40/EC of the European Parliament and of the Council of 29 April irányelvei szerint történik. A lehetséges ártalmas és kedvező hatásai tanulmányozása előtérbe került.

A nemionizáló sugárzások a teljes elektromágneses spektrum azon részei, melyek energiája nem elegendő ahhoz, hogy ionokat képezzenek. Schiffmann (1979) kifejtette, hogy ez a sugárzás intramolekuláris és intermolekuláris kémiai kötés felhasítására nem képes, azaz nem ionizál, hanem a molekulák mozgását változtatja. A nemionizáló elektromágneses (EM) sugárzások hullámhossza 100 nm és a végtelen közt van, energiája 12,4 eV-nál kisebb. Ide tartoznak az optikai sugárzások, a nagyfrekvenciás mikrohullámú (MH) és rádiófrekvenciás (RF) sugárzások, az alacsony frekvenciájú, valamint a statikus elektromos és mágneses terek (1. ábra). Az optikai sugárzásokhoz sorolható az ultraibolya sugárzás, a látható fény és az infravörös sugárzás. A rádiófrekvenciás sugárzás (RF) az elektromágneses sugárzásnak azon frekvenciái, amelyeken

telekommunikációs készülékeket működtetnek. Ilyenek a vezetékes telefonok, mobil készülékek, internet, WiFi, rádió, radarsugárzás stb. A radarsugárzás a légi-, vízi-, és űrközlekedés navigálását, a távközlést és a meteorológiát szolgálja. A rádióadók az alacsonyabb frekvenciasávokat használják.



1. ábra Az elektromágneses sugárzások fajtái

A magasabb frekvenciatarományokban a sugárzások ionizáló hatással rendelkeznek, radioaktívak lehetnek, nukleáris reakciókat képesek kiváltani, így a molekulák szerkezetében képesek változást okozni. Ennek részei a közismert röntgen-, illetve a gamma- és kozmikus sugárzás. Kiemelt jelentőségűek, mert nagy energiájuk és nagy penetrálóképességük miatt az élő szövetek sejtjeit károsítják, nagyobb dózisban pedig genetikai mutációkat okoznak.

Egy teljesen más kategóriába tartozik a mikrohullámú frekvenciataromány, illetve az azalatti EM sugárzások, melyek nemionizáló jellegűek. A mikrohullám energiája 300 GHz-nél $1,24 \times 10^{-3}$ eV, ami nem magas érték. A nemionizáló sugárzások hatása ezért más természetű. Alacsonyabb frekvenciájuk és kisebb energiájuk miatt kevésbé károsítanak. A behatáskor reverzibilis folyamatokat

feltételeznek (Orlando és mtsai, 2009). A sugárforrások egy része mesterséges, másik része természetes. A Föld, Nap, az atmoszféra természetes elektromos és mágneses tereiben az ember évezredek óta él. A látható fény és hősugárzás ráadásul nélkülözhetetlen az életfolyamatokhoz. A mesterséges sugárzások más kategóriába tartoznak, mert azokat különböző berendezések keltik nagy mértékű elektromágneses sugárzás kibocsájtása révén.

Egymásnak ellentmondó eredmények és értelmezések szerepelnek a szakirodalomban a nemionizáló elektromágneses rádiófrekvenciás sugárzás biológiai hatásait, veszélyes jellegét és a különböző felhasználási területeken tapasztalható technológiai előnyeit illetően. A hatások kutatására alkalmazott frekvencia, valamint teljesítmény és kezelési időtartam az egyes publikációkban nagyon változó. (Geveke and Brunkhorst, 2003; Grundler és mtsai, 1977; Kim és mtsai, 1985). Fontos felhívni a figyelmet arra, hogy a közhasználatban lévő mikrohullámú és más készülékek az elektromágneses sugárzás kibocsátása révén olyan hatásokat fejtenek ki a közvetlen biológiai környezetükre, amelyek még nem ismertek, felderítetlenek. A hatások kutatása ezért mindenképpen szükségzerű.

2.1.1. A mikrohullám

A mikrohullámú sugárzás (MH) a nemionizáló sugárzásokon belül az elektromágneses spektrum ama része, melynek frekvencia-, ill. hullámhossztartománya 300 MHz–300 GHz, 1 m–1 mm között van (Almássy, 1982; Mátay és Zombory, 2000; Schubert és Regier, 2005). Ez a közepes és a magas frekvenciasávoknak felel meg. Megjegyzendő, hogy az egyes tudományágaknak megfelelően a határok az infravörös fény, a terahertzes sugárzás, a mikrohullámok és UHF rádióhullámok

között eléggé szabadon értelmezettek . Egy hitelesnek tekintett definíció D.M. Pozartól ered, aki szerint mikrohullámúnak tekinthető az a sugárzás, amely „300 MHz ($3 \cdot 10^8$ Hz) és 300 GHz ($3 \cdot 10^{11}$ Hz) közti váltakozó feszültségű jeleket ír le.” A mikrohullámú tartomány a következőképpen osztható fel:

- ultramagas frekvencia: ultra-high frequency (UHF) (0,3–3 GHz),
- szupermagas frekvencia: super high frequency (SHF) (3–30 GHz),
- extrém magas frekvencia: extremely high frequency (EHF) (30–300 GHz) jelek.

A mikrohullámú sugárzások kiemelt felhasználási területei a radarberendezések, a mobiltelefonhálózat és a háztartásokban egyre inkább elterjedő mikrohullámú sütők. A gyakorlatban a háztartási, kutatási célú, valamint ipari mikrohullámú berendezések működtetéséhez 915 MHz – 2,45 GHz frekvenciasávot szabtak meg. A háztartási mikrohullámú készülék által keltett frekvencia 2,45 GHz. Ezt használják fel hevítésre és emellett roncsolásra, szárításra, laboratóriumi sterilizációra és más félszintetikus folyamatokhoz is (D’Ovidio és mtsai, 2007; Ferreira és Glass, 1996; Pallai és mtsai, 2001; Saifuddin és mtsai, 2009).

A mikrohullámú sütőkben a sugárzást a magnetron mikrohullámú generátor bocsájtja ki úgy, hogy az egyenáramot mikrohullámú energiává alakítja. A Spencer (1946) által felfedezett mikrohullám közismert hatása, hogy felmelegíti a besugárzott anyagot. A hagyományos hőközléstől eltérően a mikrohullámú kezeléskor a besugárzott anyag teljes térfogatában zajlanak a hő- és fizikokémiai folyamatok. Ez és a mindennapi tapasztalataink is alátámasztják, hogy

az élelmiszerek mikrohullámú melegítéséhez jóval rövidebb idő szükséges, mintha melegítésüket hagyományos módon elektromos vagy gáztűzhelyen végeznénk. Mikrohullámú melegítéskor az elektromos erőterben a dielektromos tulajdonsággal bíró különböző anyagok forgó és rezgő mozgásaikkal más-más sebességgel követik a váltakozó áramot. A szerves, szervesetlen és biológiai anyagok relatív dielektromos állandója alapvetően a nedvességtartalomtól, az ionösszetételtől és az alkotóelemek fajhőjétől függ (Szabó, 1990). Lakatos (2006) felhívta a figyelmet arra, hogy előnyös tulajdonságai ellenére a mikrohullámú melegítést még nem nagy biztonsággal használják az élelmiszeriparban, valamint más iparágakban. Ennek oka, hogy keveset tudunk az egyes frekvenciák hatásairól, a heterogén váltakozó elektromos erőteréről és az élelmiszerek dielektromos jellemzőiről (Géczi és Sembery, 2005). A technikai paraméterek megváltozása, adott készülék nem rendeltetésszerű vagy túlzott használata, az ajtókeret deformálódása fokozott veszélyt jelent (Thuróczy és Bakos, 2002). A mikrohullámú energiaközlés lehet folyamatos, megszakításos vagy hősokkot kiváltó. Egy adott készülék maximális teljesítményleadásának időbeli modulálásával érhető el a kívánt teljesítmény.

A mikrohullámú sugárzás biológiai hatásai a hőmérséklet szempontjából a következők lehetnek:

- termikus hatás (thermal effect): olyan hőmérsékletemelkedéssel járó expozíció (2–8 W/g felett), amely 1 °C-nál nagyobb hőmérséklet-emelkedést okozhat, a besugárzott biológiai objektum termoregulációja ellenére.
- nemtermikus (non-thermal effect): nincs hőmérséklet-emelkedés, tehát biológiai objektumnak nem kell kompenzálni

termoregulációs mechanizmusával a besugárzás hőhatását (0,5 W/g alatt) (Thuróczy és Bakos, 2002).

2.1.2. *A mikrohullám biológiai hatása*

Egyre nagyobb az érdeklődés a mikrohullámú (MH) rádiófrekvenciás (RF) elektromágneses (EM) sugárzás biológiai objektumokra gyakorolt hatása iránt (Banik és mtsai, 2003; Belyaev, 2005). Az elektromágneses sugárzásnak egészséget veszélyeztető hatásai lehetnek, melyek kevésbé ismertek. Ezek kiemelkedően fontosak és szigorú szabályozás alatt állnak (EC Directive, 2004; ICNIRP, 1998). A mikrohullámú sugárzásnak fizikai, fizikokémiai és biológiai hatásai vannak. Biológiai hatás akkor jelentkezik, amikor az elektromágneses tér hatására sejtszinten zajló biofizikai és biokémiai válasz jön létre, melyben a sejthártya is érintett. A kis térerejű elektromos jel hatással van a sejtmembránra, mert azon elektrokémiai kölcsönhatásokat indukál (Panagopoulos és mtsai, 2002). Ezek a sejt belsejébe az intracelluláris térbe transzdukálódva az ott zajló biokémiai folyamatokat úgy befolyásolhatják, hogy a sejt működésében változás következhet be (Banik és mtsai, 2002). Ezt az élő szervezet vagy érzékeli, vagy nem.

A biológiai hatásra vonatkozó korai ismeretanyag a MH és RF sugárzások hőhatásáról szól. Ezek közé tartozott az ideiglenes nemzőképesség-csökkenés, szürkehályog-képződés. A mobiltelefonozás rendkívül széles körű elterjedése elkerülhetetlenül szabta meg a vizsgálódás irányát. Mind a mai napig nincs konkluzív vélemény arra, hogy a mobiltelefon ártalmas-e a felhasználó személyre. Az eddig működő rádiótelefon-hálózatok a 420 MHz – 1,8 GHz-ig terjedő diszkrét hullámokat használják. A sugárforrás fizikai elhelyezkedése és távolsága a szervezet célterületeitől meghatározó jelentőségű.

Amennyiben közel van, akkor nagy az elnyelődés (Thuróczy és Bakos, 2002). Az agysejtek plazmamembránján a besugárzás nemkívánatos hatásokat okozhat. A biológiai hatások kérdéskörében első helyen a mutagén genotoxikus hatások vizsgálata áll. A hatások kutatása elsősorban a daganatkiváltó hatás irányába történik. Ezen a területen kézenfekvő a DNS bázisszekvenciájának megváltozását okozó hatások kimutatása. A kísérleti adatok ebben a témában nem szolgáltatnak konzekvens eredményt (Chou és mtsai, 1992; Ciurlicá és mtsai, 2007; Lai és Singh, 1996; Malyapa és mtsai, 1997). Ennek oka az egyes vizsgálati körülmények eltérő volta, a besugárzási paraméterek nem összevethető mértéke. Az emberi szervezetet érintő hatásokról információt adekvát epidemiológiai adatok alapján kaphatunk. Adott populációra érvényes, évtizedek alatt gyűjtött megbetegedési (morbidity) és halálozási (mortality) mutatók adhatnak kielégítő választ (Goldsmith, 1995; Parazzini és mtsai, 2007; Rothman, 1996; Verschaeve, 1996). A humán hatások mérésére fantomokat használnak. Ezek imitálják az emberi test morfológiai és anatómiai szerkezetét, fizikai felépítését (víztartalom, szárazanyag tartalom). Méri a fantom hőmérséklet-emelkedését, illetve meghatározzák annak egészségügyi és hőmérsékleti határértékeit (Thuróczy és Bakos, 2002). Az irányított besugárzásos vizsgálatok során az adott kísérleti modellszervezetek, szervek, sejtszervezetek lokalizált besugárzása során fellépő hatásokat mérik. A sugárzás hőhatását a gyógyításban hamar használni kezdték. Így a nagyfrekvenciás sugárforrásokat diatermiás készülék segítségével az orvostudomány felhasználja a fizioterápiában (Mátay és Zombory, 2000). A termikus hatások tehát elég jól ismertek, ami kevésbé ismert, az a nemtermikus hatás.

A biológiai rendszerekben a mikrohullámú sugárzás termikus és nemtermikus hatásának elsődleges célpontjai a vízmolekulák, az ionos töltéssel rendelkező vegyületek és a dipólusos makromolekulák (Banik és mtsai, 2003). Az élő szervezetekben a mikrohullám fizikai-kémiai hatást vált ki az ionokra azok töltése miatt, a dipólusos tulajdonsággal rendelkező mikro- és makromolekulákra azok inhomogén töltéseloszlása miatt, valamint az egyes sejtek közötti kommunikációra az elektrokémiai potenciálgrádiensben történő folyamatos változás miatt. A nemionizáló sugárzások biológiai hatása – más fizikai ágensekhez hasonló módon – összefügg a sejtekben a biológiai anyagot alkotó molekulákban elnyelt energiával. Bár a sugárzás energiája nem elég a molekulák szerkezeti széttörésére, felszíni töltésvizonyaik, illetve a molekulák külső elektronfelhőjének alakjai módosulhatnak (Banik és mtsai, 2003). Ezen terek sejt-, sejtorganellum-, illetve makromolekuláris szintű biológiai hatásai megnyilvánulhatnak a sejteket határoló plazmamembránok szerkezetének és funkcióinak módosulásaiban, illetve olyan jelátviteli folyamatok reverzibilis és irreverzibilis változásában, melyek helyszíne a sejtmag és a különféle membránrendszerek.

A mikrohullám hatása a sejtekre: A mikrohullám mikroorganizmusokra és más sejtípusokra gyakorolt hatása sokféle és nagyon különböző. Pusztító, sterilizáló hatása az orvostudományban, a különböző laboratóriumi eljárásokban és az iparban hasznosítható. Változtathatja a sejt és a genom szerkezetét, illetve lehet élettartamot és szaporodást megváltoztató, valamint anyagcsere-módosító hatása. Mindez ablakjelenség formájában jelentkezik, tehát például az élesztő vagy más mikroorganizmusok mikrohullámú besugárzásakor bizonyos frekvencia-, teljesítmény-, és expozíciós idő értékeknél a sejtek,

makromolekulák között erősek a kölcsönhatások, ezen értékeken kívül nincs kölcsönhatás. Ezt támasztja alá, hogy diploid, vad típusú *Saccharomyces cerevisiae* élesztőtörzsön 41.8–42.0 GHz frekvenciatartományban legfeljebb 15%-os növekedés- és legfeljebb 29%-os sejtszámcsökkenést mértek (Grundler és mtsai, 1977). A 2–12,4 GHz-es frekvenciasávban 100 MHz-es léptékben besugárzott pékélesztő növekedési maximuma értéke 2,1 és 5 GHz közé tehető Thourel és mtsai (1975) kutatásai alapján. Crouizer és mtsai (2009) a mikrohullám 9,71 GHz-es pulzáltatott mezőjű elektromágneses sugárzás élesztősejtekre gyakorolt hatását kutatják, eredményeik szerint a sejten belüli organelumokban a szabadgyökök termelése megnő, az élesztősejtek vitalitása azonban nem változik. Egyes esetekben a besugárzás serkenthet különböző fiziológiai folyamatokat, befolyásolhatja a sejtciklust, módosíthatja a sejtszaporodást. A kukoricánövény sejtjeiben például a különböző besugárzási időtartamoktól függően változott a fotoszintetikus pigmentek száma (Ursache és mtsai, 2007). A mikrohullám nem befolyásolja a *S. cerevisiae* UV által indukált mutagenézisét, de a sejtek DNS-rekombinációját gyorsíthatja. Diploid D7 *S. cerevisiae* törzset kezeltek 61,02–61,42 GHz frekvenciájú 0,13 mW cm² mikrohullámmal 30 percig, majd UV-sugárzással 60 percig. Az UV-sugárzás indukálta mutagenézis a kezelés hatására nem befolyásolható, az élesztősejtek rekombinációs folyamata azonban elősegíthető (Pakhomova és mtsai, 1997). Azonos besugárzási protokoll hatással van az *E. coli* tenyészetek logaritmikus, illetve stacioner növekedési szaporodási szakaszára. A mikrohullámra a sejtek denzitásuk függvényében reagáltak, ami sejt–sejt kommunikációra utal. Az egyedi sejtekhez képest a sejtszuspenzió hatékonyabban reagál az

elektromágneses mezőre, feltehetően az intercelluláris kommunikáció miatt (Shcheglov és mtsai, 2002).

A mikrohullám hatása a sejtmembránra: A sugárzásnak a sejtmembrán szerkezetében és működésében okozott lehetséges hatásait napjainkig vizsgálják. Kezdetben a sejtmembránban lévő kalciumion csatornák működését vizsgálták, a rajtuk ki- és beáramló Ca^{2+} ionokat mérték. A Ca^{2+} kulcsfontosságú az agyszövet élettani folyamatai szempontjából, így ennek az EM-tér hatására bekövetkező változása összefügg az agyi funkcióban és metabolizmusban mért változásokkal. Az eredmények szerint az amplitúdómodulált RF és mikrohullámú tér növeli a Ca^{2+} kiáramlását (Blackmann és Blanchard, 1994; Repacholi, 1998). Az akut hőhatással járó mikrohullámú besugárzás növeli az olyan vegyületek bejutását az agyszövetbe, melyek normálisan működő vér–agy–gáton keresztül nem jutnának át (Thuróczy és Bakos, 2002). Ez arra utal, hogy a normál körülmények között gátló és védő funkcióval bíró vér–agy gát működése megváltozhat. Ez összefüggésben van a permeabilitásváltozás lokális agyi keringésmetabolizmus változásával és a hőmérséklettel is (Fritze és Sommer, 1997; Lin és mtsai, 1998). A 2,45 GHz-es mikrohullámú besugárzás hatásaként egyrétegű liposzómák p-nitrofenil-acetát felvételét vizsgálták. A liposzómába épített szénsavanhidráz enzim szubsztrátuma a liposzómán kívüli térben lévő p-nitrofenil-acetát molekula, melyből abban az esetben szabadul fel hidrolízis útján p-nitrofenil, ha bejut a liposzómába. Az alkalmazott besugárzás növelte a p-nitrofenil-acetát felvételét, miközben nem változtatta meg a liposzómastruktúra integritását (Orlando és mtsai, 1994). A foszfátidilkolin- liposzómába épített 5(6)-karbofluoreszcein marker besugárzás hatására a liposzómából kiszabadulva fluoreszkálva

jelezte az áteresztőképesség növekedését. Mivel ez hagyományos melegítés esetén elmaradt, a jelenség nemtermikus hatásának tulajdonítható (Saalman és mtsai, 1991). Mesterséges, kettős rétegű lipidmembránba épített gramicidin-A proteincsatornák dimerizációja 10 GHz frekvenciájú, pulzáló besugárzás hatására az elvárttal szemben a hőmérséklet és az expozíciós idő növelésével csökkent, amit szintén a mikrohullám nemtermikus hatásával magyaráznak (Sandblom és Theander, 1991). Mitokondriumok respirációs aktivitásában és membránjuk integritásában a besugárzás ideje alatt átmenetileg fellépő (tranziens) változást állapítottak meg (Dutton és mtsai, 1984). A 2,45 GHz frekvenciájú besugárzás hatására a hőmérséklet emelkedésétől és a sejtciklus állapotától független irreverzibilis hatást, csökkent sejtszaporodást tapasztaltak (Ottenbreit és mtsai, 1981). Megállapították, hogy a hőmérséklet jelentős tényező a sejthártya mikrohullám hatására bekövetkező funkcionális és strukturális változásában (Liburdy és Penn, 1984). Ennek oka, hogy a sejthártya fluiditása a besugárzáskor a hőmérséklet emelkedésével változik (Martin és mtsai, 2009; Phelan és mtsai, 1992). Sajin és munkatársai (2000) abból következtettek a besugárzott humán eritrocita-sejtmembrán tranziens és reverzibilis permeabilitásnövekedésére, hogy az eritrociták hemoglobinvészése nem a sejt lízise útján, hanem a membránon képződő mikropórusokon keresztül történt. Valószínűsíthető, hogy később a természetes védőmechanizmusok *in situ* javítják a sérült membránt. Ezzel ellentétben a humán T-limfociták és az *Escherichia coli* baktérium mutáns sejteinek besugárzásos vizsgálatainak során nem tapasztaltak sejtmembránt érintő hatást (Guven és mtsai, 2006; Pennequin és mtsai, 2000). A mikrohullám hatását élettelen szöveti sejtek festési eljárásainál is

felhasználják (Van Ginneken és mtsai, 1999). A szövetek festődése két lépésben történik: az első lépésben a festék diffundál a sejtbe a plazmamembránon keresztül, a második lépésben pedig az intercelluláris térben kötődik a szubsztrátumhoz. A diffúzió fizikai folyamat, amit a mikrohullám nagy mértékben képes gyorsítani. A szubsztrátumhoz való kötődés fizikokémiai folyamat, ezért a mikrohullám szerepe e tekintetben sok tényezőtől függ. Mindenesetre a mikroszkopizáláshoz használt festési eljárások ideje ezáltal rövidíthető, ami az orvosi gyakorlatban gyorsabb diagnózist tesz lehetővé. A hisztológiában a mikrohullámú technika alkalmazását Mayers (1970) vezette be. Immunhisztokémiai vizsgálatok során hasznosítható, melyeknél az antigén–antitest–kötődés fokozható (Long és Buggs, 2008), továbbá a szövetfestéshez használt vegyületekből a mikrohullám alkalmazásával kisebb koncentráció is elegendő (Feirabend és Ploeger, 1991). A mikrohullámú melegítés nem ellenjavallott a hagyományos melegítéssel szemben, mert jól kimutatható minőségű festett vizsgálati objektumot eredményez (Emerson és mtsai, 2006).

Feltételezésünk szerint a mikrohullám hatással van az élesztősejtek és más sejttípusok fiziológias működésére. Befolyásolhatja a sejtek szaporodását és vitalitását, módosíthatja a normál szaporodási profilt. Feltételezzük, hogy a besugárzás változtathatja a sejthártya szerkezetét és működését is. Nemcsak a sejthártya szubsztrátumspecifikus proteincsatornáin keresztüli transzportra lehet hatással, hanem emellett hatással bírhat a membránt alkotó foszfolipid–molekulákra is: változtathatja a molekulák közti sűrűlődést, illetve a membránstruktúra integritását.

2.1.3. A mikrohullám hatása vizes közegekre

A vízmolekula a különböző vizes közegekben zajló fiziológias folyamatok nélkülözhetetlen alkotóeleme. Biokémiai szempontból a makromolekulák körüli víz lehet: kötött, félig vagy lazán kötött, ill. szabad állapotú. Szilárd, folyékony és gáz halmazállapotban is létező eltérő szerkezete miatt is jelentős. A vízmolekulát felépítő hidrogén- és oxigénatomok eltérő elektronegativitása miatt a víz állandó dipólus momentummal bír. Emiatt a rá ható elektromos mezővel elfordítható, így követi a váltakozó áramot az elektromos erőterben. A biológiai struktúrák egy részére a nagyon alacsony szintű energia is hatással van. Ilyenek a hidrogénkötést tartalmazó molekulák, amelyekben nagyon kis energiaközvetítés mellett protoncsere megy végbe. Dipólusos polarizálhatóságuk útján energiaszintjük növelhető (Schubert és Regier, 2005). A víz dielektromos állandójának értéke nagyon magas, ezért képes az elektromos energia tárolására és az elektromosság vezetésére. (Géczi, 2002).

Geletyuk és munkatársai (1995) 42,25 GHz frekvenciájú besugárzással vizsgálták a Ca^{2+} -aktivált káliumion-csatornák kalciumionokhoz való affinitását. Ezután vizes oldatok ugyanezen frekvenciával történő besugárzásának hatását vizsgálták a Ca^{2+} -függő K^{+} -csatornák működésbeli változásainak kimutatásával. A beugárzott vizes közegbe kerülő ioncsatornák aktivitása módosul, szemben a kontrolloldatban tapasztaltakkal. A hatás 10-15 perc után csillapszik. Ennek oka feltehetően az, hogy az oldat elveszíti csatornamódosító tulajdonságait, vagy a csatornák oldattal szembeni érzékenysége megszűnik. A 9,5 GHz-es frekvencia elektromágneses hatásaként a spórázás fiziológias enzimjeinek aktiválása, illetve az aktivitás csökkentése történt a besugárzott vízben. A vizes oldat bizonyos ideig

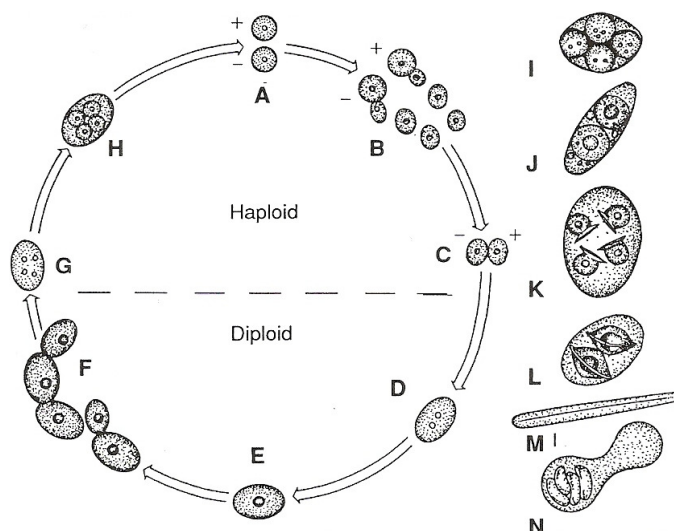
megőrzi a besugárzást követően szerzett tulajdonságait, vagyis memóriaképességgel bír (Fesenko és mtsai, 1995; Rai és mtsai, 1994). A vízmemória fogalmáról megoszlanak a szakvélemények. Mindmáig nem ismert a változások mibenléte, miközben bizonyos körök, mint például a paramedicinális tudomány, illetve az alternatív gyógyászat a hatást már jói deje alkalmazza a gyakorlatban. A víz jelen van minden élő szervezetben, biológiai anyagban. A mikrohullámú hatás nagymértékben függ az egyes szövetek, szövettípusok víztartalmától. A víz új tulajdonságainak kutatása és megismerése emiatt feltétlenül indokolt. Előzetes kutatási eredmények szerint a 2,4 GHz-es besugárzás hatására cellobiáz-enzimoldatban növelhető az enzimműködés aktivitása (Lakatos, 2009). A cellobiáz szubsztrátuma a cellobióz nevű dimer molekula, melyet az enzim a kovalens kötés felszakításával glükózmonomerekre bont. Ez a folyamat a mikrohullám hatására fokozható (Lakatos és mtsai, 2009). A hatás kimutatása spektrofotometriás méréssel történt. Az enzimműködés során keletkező glükózmonomerek mennyiségétől függően más-más színintenzitás mutatható ki. Az enzim aktivitásában bekövetkezett változás okára nincs pontos magyarázat. Stanisavljev és mtsai (2007) azt tapasztalták, hogy a mikrohullám befolyásolja vízoldatok elektrolízisebességét. A hatás hőmérsékletfüggő; alacsony hőmérsékleten a besugárzás növelte, magas hőmérsékleten pedig csökkentette az elektrolízis sebességét.

Feltételezzük, hogy a vizsgálatok során besugárzott anyagban a mikrohullám hatással lehet az enzimre, a szubsztrátumra, és ezen kívül még magát az oldatot alkotó vizes közegre is. Ezt a dolgozatban leírt módon kívántuk kimutatni vizes közegek célzott besugárzásos vizsgálataival.

2.2. A pékélesztő (*Saccharomyces cerevisiae*) főbb tulajdonságai

Sokféle élő organizmuson vizsgálják a kis és nagy frekvenciájú elektromágneses sugárzás hatását, többek között élesztősejteken is. Az élesztőgombák az ipari alkalmazás mellett jelentősek az elméleti sejtbiológiai kutatásokban. Az élesztősejt anatómiáját, fiziológiáját, genetikai jellemzőit és az alkalmazott mikrobiológiában betöltött szerepét az egyes biológiai, orvosi, élelmiszertechnológiai és más ipari tudományágak folyamatosan kutatják.

A tömlősgombák (Ascomycota) törzse, *Saccharomyces* osztályának, *Saccharomycetales* rendjébe tartozó *Saccharomyces cerevisiae* (sör- vagy pékélesztő) régóta használt eukarióta modellszervezet. Könnyen és gyorsan szaporítható, biokémiai és genetikai szempontból jól ismert. Egysejtű szervezetként szaporodik, tenyésztésük könnyen szinkronizálható. A sejtek mérete és morfológiája alapján megállapítható, hogy a sejt a sejtciklus melyik fázisában van, így kiváló objektum a sejtciklus kutatásában. Haplo-diplonta fejlődésmenetű, jól elkülöníthető generatív (ivaros) és vegetatív (ivartalan) szakasszal (2. ábra). Az ivaros szaporodás végeredményeként meiózissal keletkező haploid (n) aszkospórák bimbózással sokszorozódnak (ivartalan ciklus). Ellentétes nemi jellegüknel fogva ezek az n sejtek egyesülhetnek (ivaros ciklus), és az immár diploid ($2n$) sejtek szintén bimbózással sokszorozódva $2n$ telepet hoznak létre, ami nemzedékeken át fennmaradhat. Azok a $2n$ sejtek, amelyekben végbemegy majd a meiózis, aszkusszá (tömlővé) alakulnak, bennük haploid aszkospórák képződnek.



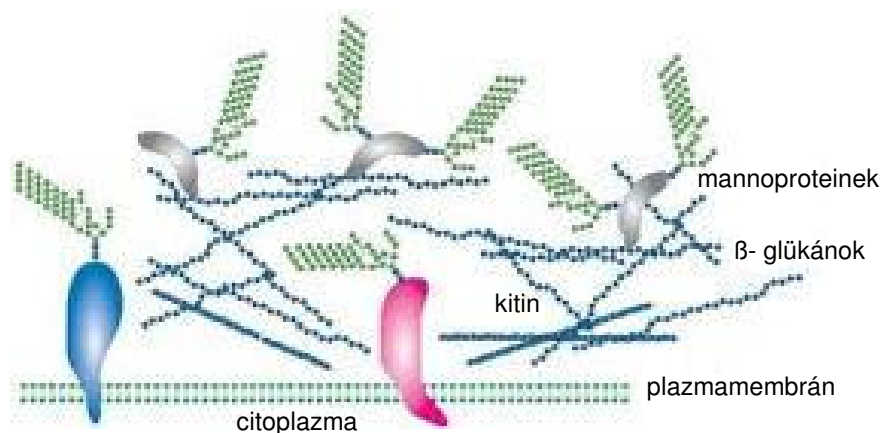
2.ábra. A *Saccharomyces cerevisiae* életciklusa (Jakucs és Vajna, 2003)

A sejtciklus eseményeinek időbeli arányait a környezet fizikai, kémiai és biológiai tényezői nagymértékben befolyásolják (Jakucs és Vajna, 2003; Lew, 2000; Rupe, 2002). A meiózist és spórázást általában tápanyaghiány váltja ki. A *S. cerevisiae* szaporodásának optimális hőmérséklete 37°C (Deák, 1998). Szaporodási dinamikáját elméleti modellek kidolgozásával és az azokat igazoló sejtszétválasztás-vizsgálatokkal, a felszaporodott sejtek mennyiségi mérésével kutatják (Cipollina et al., 2007; Hatzis és Porro, 2006). A sejtek a kezdeti lappangási (lag) fázisból egy átmeneti, rövid ideig tartó gyorsulási szakaszba lépnek. Ezután exponenciális (logaritmusos) szaporodást mutatnak, amit lassulási, majd állandósult (stacioner) fázis zár. Ekkor maximális a sejtkoncentráció a tenyésztetben. Ezután a sejtek hanyatló, végül pusztulási szakaszba kerülnek (Deák, 1998). A sejtek pusztulása a tenyésztő közegben programozott sejthalál útján történik (Severin és mtsai, 2008). A *S. cerevisiae* generációs ideje 120 perc, ami alatt a sejtek megkettőződnek.

Az élesztő olyan egysejtű gomba, melynek eukariotikus sejtstruktúrája van, ami jóval fejlettebb, mint a prokarióta szervezeteké.

Az élesztősejt protoplazmáját a sejthártya (-membrán) veszi körül, amit két rétegből álló sejtfa határol. Ennek külső rétege 0,05 μm vastagságú, a belső, 0,2 μm -es rétege további három rétegre különíthető (Charpenter, 1977; Schwartz és Azar, 1981). A sejtfa szerkezetét oligoglükoprotein-, oligo-mannoprotein-, lipid- és kitinmolekulák építik fel. A sejtfa belső vázát poliszacharidfibrillumok matrixba ágyazott glükánhálózata építi fel, melyhez foszfomanno-proteinmolekulák kapcsolódnak kovalens kötéssel. A sejtfastruktúrát a fehérjék diszulfidkötései stabilizálják (lásd: Bíró és mtsai, 2001). A belső réteget β -1,3- és β -1,6-glükán, valamint kevés kitin alkotja. Ehhez kapcsolódnak a külső réteg mannoproteinjei (3. ábra). A sejtfa a sejtet kívülről érő mechanikai erőkkel szemben védő, merev abroncsszerű struktúra, mely nem élő, de szerves és folyamatosan alakuló része a sejtnek. Textúrájának tág pórusain keresztül az anyagok áramlása bizonyos mértékig zavartalan (Scherrer és mtsai, 1974). Különböző enzimek: szintetázok, hidrolázok és más sejtfa bontó enzimek helyezkednek el a sejtfa belsejében. Az emésztőenzimek a sejtfa belsejében választódnak ki, akadálytalanul haladnak a sejtfa belsejében keresztül kifelé. A sejt felszínének kialakításában a funkcionális és szerkezeti elemek, enzimek, az immunogének, valamint a sejtek közti kapcsolatot lehetővé tevő molekulák szerepelnek (Griffin, 1993). A sejtfa összetételétől függően változik az egyes mutáns törzsek életképessége (Terapic és mtsai, 2004). A külső sejtfa réteg mannoproteinjeitől függően korlátozott sejtfa porozitás alakul ki, ami a különböző mannoprotein-mutáns törzsek esetében más és más (De Nobel és Barnett, 1991). A

periplazmatikus tér, amely a sejtmembrán és a sejtfa belső rétege közt helyezkedik el, sajátos enzimeket lokalizál.



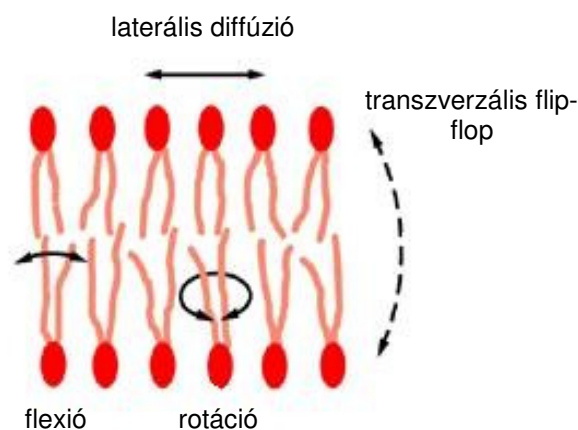
3. ábra. A *Saccharomyces cerevisiae* sejtfaának szerkezete
(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1941/figure/ch21.f1/?report=objectonly>)

Az élesztősejtnek a baktériumokkal ellentétben komplex és speciális membránfajtái vannak. A kettős rétegű, foszfolipid-plazmamembrán 7,5 nm vastagságú. Benne a lipidszimbólumok aszimmetrikusan helyezkednek el. A belső rétegben a foszfatidiletanolamin-, -inozitol-, -szerin-molekulák vannak nagyobb mennyiségben, míg a külső réteg foszfatidilkolinban és szfingolipidekben gazdagabb. A magasabb rendű eukariótákhoz képest az élesztők membránja koleszterol helyett ergoszterolban gazdagabb (Van der Rest és mtsai, 1995). A sejtártya szemifluid, azaz félig folyékony szerkezet, melynek több funkciója van. A citoplazmát körülveszi, így a sejttel önállóan működő, élő egységet alkot, befelé pedig a sejtet részekre osztja. Kívülről fizikailag és kémiaiilag határolja és védi a sejtet a külső környezettől. Rajta keresztül egyrészt szelektív transzport, vagyis a nélkülözhetetlen anyagok felvétele és leadása zajlik.

Másrészt a környezet toxikus anyagait nem engedi bejutni a sejtbe. Ez a funkció bizonyos külső és belső hatásokra megváltozhat. Mechanikai, fizikai, kémiai behatások, a környezet különböző természetes és mesterséges sugárzásai befolyással lehetnek erre. A szelektivitás megszűnésével toxikus és más hatóanyagok juthatnak a sejtbe; az ilyen folyamatok fontos területét képezik a különböző kutatásoknak.

A plazmamembrán-transzportnak több fajtája van. A passzív transzport nem igényel energiát. Ilyen az egyszerű diffúzió, mellyel a kis hidrofób molekulák és bizonyos mértékig a poláros molekulák transzportálódnak. A membránban feloldódni képtelen kis molekulák a membránfehérjék közreműködésével szállítódnak, facilitált diffúzióval. Ez lehet egyrészt transzmembrán-fehérjecsatorna által közvetített folyamat, melynek működése szabályozható; így szállítódnak például az ionok. Másrészt lehet ún. carrier-fehérjék segítségével történő folyamat, melynél nincs csatorna, hanem a fehérje megköti a transzportálandó anyagot, ami konformációváltozást követően átjut a sejthártyán. Így zajlik a poláros molekulák (pl. glükóz, szacharóz) transzportja. Úgynevezett uniport történik egyik irányból a másikba. Kótranszport esetén két molekula szállítása egyidejűleg valósul meg. Ha ez egy irányba történik, akkor szimportról (pl. Na^+ /glükóz), ha ellentétes irányba történik, akkor antiportról (pl. Na^+ / Ca^{2+}) beszélünk (Van der Rest és mtsai, 1995). Az aktív transzport energiabefektetést igényel, mely ATP-szintézissel valósul meg. Nagyobb molekulák szállítása fagoszómában, vezikulumokban vagy mesterséges liposzómába csomagoltan endocitózis, illetve exocitózis útján történik. Ilyenkor a liposzómamembrán és a sejthártya összeolvadnak, és a liposzóma tartalma bekerül a sejtbe (Fischer, 2000).

A lipidmolekulák a sejtártya síkjában laterális irányban rotációs (forgó), ill. vibrációs (rezgő), a sejtártya síkjára merőlegesen transzverzális irányban pedig flip-flop mozgásokat végeznek (4. ábra) és közben egymással helyet is cserélhetnek. A membránban globuláris proteinek vannak, amik a lipidmolekulák között szabadon elmozdulhatnak. A lipidmolekulák szerepet játszanak a plazmamembrán proteinjeinek aktivitásában. Az elmondottak ellenére a sejtártya működési mechanizmusairól hiányosak az ismereteink.



4. ábra. A lipidmolekulák mozgástípusai a sejtártyában (Alberts és mtsai, 2008)

Az élesztősejt genetikai állománya az eukariotikus sejtmagban és a citoplazma egyes organelleumaiban (plazmidokban, mitokondriumokban) oszlik meg.

A mitokondriumok az eukariotikus sejtek nélkülözhetetlen sejt szervei, melyek a sejt lélegzésért felelősek. Feladatuk a sejt energiaellátásának biztosítása ATP-szintézis útján. A sejt fiziológiai állapotától, a tenyésztés körülményeitől, a sejt ciklustól függően a mitokondriumok folyamatosan változnak a sejtekben. Aerobiózisban számuk és nagyságuk nő (Pon és Schatz, 1991). Autonómiájukat saját

DNS-ük és fehérjeszintetizáló rendszerük adja. A mitokondriális genom anyai ágon átöröklődik a sarjsejtek kopulációjával (Yang és mtsai, 1999). Az élesztők genetikai vizsgálatai igazolják, hogy ezeknek az eukariotikus sejteknek a mitokondriuma endoszimbiózis útján bekebelezett alfa-proteobaktériumból származik (Gabaldón and Huynen, 2007; Gray és Doolittle, 1982).

Az endoszimbiózisos elképzelést számos bizonyíték támasztja alá (pl. Alberts és mtsai, 2008; Fischer, 2000; Schwartz és Azar, 1981). A mitokondriumok mind a méretüket, mind az alakjukat tekintve nagyon hasonlóak a ma élő baktériumokhoz és osztódásra képesek. DNS-ük hasonló a prokariótákéhoz. Fehérjeszintetizáló apparátusuk szintén a prokariotikus fehérjeszintetizáló rendszerhez hasonlít. A legmeggyőzőbb bizonyítékot a mitokondriumok endoszimbiózisos eredetére azok a köztes állapotok jelentik az eukarióta fejlődésben, amelyek még ma is fellelhetők. Vannak olyan ősi eukariótára hasonlító, ma élő eukariotikus sejtek, melyek oxigénszegény környezetben, például a bélben élnek, és nincs mitokondriumuk. Ilyen például a diplomonad. Az amőba *Pelomyxa palustris*nek szintén nincs mitokondriuma, ennek ellenére oxidatív metabolizmust folytat, mert a citoplazmájában baktériumok élnek. Az aerob baktériumokban a plazmamembrán felelős a légzési energia termelésért. Az eukariotikus szervezetekben a mitokondrium átvette ezt a funkciót a citoplazmamembrántól, ezért a plazmamembrán új feladatokat láthat el. Az eukariotikus sejtek plazmamembránja tehát jelentősen különbözővé vált a prokariotikus sejthártyától, miközben a mitokondrium membránja prokariotikus eredetű.

A riboszóma a citoplazmában elhelyezkedő, riboszomális RNS-ből és fehérjékből álló sejtszervecske. Feladata a sejt működéséhez és

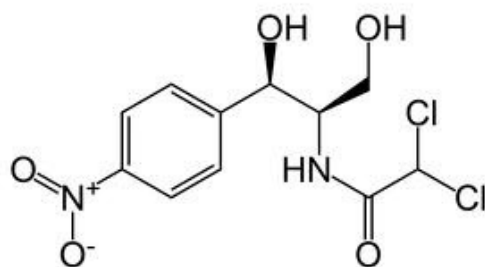
felépítéséhez szükséges fehérjék szintézisének (transzlációnak) a biztosítása. Minden élőlény sejtjeiben megtalálhatóak, nagyobb számban a citoplazmában, a durva endoplazmatikus retikulum felszínén, a mitokondriumokban és a plasztiszokban fordulnak elő. Az élesztősejtnél kétfajta riboszómája van. Eukariotikus típusú riboszómái a citoplazmában, a prokariotikus típusú riboszómaszerelvényei a mitokondriumokban találhatóak. A riboszómák mérete megközelítőleg 20 nm, ezért csak elektronmikroszkóppal láthatók. 65%-ban riboszomális RNS-t, 35%-ban fehérjét tartalmaznak. Két részből, egy kis és egy nagy alegységből állnak. Méretük kifejezésére a Svedberg-egységet használják, így az eukarióták riboszómájának nagysága 80 S, a prokariótáké 70 S (Alberts és mtsai, 2008; Szeberényi, 1999). A riboszómák felszínén történik a transzláció, azaz a fehérjeszintézis, amelyben mind a rRNS, mind a riboszomális fehérjék részt vesznek.

2.3. Antibakteriális antibiotikumok jellemzése

A fermentációs és más iparágak a mikrobiológiai eljárásoknál antibiotikum hozzáadásával teszik lehetővé a folyamatok sterilitását. Gombák tenyésztésekor a kontamináció elkerülése végett széles spektrumú antibakteriális antibiotikumok használatosak. A következőkben bemutatjuk azokat, amelyeket az élesztő tenyésztésekor magunk is használtunk.

A kloramfenikolok széles spektrumú antibakteriális antibiotikumok, melyek gyakorlatilag az összes – Gram-negatív és Gram-pozitív – baktériumokra hatásosak, kivéve a *Mycobacterium tuberculosis*. A kloramfenikolt először a *Streptomyces venezuelae* tenyésztésének szűrletéből izolálták Ehrlich és munkatársai 1947-ben. Napjainkban nem biológiai, hanem mesterséges úton nyerik.

tömege 323,132 g/mol. Kémiai szerkezete egyszerű, két aszimmetriacentruma van, ami 4 lehetséges izomert eredményez. Közülük csak a kloromicetin nevű D(-)-treo-izomer hatásos. Ennek szerves és szervetlen sóformái a különböző kloramfenikolok (5. ábra). Toxicitásuk jelentős, emiatt csak ritkán és főleg a fejlődő országokban használatosak gyógykezelésekben (Gergely, 2003). Nemkívánatos mellékhatása hangsúlyozandó, mely a hematotoxicitás két formájában nyilvánul meg (Aktories és mtsai, 2005). Az egyik az aplasztikus anémia, mely a vöröscsontvelő ritkán előforduló halálos kimenetelű károsodása. Ez a bevitt dózistól függetlenül jelentkezik. Hatásmechanizmusa pontosan nem ismert. Ritkán a kloramfenikol képes bejutni pl. a vöröscsontvelő őssejtjeibe a sejthártyán keresztül, amire máig nincs magyarázat. A másik nemkívánatos jelenség a kloramfenikol adagolásától függően a vérképzés reverzibilis gátlásában nyilvánulhat meg. Tehát az utolsó bevitelt követően idővel a vérképző funkció helyreáll. A kloramfenikolmolekula a prokariotikus proteinszintézist gátolja riboszomális szinten (Böttger és mtsai, 2001). Nevezetesen a 70S riboszómák 50S alegységéhez kötődve akadályozza a peptidkötés létrejöttét és a riboszóma elmozdulását az mRNS-szálon (Gergely, 2003).

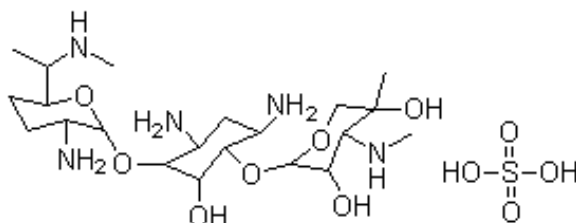


5. ábra. A kloramfenikol szerkezeti képlete

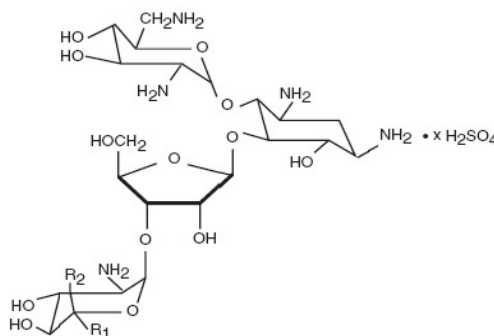
A gentamicin és a neomycin az aminoglikozid antibiotikumcsoport képviselői (6., 7. ábra). Ezek is széles spektrumú antibakteriális antibiotikumok, de anaerob mikrobákra, valamint anaerob körülmények közt hatástalanok. Ezek kis molekulájú anyagok, melyek szulfáttal alkotott sói kerülnek alkalmazásra. A gentamicin molekulatömege 477,597 g/mol, a neomycin szulfáté pedig 908,87 g/mol. Baktericid hatásukat a fehérjeszintézis blokkolásával fejtik ki. Hiába kötődik az mRNS a riboszómához, az aminoglikozidok szelektíven kapcsolódnak a bakteriális 70S riboszómák 30S alegységéhez. Ennek következtében zavar támad a transzkripcióban, ami hibás translációhoz vezet (Gergely, 2003). Az utóbbi kutatások szerint az aminoglikozidok támadáspontjai és bekötődési helyei elsősorban a riboszomális RNS-molekulák, illetve kevésbé a riboszomális fehérjék (Vincens és Westhof, 2003). Toxikus mellékhatásaikként a humángyógyászatban előfordulnak allergiás jelenségek, a neuromuszkuláris szinapszisok blokkja, a hallószerv károsodása (Aktorics és mtsai, 2005). Nefrotoxikus hatásuk az adagolástól függően jelentkezhet. A vese tubulussejtjei aktív transzportfolyamat révén felveszik a hatóanyagot és az endoszóma, valamint lizoszóma nevű

sejtszervekben akkumulálják. A sejt telítődésekor jelentkeznek a toxikus tünetek (Mingeot-Leclercq és mtsai, 1999).

Az antibakteriális antibiotikumokként számon tartott kis molekulájú kloramfenikol, gentamicin és neomicin elvileg tehát hatástalanok a gombákkal szemben, feltehetően azért, mert nem jutnak át azok eukariotikus sejthártyáján (Gyires és mtsai, 2011). Ezzel szemben a gombákból izolált prokarióta eredetű mitokondriális riboszómák érzékenyek ezekre a protocelluláris proteinszintézisre ható antibiotikumokra (Hardman és mtsai, 2001; Zhang és mtsai, 2005).



6. ábra. A gentamicin szerkezeti képlete



Neomycin B ($R_1 = H$, $R_2 = CH_2NH_2$)
 Neomycin C ($R_1 = CH_2NH_2$, $R_2 = H$)

7. ábra. A neomycin szerkezeti képlete

2.4. Antifungális antibiotikumok jellemzése

A *S. cerevisiae* és más gombákra az antifungális antibiotikumok hatnak. Ilyenek az amfotericin B, a flukonazol, a flucitozin és az itrakonazol. A polién típusú antibiotikumokhoz tartozó nisztatin, pimaricin és amfotericin B a sejthártyát károsító fungisztatikus molekulák, melyek a membrán áteresztőképességét fokozzák, és az ionok, ill. az aminosavak kiáramlását teszik lehetővé. A klotrimazol, mikonazol, ekonazol, bifonazol, tiokonazol, omokonazol olyan azolvegyületek, melyek a sejthártyát alkotó ergoszterol szintézisét gátolják.

3. ANYAG ÉS MÓDSZER

A nemtermikus mikrohullámú hatást különböző berendezésekben, celluláris és szubcelluláris szintű struktúrákon a Biológiai Rendszerek Műszaki Intézetében kutattuk. A besugárzás hatását egyrészt a folyékony közegben lévő élő sejt rendszeren a *Saccharomyces cerevisiae* (pékélesztő) tenyészetén. Megvizsgáltuk másrészt a mikrohullám hatását a biológiai médiumokat alkotó vizes oldatra.

3.1. A pékélesztő besugárzásának vizsgálata

A mikrohullámú hatás élő sejtrendszerekre irányuló kutatását kifejezetten mikrobiológiai vizsgálatok céljára kialakított feltételek mellett, steril körülmények között végeztük.

3.1.1. Mikroorganizmus, törzstenyészet

A vizsgálatokhoz *Saccharomyces cerevisiae* M26 törzset (NYME-MÉK Biológiai Rendszerek Műszaki Intézete) alkalmaztunk (8. ábra). Ezt a törzset a Budafoki Élesztő- és Szeszgyárból származó ipari pékélesztőből izoláltuk. Tápoldatból (1. táblázat) származó inokulumból indított, rázatott folyadékkultúrákat inkubáltunk 37 °C-on, 12 óráig. A felszaporított tenyészetből kloramfenikol-glükóz-agar táptalajjal (Yeast Glucose Chloramphenicol, Biolab CGA20500) megöntött Petri-lemezekre szélesztettünk, majd azokon termosztátban 48 óráig 37 °C-on telepeket növesztettünk. Az izolált telepekből kloramfenikol-glükóz ferdeagar-táptalajon (2. táblázat, Biolab CGA20500), 37 °C-on 48 órán át tenyésztettük a törzset. E tenyészeteket hűtőben 8 °C-on tároltuk a

felhasználásig. Meghatározott időközönkénti átoltással folyamatosan fenntartjuk a törzset.



8. ábra. *Saccharomyces cerevisiae* M26 törzstenyésztete

3.1.2. A kísérleti sejtrendszer kialakítása

A törzs izolálását szolgáló tenyésztésekhez és fenntartó tenyésztettséghez kloramfenikol-glükóz szilárd agartáptalajt (Biolab CGA20500) alkalmaztunk (2. táblázat). A tenyésztéshez és sejtszaporításhoz használt YGC folyékony közegeket (1. táblázat) szükség esetén a vizsgált antibiotikumokkal egészítettük ki. Ezek végkoncentrációja a tápközegben: a kloramfenikol (Chloramphenicol, Pharmacopea Hungarica XV) $20,0 \text{ mg/L}^{-1}$, a gentamicin (Gentamicin-chinoin 40 mg injekció, Sanofi-aventis Zrt.) $22,2 \text{ mg/L}^{-1}$, a neomycin (Neomycin sulfate, Pharmacopea Hungarica XV) pedig $25,7 \text{ mg/L}^{-1}$. Az egyes antibiotikumokból membránszűrővel ($0,22 \mu\text{m}$ Millipore steril filter, ref.: SLGV033RS) sterilre szűrt törzsoldatokat készítettünk. A vizsgálatokhoz sterilizált eszközöket használtunk. A folyékony és szilárd közegek (1., 2. táblázat) sterilizálását autoklávban $121 \text{ }^\circ\text{C}$

hőmérsékleten, 20 percig végeztük (Gergely, 2003). Műanyag pipettahegyeket fóliahegesztéssel szeparáltan csomagolva háztartási mikrohullámú készülékben 25 percig, 200 Watt teljesítménnyel sterilizáltunk (Sanborn és mtsai, 1982).

1. táblázat. A tenyésztéshez használt tápoldat összetétele

| Összetevő | Mennyiség (g/L) desztillált víz |
|-------------------------------------|------------------------------------|
| Glükóz-monohidrát (Labomark Kft.) | 5 |
| Kazein-pepton (Merck) | 5 |
| Élesztőkivonat (Merck) | 5 |
| Ammónium-dihidrogén-foszfát (Merck) | 1 |

A tápoldat pH-ját NaOH-oldattal 7,2-re állítottuk be.

2. táblázat. Szilárd tápközeg (Biolab CGA20500)

| Összetevő | Mennyiség (g/L) desztillált víz |
|---------------|------------------------------------|
| Pepton | 5 |
| Glükóz | 20 |
| Kloramfenikol | 0,2 |
| Agar | 14,8 |

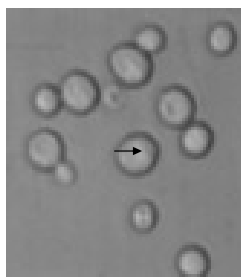
A kiöntés és dermedés előtt a pH-t 6,6 ± 0,2-re állítottuk.

A *S. cerevisiae* normál fiziológiás szaporodásának vizsgálata optimális körülmények között: A kísérletsorozatot megelőzően megfigyeltük a *S. cerevisiae* M26 törzs növekedési tulajdonságait a későbbiekben alkalmazandó kísérleti körülmények között. Az élesztőtörzs tápoldatos tenyészetének szaporítása során meghatározott időközönként mértük az optikai denzitást (OD) Densichek™ készülékkel (bioMerieux Sa., 69280 Marcy l'Etoile, France7.) és a hozzá tartozó skála alapján számítottuk az aktuális sejtszámot (3. táblázat).

3. táblázat. A skála egyes optikai denzitás (OD)–értékeihez tartozó sejtszámértékek

| McFarland (McF) skála | Élesztősejtszám/30ml | Optikai denzitás (OD) 550 nm–nél |
|-----------------------|----------------------|-------------------------------------|
| 1 | 3×10^8 | 0,25 |
| 2 | 6×10^8 | 0,50 |
| 3 | 9×10^8 | 0,75 |
| 4 | 12×10^8 | 1,00 |
| 5 | 15×10^8 | 1,25 |

Minden mintavétel alkalmával fénymikroszkóppal ellenőriztük a tápoldatos tenyészet sterilitását. Megvizsgáltuk a sejt morfológiát és azt, hogy a látótérben vannak-e szaporodó sejtek. Metilénkékes festéssel azt is vizsgáltuk, hogy jelen vannak-e a folyadékkultúrában elpusztult sejtek, és ennek mértéke összhangban van-e a tenyészet életciklusának adott szakaszával. A 9. ábra egy exponenciális fázisban levő tenyészet fénymikroszkópos képe. A kapott szaporodási görbe referenciaként szolgált a besugárzási kísérletekhez.



9. ábra. A *Saccharomyces cerevisiae* 5-10 μm méretű osztódó sejtjei (\rightarrow : 5 μm)

Adott inkubációs időpontokhoz tartozó OD-értéknél a sejteket kitenyésztettük Petri-csészén kloramfenikol-glükóz agartáptalajon (Biolab CGA20500), hogy a telepszám és a mért OD korrelációját megállapítsuk. Szabályos, reprodukálható kísérleti rendszert nyertünk, amely az összes vizsgálat alapjául szolgált.

Kísérleti tápoldatos tenyészet: Kísérleti rendszerünket meghatározott optikai denzitású primer tenyészetből inokuláltuk. A primer tápoldatos tenyészet készítésekor a pékélesztő ferdeagaros törzstenyészetből 90 ml tápoldatba inokuláltunk, majd 37 °C-on 12 órán át rázatva (160 rpm) inkubáltuk. A kísérleti tápoldatos tenyészeteket a primer folyékony tenyészettel megegyező mennyiségű és összetételű tápoldatban, azonos térfogatú lombikokban készítettük elő. A primer tenyészetből mindig azonos inokulummennyiséggel, azonos időpontban oltottunk át a kísérleti lombikokba, így azonos fázisban lévő, egymással összehasonlítható szekunder tenyészeteken végeztük a vizsgálatot. Ennek alapján lehetővé vált az egyes besugárzási kísérletek összehasonlíthatósága.

3.1.3. Konstans hőmérsékletű mikrohullámú besugárzási protokoll

A sejt kultúrákat Model MARS[®] (Microwave Accelerated Reaction System, CEM Corporation, Matthews, North Carolina 28106) mikrohullámú berendezésben kezeltük (10a. ábra).

A készülék alapvető funkciója különböző anyagok ipari célú feltárása, roncsolása, magas nyomáson (max. 1500 psi) és magas hőmérsékleten (max. 300 °C) történő emésztése, illetve más, szintetikus analitikai folyamatok végzése. A folyamatos teljesítményleadás az eljárások gyorsaságát és a minta által elnyelt teljesítmény jobb meghatározását teszi lehetővé, mert így elkerülhető a teljesítmény

modulált leadásából adódó pontatlanság. A készülék belső terében a minták helyzete adott pozícióban fixálható, így az adott mikrohullámú kezelés jól reprodukálható. A teljesítmény leadás igen széles tartományban szabályozható. A minta hőmérsékletét folyamatosan méri a referencia-mintatartóba vezetett szenzor. A mintatartók anyaga teflon, mely nem nyeli el a sugárzást, így az csillapítatlanul bejut a kezelni kívánt mintába. A teflon mintatartó további előnye, hogy a szilárdság/súly aránya optimalizált, gyors lehűlésre képes, így nem szükséges vízfürdőt vagy külső hűtési mechanizmust alkalmazni a besugárzásos kezelés után. A berendezés programozhatósága lehetővé teszi, hogy az eredeti felhasználási terület mellett, alacsony nyomás és hőmérsékleti viszonyok között menjenek végbe és reprodukálhatóak legyenek a besugárzási kísérletek.

A besugárzás 2,45 GHz, a teljesítmény szakaszos leadásával 50 Watt (400W 12%-a), 37 °C konstans hőmérsékleti, légköri nyomású protokoll szerint zajlott. Az egyes kísérleti típusok szerint más-más besugárzási időt alkalmaztunk. A kísérleti tenyészetek a növekedés exponenciális fázisának kezdeti szakaszában, azaz az inokulálást követő 120. percben, egyidejűleg kapták a besugárzást. A mikrohullámú besugárzás során a sejt kultúrákat autoklávban (VAPOSTERI, BMT Brnenská Medicinská Technika a. s., A Labor) sterilizált, 37 °C-ra előmelegített teflon mintatartókban tartottuk a kezelőtérben. A besugárzás teljes ideje alatt a sejt kultúrák hőmérsékletértékét ekvivalens térfogatú referencia mintatartóba helyezett száloptikával követtük nyomon.

A mikrohullám nem termikus hatásának vizsgálata miatt az inkubálási körülményeknek megfelelő, állandó 37 °C-os hőmérsékletet

biztosítottunk, amit a „status: holding at 37 °C” program kiválasztásával valósítottunk meg (10b. ábra).



10a. ábra. Microwave Accelerated Reaction System, Model MARS™ mikrohullámú készülék kezelőterében teflonmintatartókban elhelyezett besugárzott tenyészetek és hőmérsékletmérő száloptikával felszerelt referencia-mintatartó



10b. ábra: A besugárzási protokollhoz használt program

A tápoldatos tenyészetek inkubálása és a besugárzás hatásainak kimutatása: A mikrohullámú besugárzási időtartam kivételével a kísérlet teljes ideje (24 óra) alatt minden sejt kultúrát rázatással (160 rpm), termosztátban (VENTICELL, MMM Medcenter Einrichtungen GmbH), 37 °C hőmérsékleten inkubáltunk (11. ábra). Meghatározott időnként

(120 perc) mintát vettünk és megmértük az optikai denzitást Densichek-készülékkel. Minden kísérletben egy-egy tápoldatos tenyészetből adott inkubációs időpontban vett öt párhuzamos minta OD-értékét mértük, majd átlagokat és szórást számoltunk. Fénymikroszkóppal megvizsgáltuk a tenyésztési idő egyes szakaszaiban a sejtek morfológiáját, valamint ellenőriztük a sterilitást. A kísérleteket háromszor ismételtük, és tendenciájában minden alkalommal ugyanazt az eredményt kaptuk.



11. ábra. Tápoldatos élesztőkultúrák tenyésztése termosztátban való rázatással

A kísérleti adatok rögzítését és az eredmények statisztikai analízisét Microsoft® Office Excel 2003 (ver.11.5612.5606) program segítségével végeztük. Az adatok egyfaktoros varianciaanalízisét (ANOVA) táblázatokban megjelenítettük.

Más-más mikrohullámú besugárzási időtartam és a tápoldathoz adagolt antibiotikumok (kloramfenikol, gentamicin, neomicin-szulfát)

különböző koncentrációinak hatását megvizsgálva a következő kísérleteket végeztük:

1) Mikrohullámú besugárzási vizsgálatok tápoldatos élesztőtenyészeteken:

Felvettük a besugárzási kísérletekhez használt élesztőtörzs fiziológiás szaporodási profilját. A kutatás első stádiumában megvizsgáltuk, hogy az élesztő folyadékkultúrák tenyészeinek szaporodásában okoz-e változást a mikrohullámú behatás. Ehhez a két párhuzamos tápoldatos tenyészet 45 perces besugárzást kapott, szemben a másik két párhuzamos, azonos hőmérsékleten inkubált, besugárzásmentes kontrollmintával. Ezután megvizsgáltuk, hogy az alkalmazott protokoll különböző besugárzási időtartamai milyen hatással vannak az élesztősejtek szaporodására. Tápoldatos tenyészetekben különböző időtartamú: 0, 5, 10, 20, 30, 40 és 45 perces besugárzás hatását mértük.

2) Antibiotikumot tartalmazó élesztőtenyészetek besugárzási kísérlete:

A kloramfenikollal kiegészített tápoldatban ellenőriztük az élesztő szaporodási mértékét. Megvizsgáltuk, milyen hatást indukál a mikrohullám az antibiotikumot tartalmazó oldatba inokulált élesztőtörzs 45 percig tartó besugárzása esetén. A folyadékkultúrák besugárzási ideje alatt jelenlévő kloramfenikol hatását vizsgálva figyeltük meg először a szakirodalomban nem leírt növekedésgátlási jelenséget. A kísérlet többszöri ismétlésével bebizonyítottuk, hogy a mikrohullám által indukált hatás reprodukálható.

A jelenséget teszteltük a sugárhatás kimutatására alkalmas aminoglikozid típusú antibiotikumok (gentamicin és neomicin) alkalmazásával is. A sejthalál bekövetkezése indirekt módon a

plazmamembrán-permeabilitás változásának következményeként értékelhető.

3) *Antibiotikumot különböző koncentrációkban tartalmazó tenyészetek besugárzási vizsgálatai konstans mikrohullámú paraméterek mellett:*

Bizonyítani szeretnénk volna, hogy a fent leírt hatást, vagyis az antibakteriális antibiotikumok élesztő sejtekre kifejtett hatását valóban a mikrohullám indukálta. Emiatt az antibiotikumot különböző koncentrációkban tartalmazó élesztő tenyészetek növekedését vizsgáltuk azonos, 30 perces besugárzási feltételek mellett.

4) *Különböző besugárzási időtartamok hatásának vizsgálata változatlan mennyiségű antibiotikumot tartalmazó tenyészetek növekedésére:*

Antibiotikumot konstans koncentrációban tartalmazó élesztőtenyészetek különböző időtartamú besugárzásának (0, 5, 10, 20, 30, 40 perc) hatását vizsgáltuk kloramfenikol, gentamicin és neomycin esetében. A vizsgálat célja egy optimális besugárzási idő meghatározása volt.

3.2. *A vizes közeg besugárzásának vizsgálata*

Stanisavljev (2007) eredménye alapján, miszerint a mikrohullám befolyásolja a KOH vizes oldatának elektrolízisét, mi is a víz elektrolízisén keresztül mértük a mikrohullám vízbontó hatását. A különböző vizes minták (4. táblázat) térfogata minden kísérletben azonos (200 mL) volt.

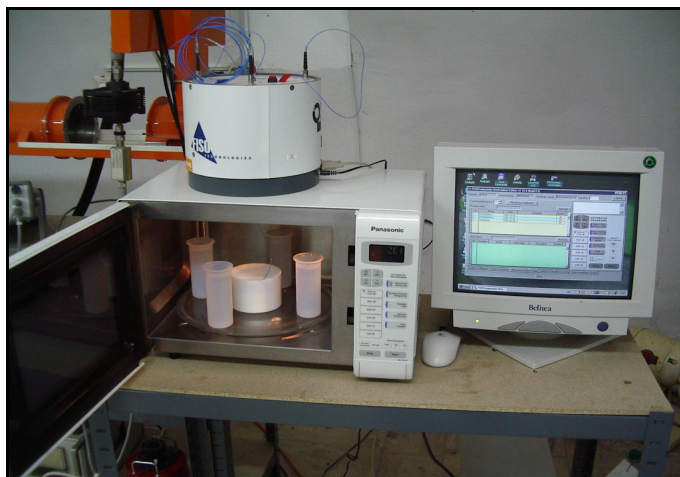
4. táblázat. A NaCl 1%-os vizes oldatával végzett kezelések

| Kezelés | Kiindulási és végső hőmérsékleti érték |
|-------------------------------|--|
| Mikrohullámú besugárzás | 12 °C – 45 °C |
| Főzőlapon való melegítés | 12 °C – 45 °C |
| Besugárzás-és melegítésmentes | 12 °C |

3.2.1. A víztartalmú folyadékminták mikrohullámú besugárzása:

A mikrohullámú besugárzást FISO MWS-4 hőmérsékletmérő száloptikával ellátott PANASONIC NNF 653 WF háztartási mikrohullámú készülékben végeztük (12. ábra), a következő besugárzási protokoll szerint: 2.45 GHz, 100W, folyamatos teljesítményleadás, 50 perc, 12 °C— 45 °C.

A választott programot a mikrohullámú készülékhez csatlakozó számítógép vezérelte. A besugárzás során a minta hőmérsékletének folyamatos változását Fabry–Perot–féle interferomteriás elven működő, beépített száloptika követte nyomon. A teflonmintatartó (átmérő: 85 mm, magasság: 60 mm, űrtartalom: 340 ml) a forgótányér közepén helyezkedik el. Körülötte négy teflonhenger (átmérő: 38 mm, magasság: 100 mm, űrtartalom: 113 ml) 90 ml 12 °C hőmérsékletű csapvízzel töltve csillapítottan juttatja a mikrohullámú sugarakat a központi minta felé, így a kezelőtér homogenitását ún. vízcsapdaként biztosítja.



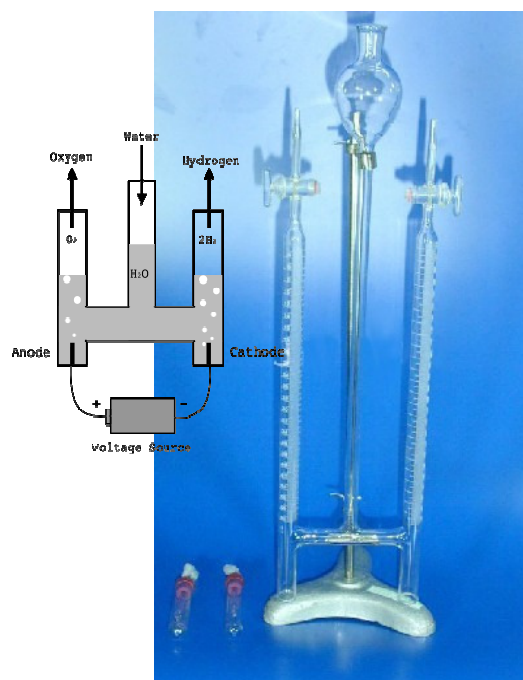
12. ábra. FISO MWS-4 hőmérsékletmérő száloptikával ellátott PANASONIC NNF 653 WF típusú háztartási mikrohullámú készülék

3.2.2. *Elektrolízises vizsgálat:*

A minták elektrolízisét Hofmann-voltaméter készülékben (13. ábra) konstans folyadéktérfogatban, 24V, illetve 12V feszültség alkalmazásával a besugárzást követően azonnal, 24 h, illetve 48 h elteltével végeztük.

A mikrohullám vizes folyadékmintákra kifejtett hatását az elektrolízis sebességének mérésével detektáltuk. Amikor áram halad át a Hofmann- készülékben, az anódon O_2 -gáz, a katódon H_2 -gáz fejlődik, mely helyettesíti a csőben lévő folyadékot. A kalibrált csőben a folyadéktérfogat csökkenő szintje alapján mérhető a sebesség. A fejlődő gázok jelenléte égéssel és pukkanó hang észlelésével detektálható.

Az elektrolízis előtt és után mértük a minták pH-értékét.



13. ábra: Hofmann–voltaméter készülék

Az alábbi típusú kísérleteket végeztük el:

1) A vizes közeg elektrolízisének mérése:

A kezdeti kísérletek során megvizsgáltuk, hogy a mikrohullámmal besugárzott vizes minta elektrolízise, valamint mind a besugárzástól, mind a melegítéstől mentes kontrollminta elektrolízise között van-e eltérés. Ezzel főleg a besugárzás termikus hatását vizsgáltuk.

*2) A mikrohullám nemtermikus hatásának vizsgálata
elektrolizáltatott vizes közegben:*

A továbbiakban a mikrohullám nemtermikus hatására összpontosultak a vizsgálatok. Két hőközlési módszer, a mikrohullám és a főzőlapon való melegítés közti különbséget hasonlítottuk össze. A főzőlapon való melegítés úgy történt, hogy az idő–hőmérséklet függvényében jelentkező hőmérsékletértékek azonosak voltak a besugárzott mintában jelentkező

hőmérsékleti paraméterekkel. A két mintát tehát egyidejűleg ugyanarról a kiindulási hőmérsékletről azonos időtartam alatt azonos lépésközzel melegítve vizsgáltuk, hogy van-e különbség a mikrohullámmal besugárzott, és a főzőlapon melegített vizes minta közt.

3) *A mikrohullámú besugárzás hatóidejének vizsgálata:*

Vizes minták besugárzása után vizsgáltuk a mikrohullám hatóidejét. A besugárzott vizes minta esetében tapasztalt mikrohullámú hatás időbeliségére vonatkozó kísérleteket végeztünk. Megvizsgáltuk, hogy a hagyományos melegítéssel szemben a besugárzott minta mennyi ideig őrzi meg a mikrohullám által kiváltott változást a behatástól számítva. A mintákat a besugárzást követően 24, illetve 48 óráig szobahőmérsékleten tartottuk, majd az elektrolízis mérésével ellenőriztük a hatást.

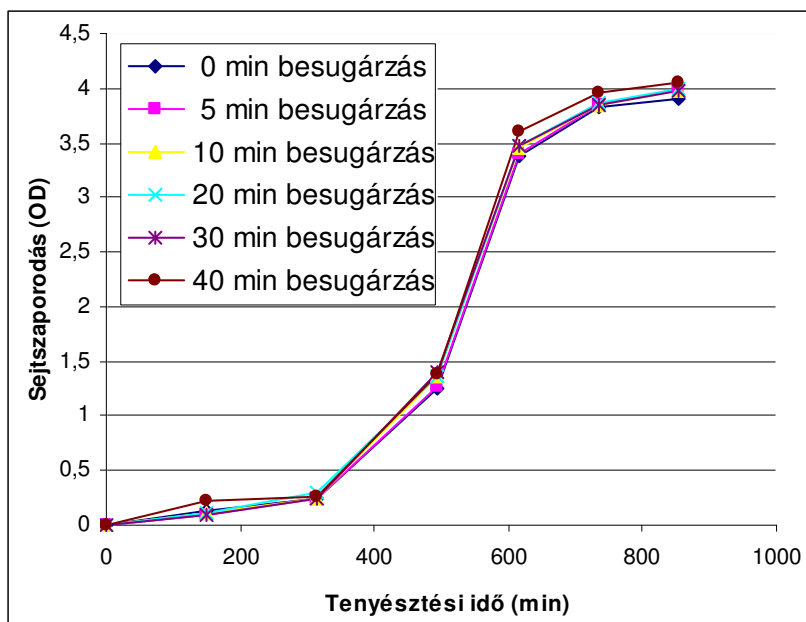
4. EREDMÉNYEK

4.1. A 2,45 GHz mikrohullám hatása az élesztőgombára

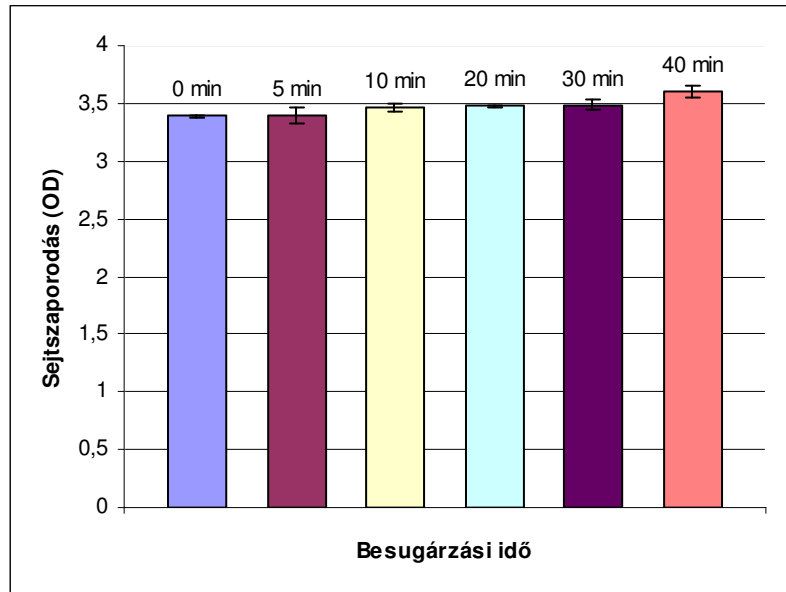
4) A mikrohullám hatása az élesztőre és szaporodási profiljára:

A kezdeti kísérletekben a besugárzás többféle módjának alkalmazásával sikerült megtalálni az összes vizsgálat folyamán következetesen használt, megfelelő besugárzási paramétereket, amelyek nem károsították az élesztősejteket, sőt az optimalizált besugárzási protokoll (2,4 GHz, 37 °C, 50 Watt) lehetővé tette az élesztőtörzs tápoldatos tenyészeinek zavartalan, normál fiziológias növekedését, vagyis a besugárzott tápoldatos tenyészetek sejtszaporodása nem tért el a kontrolltenyészetek normál fiziológias profilt mutató sejtszaporodásától. Az 5–45 perces, különböző besugárzási időtartamok nincsenek szignifikáns hatással a vizsgált törzs növekedésére (14. ábra). A grafikonon a pontok az egyes inkubációs időpontokhoz és besugárzási időtartamhoz tartozó öt párhuzamos mérési adat átlagát jelzik. Az ábra előkísérlet eredményeit tartalmazza, melynek során a *Saccharomyces cerevisiae* M26 törzs fiziológias szaporodását vizsgáltuk, és beállítottuk az indító inokulummennyiséget valamint a tenyésztési rendszert. Stabil kísérleti sejtrendszert hoztunk így létre, amellyel a besugárzásos vizsgálatok reprodukálhatóak voltak. A 615 és 855 perces (15. és 16. ábra) inkubálási időponthoz tartozó összes mért optikai denzitásértékek átlagához képest az egyes besugárzási időkhöz tartozó értékek átlagai nem különböznek szignifikánsan (95%-os szinten). Az oszlopdiagrammokon (15., 16., 18., 19., 20., 21., 22. ábra) az átlag és \pm szórás értékeket feltüntettük. A jelzett szórás értékek mindegyike elhanyagolhatóan kicsi. A variációs koefficiens (CV) értékek mindenütt

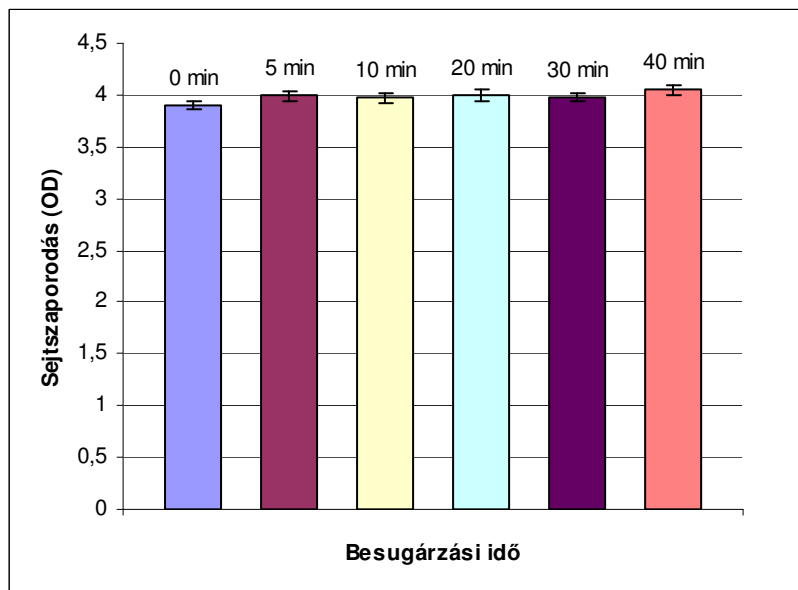
<1%. Ebből megállapítható, hogy a mérőrendszer kellő pontossággal működik.



14. ábra. Különböző besugárzási idők hatása a *Saccharomyces cerevisiae* tápoldatos tenyészeinek növekedésére (besugárzási protokoll: 2,4 GHz, 37 °C, 50 Watt)



15. ábra. Különböző besugárzási idők hatása a *Saccharomyces cerevisiae* tápoldatos tenyészetének növekedésére 615 perc inkubálás esetén (besugárzási protokoll: 2,4 GHz, 37 °C, 50 Watt)

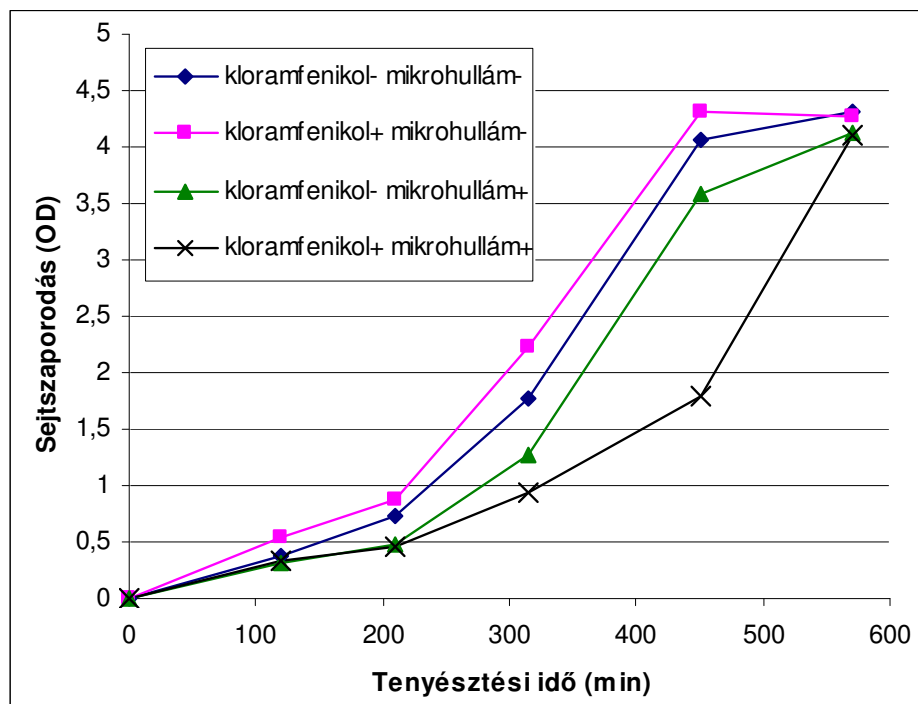


16. ábra. Különböző besugárzási idők hatása a *Saccharomyces cerevisiae* tápoldatos tenyészetének növekedésére 855 perc inkubálás esetén (besugárzási protokoll: 2,4 GHz, 37 °C, 50 Watt)

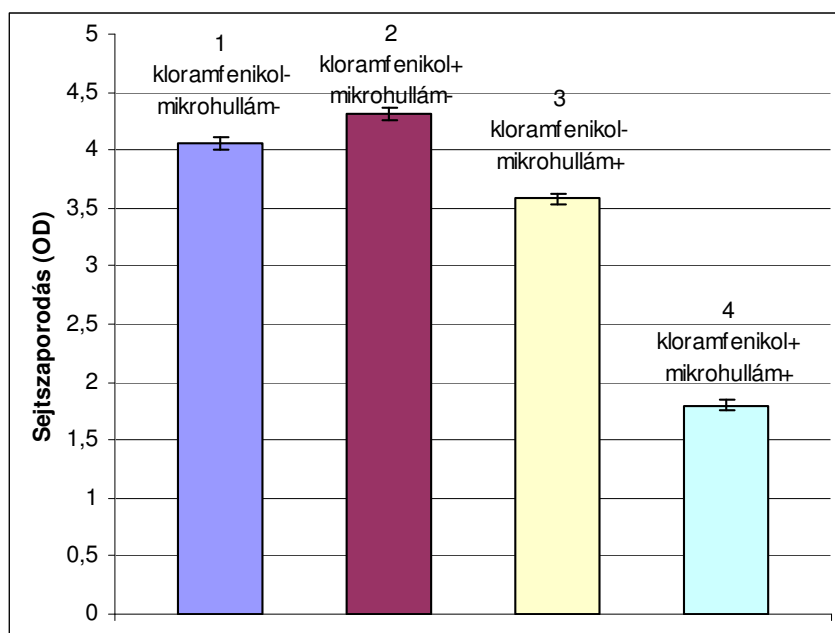
5) *A besugárzás hatása antibiotikumot tartalmazó tápoldatos élesztőtenyészetekre:*

Az élesztőtenyészetek bakteriális kontaminációjának megelőzése, ill. kiküszöbölése miatt széles spektrumú antibakteriális antibiotikumokat, így kezdetben kloramfenikolt adtunk a tápoldathoz. Mivel a kloramfenikolnak normális körülmények között nincs antifungális hatása, nem kellett attól tartanunk, hogy gátolja az élesztő szaporodását. Azt tapasztaltuk azonban, hogy amennyiben a besugárzás ideje alatt a kloramfenikol jelen volt a sejt kultúrában, szaporodásgátló hatás lépett fel (17. ábra). Ez a hatás besugárzás hiányában értelemszerűen elmaradt. A grafikon bemutatja az alapjelenséget, amelynél optimalizált inokulum került alkalmazásra, emiatt az előkísérlethez képest magasabb optikai denzitás látható. Ez magyarázza, hogy míg a 14. ábrán a stacioner fázist (4 OD) 900 perc után éri el a tenyészet, addig a 17. ábrán már fele ennyi idő (450 perc) után 4-es értékű az OD, de a stacioner állapot ekkor még nem látszik a szaporodási görbén. A 17. ábrán a pontok az egyes inkubációs időpontokhoz és besugárzási időtartamhoz tartozó öt párhuzamos mérési adat átlagát jelzik. Adott inkubációs időpontokhoz tartozó pontok között (95%-os szinten) szignifikáns különbség van. A különbség mértéke 450 perces inkubációs időnél a legkifejezettebb (18. ábra). A további oszlopdiagrammokon (19., 20., 21., 22. ábra) is szignifikáns - $p < 0,05$ - különbség van (95%-os szinten) az egyes oszlopok közt. A különbségek pontos értékeit az egyfaktoros varianciaanalízisről szóló táblázatok (5., 6., 7., 8., 9. táblázat) jelzik, melyek az adott oszlopdiagrammokhoz tartoznak.

A kloramfenikol jelenlétében végzett besugárzási vizsgálat többszöri ismétlése alapján biztonsággal kijelenthető, hogy a kísérlet reprodukálható és a megismert jelenség új. Elmondható tehát, hogy egy véletlen körülmény a szakirodalomban ezidáig nem közölt, meglepő jelenség feltárásához vezetett.



17. ábra. A 45 perces mikrohullámú besugárzás és a kloramfenikol (20 mgL^{-1}) együttes hatása a tápoldatos élesztőtenyészetek szaporodására



18. ábra. A 45 perces mikrohullámú besugárzás és a kloramfenikol (20 mgL⁻¹) együttes hatása a tápoldatos élesztőtenyészetek szaporodására 450 perc inkubálás esetén

5. táblázat. A 18. ábrához tartozó statisztikai értékek
Egytényezős varianciaanalízis

ÖSSZESÍTÉS

| Csoportok | Darabszám | Összeg | Átlag | Variancia |
|-----------|-----------|--------|--------|-----------|
| Oszlop 1 | 3 | 12,19 | 4,0633 | 3,33E-05 |
| Oszlop 2 | 3 | 12,94 | 4,3133 | 0,000233 |
| Oszlop 3 | 3 | 10,76 | 3,5867 | 0,000633 |
| Oszlop 4 | 3 | 5,42 | 1,8067 | 0,000833 |

VARIANCIANALÍZIS

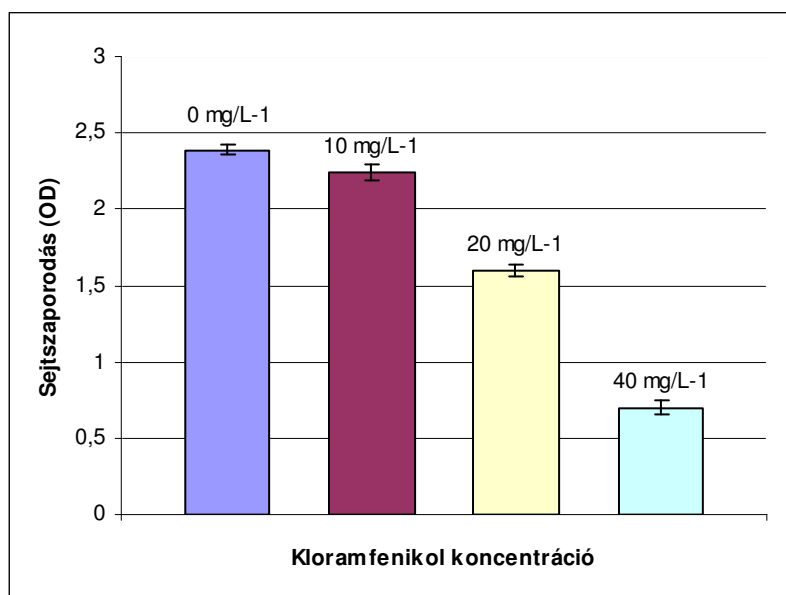
| Tényezők | SS | df | MS | F | p-érték | F _{krit.} |
|------------------|-----------|----|--------|----------|----------|--------------------|
| Csoportok között | 11,521558 | 3 | 3,8405 | 8862,737 | 2,01E-14 | 4,066181 |
| Csoporton belül | 0,0034667 | 8 | 0,0004 | | | |
| Összesen | 11,525025 | 11 | | | | |

Bizonyítottuk, hogy a mikrohullámú besugárzás és az antibiotikum együttes hatása váltja ki a szaporodásgátlást.

Az aminoglikozid típusú gentamicin és neomicin antibakteriális antibiotikumokkal végzett további kísérletek szintén a megfigyelt jelenséget igazolják. Megvizsgáltuk és szignifikáns eredmények alapján kimutattuk, hogy a mikrohullám által kiváltott hatást mind az antibiotikumkoncentráció, mind a besugárzási idő befolyásolja.

6) A besugárzási idő alatt a tápoldatokban lévő eltérő antibiotikum koncentrációk hatásai

Feltételeztük, hogy amennyiben az antibiotikum szaporodásgátló hatását a mikrohullám váltotta ki, akkor konkrét összefüggés áll fenn a gátló hatás mértéke és az antibiotikum koncentrációja között. Megvizsgáltuk a mikrohullám hatását az antibiotikumot különböző koncentrációban tartalmazó tápoldatos tenyészeteken ugyanazon konstans besugárzási paraméterek mellett, azonos kísérleti körülmények között. Megállapítottuk, hogy a szaporodást gátló hatás az antibiotikum koncentráció függvényében nő mindhárom antibiotikum (kloramfenikol, gentamicin és neomycin) esetében (16., 17. és 18. ábra). Az ábra mutatja, hogy besugárzás esetén a különböző kloramfenikol koncentrációk eltérő szaporodás gátlást okozó hatásában a legnagyobb különbség az exponenciális fázisban, 540 perces inkubálási idő után mutatható ki legjobban (16. ábra). Ekkor a mikrohullám a 40 mgL^{-1} kloramfenikol koncentrációjú besugárzott tenyészetben az élesztősejtek szaporodását 70%-ban gátolta a kloramfenikol mentes besugárzatlan tenyészethez viszonyítva.



19. ábra. *S. cerevisiae* szaporodásbeli eltérései különböző kloramfenikolkoncentrációk (0; 10; 20; 40 mgL⁻¹) esetén azonos, 30 perces besugárzás mellett a tápoldatos tenyészetek 540 perces korában

6. táblázat. A 19. ábrához tartozó statisztikai értékek
Egytényezős varianciaanalízis

ÖSSZESÍTÉS

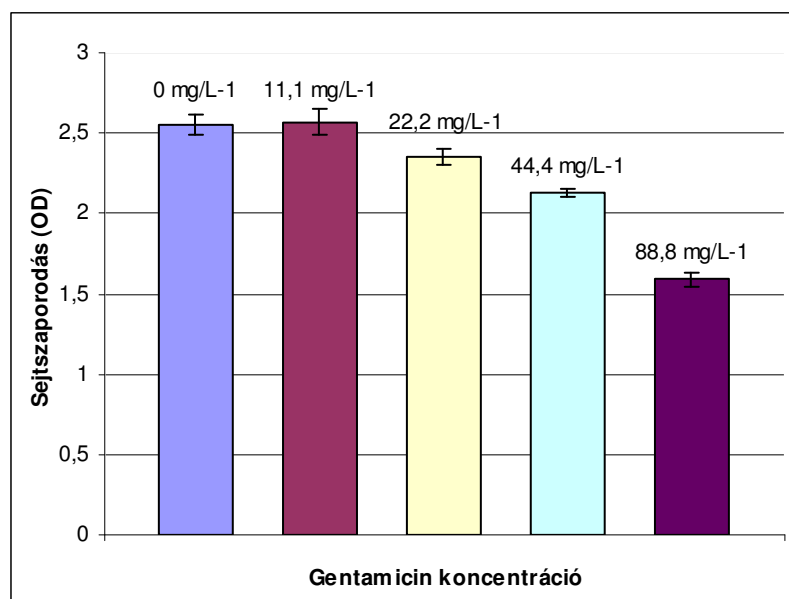
| Csoportok | Darabszám | Összeg | Átlag | Variancia |
|-----------|-----------|--------|--------|-----------|
| Oszlop 1 | 4 | 9,59 | 2,3975 | 0,000758 |
| Oszlop 2 | 4 | 8,99 | 2,2475 | 0,002692 |
| Oszlop 3 | 4 | 6,42 | 1,605 | 0,0019 |
| Oszlop 4 | 4 | 2,82 | 0,705 | 0,002167 |

VARIANCIANALÍZIS

| Tényezők | SS | df | MS | F | p-érték | F _{krit.} |
|------------------|----------|----|--------|----------|----------|--------------------|
| Csoportok között | 7,117225 | 3 | 2,3724 | 1262,479 | 2,91E-15 | 3,490295 |
| Csoporton belül | 0,02255 | 12 | 0,0019 | | | |
| Összesen | 7,139775 | 15 | | | | |

Az aminoglikozidok esetében az eltérő mértékű szaporodásgátló hatás a különböző gentamicin- és neomycin koncentrációk

alkalmazásakor hosszabb inkubálási idő (720, 780 perc) után jelentkezett (17. és 18. ábra), mint a kloramfenikol esetében.



20. ábra. Elterő mértékben felszaporodott *S. cerevisiae* a különböző gentamicin koncentrációjú (0; 11,1; 22,2; 44,4; 88,8 mgL⁻¹), 720 perces korú, 30 perces besugarazott tápoldatos tenyészetekben

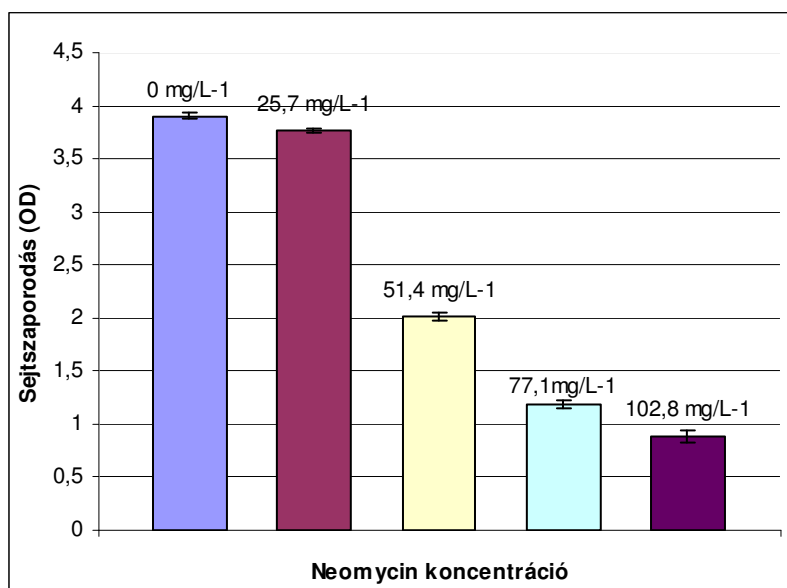
7. táblázat. A 20. ábrához tartozó statisztikai értékek
Egytényezős varianciaanalízis

ÖSSZESÍTÉS

| Csoportok | Darabszám | Összeg | Átlag | Variancia |
|-----------|-----------|--------|-------|-----------|
| Oszlop 1 | 5 | 12,76 | 2,552 | 0,00422 |
| Oszlop 2 | 5 | 12,87 | 2,574 | 0,00658 |
| Oszlop 3 | 5 | 11,75 | 2,35 | 0,0028 |
| Oszlop 4 | 5 | 10,625 | 2,125 | 0,000725 |
| Oszlop 5 | 5 | 7,98 | 1,596 | 0,00168 |

VARIANCIANALÍZIS

| Tényezők | SS | df | MS | F | p-érték | F _{krit.} |
|------------------|----------|----|-------|----------|----------|--------------------|
| Csoportok között | 3,244796 | 4 | 0,811 | 253,4205 | 7,95E-17 | 2,866081 |
| Csoporton belül | 0,06402 | 20 | 0,003 | | | |
| Összesen | 3,308816 | 24 | | | | |



21. ábra. Eltérő mértékben felszaporodott *S. cerevisiae* a különböző neomycin koncentrációjú (0; 25,7; 51,4; 77,1; 102,8 mgL⁻¹), 780 perces korú, 30 percg besugarazott tápoldatos tenyészetekben

8. táblázat. A 21. ábrához tartozó statisztikai értékek
Egytényezős varianciaanalízis

ÖSSZESÍTÉS

| Csoportok | Darabszám | Összeg | Átlag | Variancia |
|-----------|-----------|--------|-------|-----------|
| Oszlop 1 | 4 | 15,62 | 3,905 | 0,0011 |
| Oszlop 2 | 4 | 15,03 | 3,758 | 0,000358 |
| Oszlop 3 | 4 | 8,07 | 2,018 | 0,001892 |
| Oszlop 4 | 4 | 4,73 | 1,183 | 0,001225 |
| Oszlop 5 | 4 | 3,55 | 0,888 | 0,003492 |

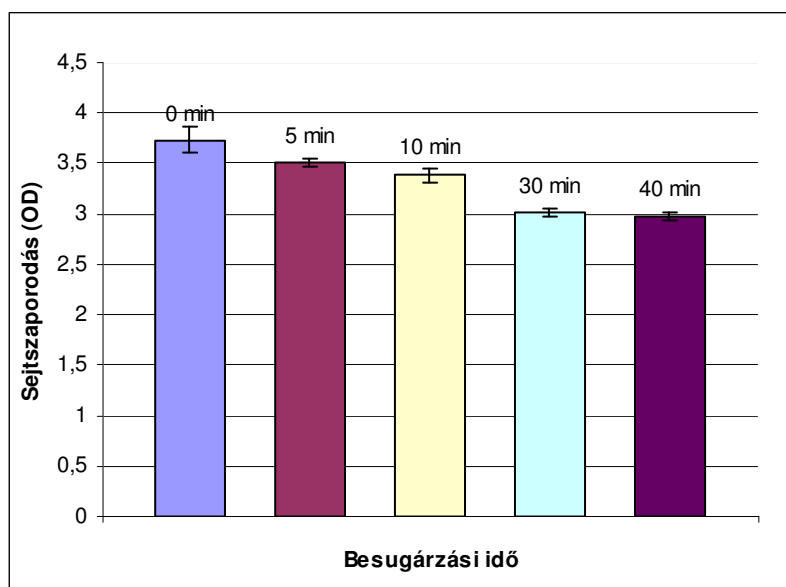
VARIANCIANALÍZIS

| Tényezők | SS | df | MS | F | p-érték | F _{krit.} |
|------------------|---------|----|-------|----------|---------|--------------------|
| Csoportok között | 32,0464 | 4 | 8,012 | 4965,868 | 3,3E-23 | 3,055568 |
| Csoporton belül | 0,0242 | 15 | 0,002 | | | |
| Összesen | 32,0706 | 19 | | | | |

7) *Különböző besugárzási időtartamok hatásai azonos*

antibiotikum koncentrációjú tápoldatos tenyészetek esetén:

A mikrohullám hatásait különböző besugárzási idők esetén, de fix egyéb besugárzási paraméterek (2,4 GHz, 37 °C, 50W) mellett vizsgáltuk konstans antibiotikum koncentrációjú tápoldatos tenyészetekben. Irodalmi adatok megerősítik, hogy a besugárzási idő növekedésével nő a sejtmortalitás a vizsgált sejtípus és alkalmazott mikrohullámú sugárzástípus esetén. Mindhárom antibiotikum esetén kimutattuk, hogy bizonyos besugárzási időtartam után nem nő a mikrohullám gátló hatása. Eltérő besugárzási idők fix antibiotikum koncentráció esetén eltérő szaporodási ütemet okoznak, de nem okoznak olyan nagy mértékű különbséget a szaporodás gátlásában, mint az eltérő antibiotikum koncentrációk konstans besugárzás mellett. A kloramfenikol és az aminoglikozidok között az inkubáció folyamata során nincs számottevő eltérés a különböző besugárzási időtartamok fix koncentráció melletti gátló hatásában. 500 perces inkubációs idő után jelentkezik az eltérő besugárzási időtartamok (0, 5, 10, 30, 40 min) okozta legnagyobb fokú eltérés a szaporodási ütemben a tápoldatok fix kloramfenikol (20 mgL^{-1}) tartalma mellett. Ez konkrét összefüggésként ábrázolható (19. ábra).



22. ábra. Azonos kloramfenikolkoncentráció (20 mgL^{-1}) mellett vizsgált különböző besugárzási idők (0; 5; 10; 30; 40 min) hatása a tápoldatos tenyészet növekedésére (A tenyészet kora: 500 perc)

9. táblázat. A 22. ábrához tartozó statisztikai értékek
Egytényezős varianciaanalízis

ÖSSZESÍTÉS

| Csoportok | Darabszám | Összeg | Átlag | Variancia |
|-----------|-----------|--------|-------|-----------|
| Oszlop 1 | 5 | 18,65 | 3,73 | 0,01585 |
| Oszlop 2 | 5 | 17,58 | 3,516 | 0,00193 |
| Oszlop 3 | 5 | 16,9 | 3,38 | 0,0038 |
| Oszlop 4 | 5 | 17,79 | 3,558 | 0,00447 |
| Oszlop 5 | 5 | 15,05 | 3,01 | 0,00115 |
| Oszlop 6 | 5 | 14,87 | 2,974 | 0,00143 |

VARIANCIANALÍZIS

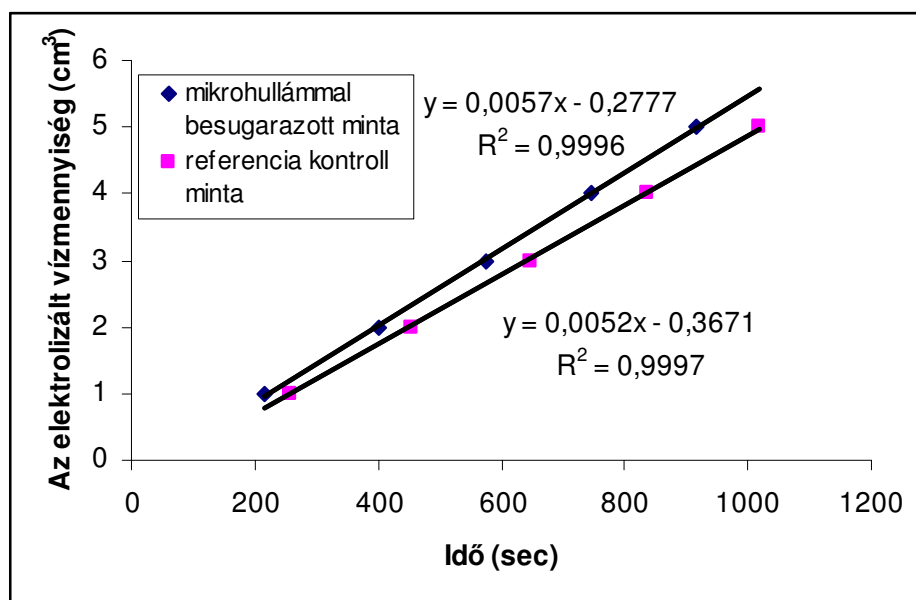
| Tényezők | SS | df | MS | F | p-érték | $F_{krit.}$ |
|------------------|-----------|----|--------|---------|---------|-------------|
| Csoportok között | 2,3616267 | 5 | 0,4723 | 98,9854 | 3,3E-15 | 2,620654 |
| Csoporton belül | 0,11452 | 24 | 0,0048 | | | |
| Összesen | 2,4761467 | 29 | | | | |

Tisztáztuk, mi történik antibakteriális antibiotikum hatására az eukariotikus sejtekkel besugárzás hatására. Tisztáztuk azt is, hogy eltérő besugárzási időtartamok és a tápoldatok más-más antibiotikum koncentrációi befolyásolják az élesztősejtek antibiotikum felvételét és az okozott hatás mértékét. A megfigyelt jelenség hátterében lévő mechanizmus pontosabb megértéséhez és tisztázásához további kutatás szükséges.

4.2. A 2,45 GHz mikrohullám hatása a vízre

8) A mikrohullámú besugárzás hatása a vizes közeg elektrolízisére

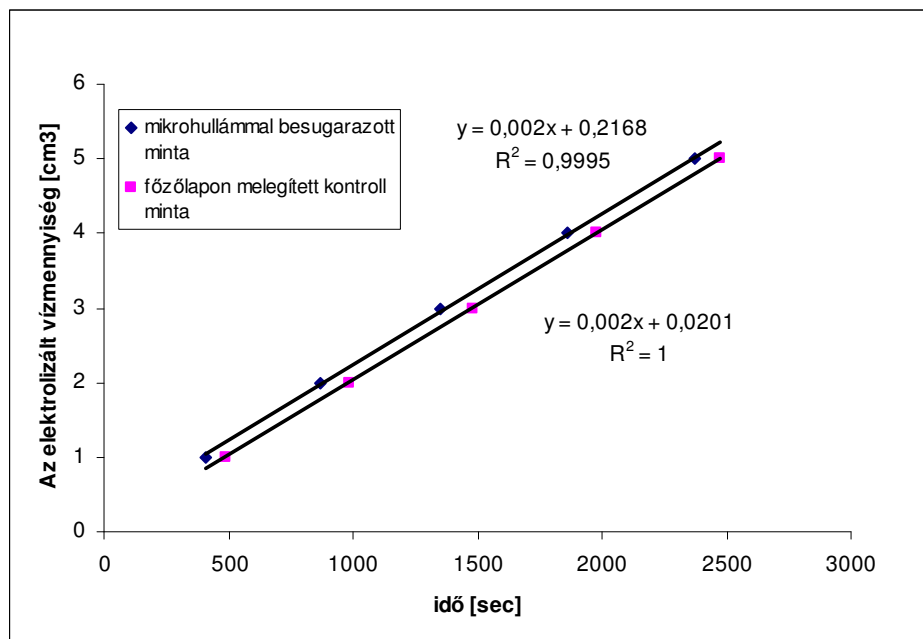
A nem ionizáló sugárzás hatását a dipólusos tulajdonságú vízmolekulára az elektrolízis sebességével mértük. Az elektrolízis sebessége 24 V alkalmazásakor volt a legnagyobb, azaz 24 V alkalmazása mellett egyértelmű különbség (13%) volt a mikrohullámmal besugarazott NaCl-oldat és a besugárzás és melegítésmentes kontrollminta elektrolízisének sebességértéke között (23. ábra).



23. ábra. A besugarazott és a besugárzás- és melegítésmentes referencia kontrollminta elektrolízisének sebessége

9) A mikrohullám nemtermikus hatása a vizes közeg elektrolízisére

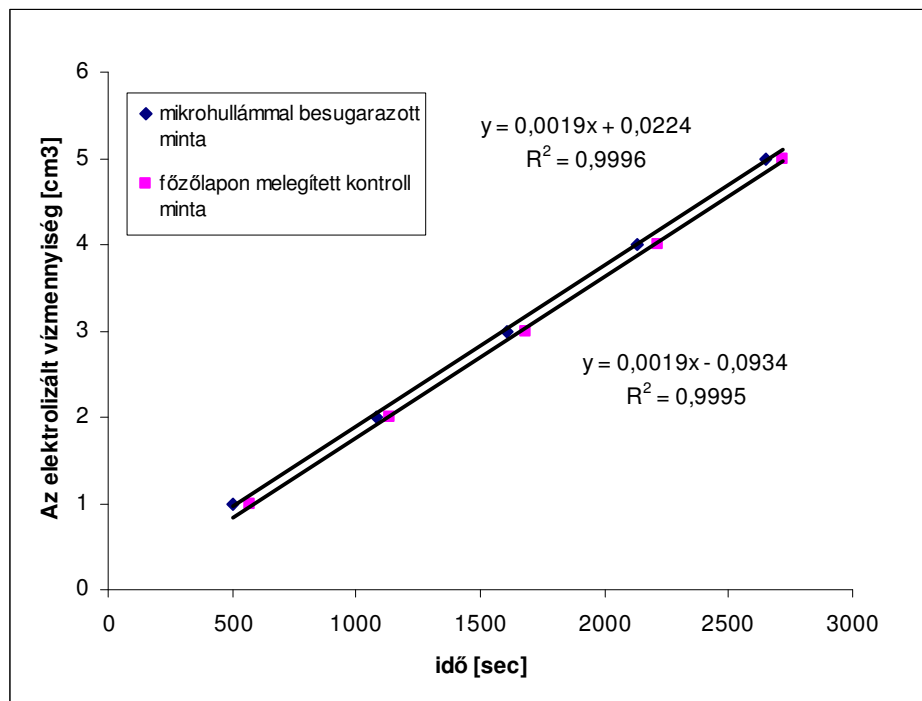
A nemtermikus hatást vizsgáló kísérletsorozat eredményei szerint a besugározott minta elektrolízisének sebessége 12V feszültségnél 10%-kal nagyobb volt, mint az ugyanolyan melegítési paraméterek mellett, főzőlapon melegített kontrollmintáé (24. ábra)



24. ábra. A besugározott vizes minta és a főzőlapon melegített kontrollminta elektrolízise közvetlenül a fizikai behatást követően

10) A mikrohullámú hatás fennmaradási ideje a besugárzás után

A besugározott minta elektrolízisebessége a besugárzás utáni 24., illetve 48. órában is nagyobb volt bármelyik kontrollmintáénál (25. ábra). A kísérletek alapján a vizes közeg képes volt megőrizni az alacsony intenzitású mikrohullám hatását még 48 órával a besugárzást követően is. Az egyfaktoros varianciaanalízis szignifikanciaértéke 95%, a főzőlapon melegített és a besugározott minták különbsége alapján.



25. ábra. A besugározott vizesközeg és a főzőlapon melegített kontrollminta elektrolízise a fizikai hatás után 48 órával

A pH-értékében a besugárzás előtt és után nem volt változás egyik kísérletben sem. Az elektrolízis ideje alatt a kémhatás pH=7.10-től pH=10.28-ig folyamatosan nőtt.

A vizes mintákkal végzett vizsgálatok eredményei alapján összességében a mikrohullámmal besugározott minta elektrolízise

egyértelműen gyorsabb, mint a főzőlapon melegített, illetve fizikai kezeléstől mentes minták esetében.

Kijelenthető tehát, hogy a mikrohullám hatással van a különböző anyagok közül a vízre is, a vízmolekula dipólusos jellege és inhomogén töltéeloszlása miatt. A mikrohullám által indukált hatás a besugárzást követően nem szűnik meg azonnal, hanem egy bizonyos ideig képes fennmaradni. A vízmolekula bizonyos besugárzási paraméterek mellett feltehetően orientált struktúrát hoz létre, amit bizonyos ideig megőriz, majd feltehetően reorganizálódik. Mivel a víz az anyagok alapvető és nélkülözhetetlen közege, jelenléte közvetett hatással lehet minden mikrohullámmal besugárzott anyagra.

5. EREDMÉNYEK MEGVITATÁSA

Kutatásunk során új jelenséget ismertünk meg. Nevezetesen az antibakteriális antibiotikumok gátolták az eukariotikus élesztősejt szaporodását, abban és csakis abban az esetben, ha egyidejűleg mikrohullámú besugárzás is történt. Ezt megalapozott szakirodalmi adatokkal nem tudjuk alátámasztani, és a jelenség magyarázatára is feltételezéseink vannak csupán.

A kontamináció elkerülése végett használt kloramfenikol, gentamicin, vagy neomycin antibiotikumok közismerten a prokarióta szervezetek ellen hatásosak. Támadáspontjuk a prokariotikus sejtek riboszómái, ahol a megfelelő kötőhelyre bekötődnek, és gátolják a fehérjeszintézist. Ez a sejt szaporodásának gátlását, illetve pusztulását okozza. A gátlás kifejtéséhez az antibiotikumnak el kell jutnia a sejten belül lokalizálódó támadáspontjához. Ez a folyamat a prokariotikus sejtekben zavartalanul megtörténik. Tehát a sejten kívüli térből a protocelluláris proteinszintézist gátló antibiotikum akadály nélkül halad a prokariotikus sejthártyán át a citoplazmában lévő támadáspontjához.

Normál fiziológiás körülmények között a vizsgált antibiotikumok az eukariotikus élesztősejtek ellen nem hatásosak, mert azok sejtjeibe valószínűleg nem tudnak bejutni (Gyires és mtsai, 2011), vagy ha bejutnak is, nincs meg a megfelelő támadási pontjuk (Yonath és Bashan, 2004). Ahhoz, hogy az antibiotikum kifejthesse gátló hatását az élesztősejtekre, el kell érnie és be kell kötődnie támadáspontjához. A mikrohullámú besugárzás ezt a folyamatot látszik elősegíteni.

A riboszómák a fehérjeszintézis olyan helyszínei a sejten belül, amelyek a legfőbb támadáspontjai a természetes és mesterségesen

előállított antibiotikumoknak (Schlünzen és mtsai, 2001). A riboszóma riboszomális (r)RNS-ből és fehérjékből álló sejtszervecske, amely a fehérjeszintézis helyszínét képezi. Minden élőlény sejtjeiben megtalálhatóak, nagyobb számban a citoplazmában, a durva endoplazmatikus retikulum felszínén, a mitokondriumokban és a plazmiszokban fordulnak elő. Hangsúlyozandó, hogy az élesztősejtnek kétfajta riboszómája van. Az eukariotikus típusú riboszómái a citoplazmában, a prokariotikus típusú riboszómaszerelvényei a sejtszervekben találhatóak (Griffin, 1993).

A kloramfenikol támadáspontja a prokariotikus riboszóma. Ilyen prokarióta típusú riboszómák az eukariotikus sejtek mitokondriumaiban is vannak. Ennek magyarázata az endoszimbionta elméletben fogalmazódik meg (Alberts és mtsai, 2008; Fischer, 2000; Gabaldón és mtsai, 2007). Nevezetesen a mitokondriumok az eukarióták olyan sejtorganelumai, melyek a sejt túlélése szempontjából nélkülözhetetlenek. Fő funkciójuk az ATP-szintézis, a sejtműködéshez szükséges energiaellátás biztosítása. Saját DNS-sel, transzkripció és transláció mechanizmussal rendelkeznek (Alberts és mtsai, 2008). A mitokondrium prokariotikus eredetű sejt szerv, ezért riboszómái protocelluláris típusúak, amik feltehetően hozzáférhető támadáspontok az antibiotikum számára. Az antibakteriális antibiotikumok olyan protocelluláris típusú proteinszintézist gátló anyagok, melyek a prokariotikus típusú membránokon képesek átjutni. Tehát a prokarióta organizmusok sejtthártyáján és a mitokondrium membránján is könnyen átjutnak, mert ez a sejt szerv az öt körülvevő membránnal együtt prokariotikus eredetű (Griffin, 1993).

A prokarióta és eukarióta szervezetek sejthártyája viszont lényegesen különbözik egymástól. Az eukariotikus plazmamembrán ebben az értelemben akadályt jelent az antibakteriális antibiotikum számára abban, hogy az a sejten belüli támadáspontjához juthasson. Az egyes gátló anyagok hatáskifejtése szempontjából nem közömbös a sejthártya szerkezete és összetétele. A különböző mikroorganizmusokkal és sejttípusokkal szemben szelektíven viselkednek ezek az anyagok. A fungicidok például csak a gombák ellen hatásosak, sem a gazdaszervezetet, sem a prokariotikus szervezetet nem gátolják. Az Oomycota törzshöz tartozó gombaszerű szervezetek („moszatgombák”) rendszertanilag, anatómiailag és élettanilag is eltérnek az ún. valódi gombáktól (Griffith és mtsai, 1992), ezért az általános fungicidok hatástalanok velük szemben és fordítva. Ennek oka ez, hogy a két taxon képviselői különböznek sejtfal- és membránszerkezetükben egyaránt (Cohen és Coffey, 1986). Az antifungális szerek a sejthártya működését különböző utakon tudják megtámadni. Sok molekula a sejthártya szterolbioszintézise útján fejt ki hatását (Köller, 1992). A polién típusú (pl. nisztatin) hatóanyagok a membrán ergoszterolmolekuláival komplexet képezve lehetetlenné teszik a valódi gombák sejthártyaműködését. Az ún. moszatgombák és a baktériumok azért nem érzékenyek erre az anyagra, mert membránjukból hiányzik ez a szterolvegyület.

Az antibakteriális antibiotikumokkal ellentétben az antifungális szerek akadálytalanul bejutnak az élesztősejtekbe és más gombákba. Ennek okát azonban nem tudjuk, mert a hatásmechanizmusuk pontosan nem ismert.

A vizsgálati eredmények alapján kizárásos alapon csak arra tudunk következtetni, hogy az élesztőt gátló hatás kifejtéséhez a

táplódatban lévő antibiotikumoknak valamilyen módon be kell jutniuk a sejthártyán keresztül a citoplazmába, majd onnan tovább a támadáspontjaikhoz, a mitokondriumok belsejében lévő riboszómákhoz.

A kloramfenikollal és az aminoglükózid antibakteriális antibiotikumokkal szemben a baktériumok rezisztenssé válhatnak. Az aminoglükózid-hatóanyagokkal szembeni rezisztencia három különböző okra vezethető vissza (Barcs, 2009). Az egyik, hogy a baktérium sejthártyájának átteresztőképessége csökken, így az aminoglükózid-molekula számára átjárhatatlanná válik. Ritkán ez történhet úgy is, hogy egy hibás transzportfolyamat miatt a molekula nem tudja elérni támadáspontját. A másik ok olyan mutációban kereshető, ami az antibiotikum bekötődési helyein, a riboszómákon következik be. A harmadik és egyben legnagyobb rezisztenciát kiváltó ok az aminoglükózid-molekulát módosító enzimek működésével kapcsolatos eredmény. Ezek az enzimek az aminoglükózid-molekula bármely érzékeny pontján reakcióba lépnek (Gilbert, 2000; Kucers és mtsai, 1997; Mingeot-Leclercq és mtsai, 1999).

A kloramfenikollal szemben szintén három rezisztenciamechanizmus ismert a prokariotikus mikrobák körében. Az egyik a sejthártya csökkent átteresztőképessége. A másik az 50S riboszóma-alegység mutációja. A harmadik és legmagasabb fokú rezisztenciát a *cat*-gén által kódolt kloramfenikol-acetiltranszferáz enzim eredményezi, amely egy acetilcsoportot kovalens kötéssel a kloramfenikolmolekulához kapcsol, ami így teljesen működésképtelenné válik, mert nem tud bekötődni a riboszómához.

A besugárzás hatására az antibakteriális antibiotikumokkal szemben eredetileg ellenálló *S.cerevisae* M26 törzsben

antibiotikumérzékenység váltható ki (Szerencsi és mtsai, 2010). Feltételezzük, hogy ennek az az oka, hogy a sejt plazmamembránjának áteresztőképessége megváltozik, ami a mikrohullám hatására következik be. Tehát a mikrohullám ezt a rezisztencia-mechanizmust képes megszüntetni.

A kloramfenikol hidrofób tulajdonsága miatt folyékony vizes közegben csak megfelelően magas hőmérsékleten oldódik. A molekula töltés–méret aránya nem kedvez annak, hogy a sejthártyán keresztül bejusson az élesztősejtbe. A gentamicin és neomycin hidrofil molekulák, így könnyen oldódnak a tápoldatban és más vizes közegekben. Hidrofil mivoltuk miatt azonban a sejthártya lipofil részén nem jutnak át. A besugárzás és inkubálás ideje alatt fenntartott 37 °C-os hőmérséklet nem magas az antibiotikum szempontjából. Tehát a sugárzás – a 37 °C feletti hőhatás kiszűrésével – számottevően nem befolyásolja a tápoldatban előzetesen feloldott antibiotikummolekulák mozgékonyágát, illetve sejtbe történő transzportját. A 2,4 GHz-es elektromágneses sugárzás ugyanakkor hatással lehet az antibiotikummolekulákra, de ez inkább a nemtermikus hatásnak tulajdonítható.

A töltéssel rendelkező molekulákra befolyással van a besugárzás, így a kloramfenikol, gentamicin és neomycin töltött részeire is hatással lehet függetlenül attól, hogy apoláros vagy poláros részecskékről van-e szó. Mikrohullám hatására az antibiotikummolekulák mozgásában, energiájában, a konformációstabilitásában változás következhet be. A sugárzás energiáttranszfer útján módosíthatja azokat a folyamatokat és hatásokat, amikben a vizsgált antibiotikummolekulák részt vesznek. Feltehetően könnyebben fejt ki hatását a besugárzott közegben jelenlévő antibiotikum. Nacsá és mtsai (2008) azt tapasztalták, hogy a

mikrohullámú besugárzás nem okozott kémiai változást a vízben kevésbé oldódó loratadin-hatóanyag molekulájában. A gyógyszerek összetevői vízben többnyire kevésbé oldódó molekulák, azonban mikrohullámú eljárás hatására könnyebben oldódnak.

Optimalizált besugárzás: A nagy frekvenciájú mikrohullám nagy dózisban destruktív és sejtpusztító hatású (Im-Sun és mtsai, 2000). A vizsgálatainkban alkalmazott mikrohullámú besugárzási körülmények azonban megfelelőek voltak, mert nem változtatták a *S. cerevisiae* fiziológiai szaporodási jellemzőit. A besugárzott és kontrolltenyészetek számára egyaránt biztosított 37 °C-os konstans hőmérséklet optimális volt az élesztősejtek szaporításához.

Az élő sejt membránja csak meghatározott hőmérséklet-tartományban félfolyékony (szemifluid) állapotú. Inflexiós pontjához meghatározott hőmérsékletérték (37 °C) rendelhető, ezért a termikus és a nemtermikus hatás ebből a szempontból nem választható el egymástól. A különböző sejtípusok membránjainak összetétele az egyes szövettípusok szerint más és más, és a poikilotermia függvényében folyamatosan átalakul. Ahhoz, hogy a mikrohullámú hatás kifejthető legyen, az érzékeny hőtartományban kell a besugárzást alkalmazni. A vizsgálatainkban biztosított 37 °C besugárzási hőmérsékletérték a sejthártya szempontjából megfelelő volt. Mivel azonban a besugárzás ideje alatt szintén 37 °C hőmérsékleten inkubált antibiotikumtartalmú tápoldatos tenyészetek esetében nem tapasztalható a szaporodásgátló hatás, a kimutatott változásokat nem a hőhatás, hanem inkább a mikrohullám nemtermikus hatása okozza. Az újonnan tapasztalt biológiai hatás a kísérletes úton optimalizált besugárzás nemtermikus hatásának tulajdonítható.

Mindemellett nem hagyható figyelmen kívül az a tény, hogy kutatási eredményeink (Szerencsi és mtsai, 2009) és szakirodalmi adatok alapján a besugárzás hatással van a vízre, mely az élet szempontjából nélkülözhetetlen a vízre, annak dipólusos jellege és inhomogén töltéeloszlása miatt. A mikrohullám a vizes közegekben egyrészt változást idéz elő. Másrészt a víz olyan folyékony anyag, mely képes és alkalmas arra, hogy bizonyos ideig megőrizze a keltett változásokat. Ez az ún. vízmemória (Fesenko és mtsai, 1995; Rai és mtsai, 1994) kísérleteinkben a vártnál hosszabb ideig fennmaradt. Mivel a víz a tápoldatban is jelen van, a besugárzáskor a mikrohullám egyidejűleg rá is hat. A besugárzott vizes közeg közvetetten befolyásolhatja és módosíthatja a tápoldatos élesztőtényeszetek folyamatait, így feltehetően szerepe van az antibiotikum és besugárzás együttes hatásának kialakításában. Ez az egyik valószínűsíthető oka lehet annak, hogy az antibiotikum a hatását könnyebben fejtheti ki. A víz a sugárzás okozta változást hordozó közeg, mely a módosító hatást megőrzi, így egyúttal időben tartósabbá teheti.

Napjainkig nincs pontos és általánosan elfogadott magyarázat arra vonatkozóan, hogy mi az elektromágneses sugárzás sejtekre kifejtett hatásának alapmechanizmusa. A mikrohullámú sugárzások, és biológiai hatásaik kutatása egészen újszerű ismeretekhez vezethet egyes folyamatoknál. Ilyenek például a sejtmembránon történő vagy intracelluláris térben zajló folyamatok. Az elektromágneses környezet gyors változása, a közegészségügyi problémák felszínre kerülése és a tudományos kutatás versenyben állnak. Több kutatási eredmény szerint a kis térerejű elektromos jel hatással van a sejtmembránra, mert azon elektrokémiai kölcsönhatásokat indukál (Panagopoulus és mtsai, 2002).

Ezek a sejt belsejébe az intracelluláris térbe transzdukálódva az ott zajló biokémiai folyamatokat úgy befolyásolhatják, hogy a sejt működésében változás következhet be (Banik és mtsai, 2002). Az élő sejt a biológia alapegysége, így minden ami vele történik, annak a sejtmembránon keresztül kell zajlania.

A sugárhatás sejten belüli objektumai az ionok, illetve a dipólusos karakterű kis és makromolekulák. Feltételezik, hogy az ionvibráció a felelős az oszcilláló elektromágneses mezők megfigyelt hatásaiért (Panagopoulos és mtsai, 2000; Panagopoulos és mtsai, 2002).

Ha a gerjesztett oszcilláció meghalad egy határértéket, akkor a sejtmembrán molekulaszervezete és ennek következtében átteresztőképessége is megváltozik. Alacsonyabb frekvenciaértékeknél a hatás kifejezettebb, mert az elmozdulások amplitúdója a frekvenciával fordítottan arányos. Fröhlich (1968) szerint az alternáló elektromágneses mezők által molekulaszinten gerjesztett kooperatív erő okozhatja a membránstruktúra összenyomhatóságát, illetve fellazíthatóságát úgy, hogy a foszfolipid-molekulák közt pórusok képződhetnek. Ezzel szemben Adair (2002) arra a következtetésre jutott, hogy a rádiófrekvenciás sugárzás által okozott vibrációs mozgások túl kicsik ahhoz, hogy megváltoztathassák a membránstruktúra biológiai integritását és funkcióját. Feltételezzük, hogy a félig folyékony membránban az elektromágneses sugárzás megváltoztathatja a töltött részecskéket.

Az élesztősejteken folytatott kísérleteink során megfigyelt jelenséget a besugárzás alatt fellépő reverzibilis membránpermeabilitásváltozás okozhatja. A mikrohullám feltehetőleg átmeneti változást idéz elő a sejtmembránban úgy, hogy átmenetileg megváltoztatja a sejthártya

kettős lipidrétegét alkotó foszfolipid-molekulák motilitását azáltal, hogy a molekulák láncában rotációt, azaz forgó mozgást kelt (Orlando és mtsai, 1994). A kettős lipidrétegen belül a molekulák különböző mozgástípusainak intenzitása megnövekszik. Mind a sejtártya síkjában laterálisan történő forgó és rezgő mozgás, mind a sejtmembrán síkjára merőleges transzverzális flip-flop mozgásban aktivitásnövekedés következik be. Ez a foszfolipid- molekulák közt a pórusok képződését fokozza, amelyeken olyan anyagok is átjuthatnak, amelyek normál körülmények közt erre nem képesek. A sejtmembrán így átjárhatóvá válik olyan anyagokkal szemben, melyek normál körülmények közt nem tudnak bejutni a sejtbe. Feltételezik a sejtmembrán elektromágneses átjárhatóságát a mikrohullámú frekvenciákon, ezért a sejten belüli állomány (intracelluláris tér) funkcionális működésében és anyagcseréjében feltételeznek változásokat (Adey, 1990). Az eredmények egy része tranziens, azaz csak a sugárzás ideje alatt fellépő hatásokról számol be (Thuróczy, 1998). Feltételezhető tehát, hogy a mikrohullám hatására az antibakteriális antibiotikumok is a vázolt mechanizmus révén jutnak az élesztősejtbe.

Összefoglalva az előzményeket leszögezhetjük, hogy a mikrohullám hatásának objektumai az ionok, illetve a dipólus karakterű kis és makromolekulák. A besugárzás hatással van a vízre is, mely mindenütt jelen van élő szervezetekben, illetve a folyékony tápközegekben. A mikrohullám mindazonáltal hatással lehet a vizsgált antibiotikum-molekulákra, illetve azokra a folyamatokra, melyekben a kloramfenikol, gentamicin és neomycin részt vesznek és hatásukat kifejtik. Befolyásolhatja továbbá a sejt plazmamembránjának szerkezetét és működését, az itt zajló transzportfolyamatokat.

A mikrohullámú besugárzásos vizsgálatok céljából létrehozott kísérleti sejtrendszer jól megismert fiziológiai tulajdonságai révén alkalmas a mikrohullámú sugárzás egyes hatásainak kutatására és tanulmányozására. Az alkalmazott besugárzási protokoll hatékony eszköze lehet olyan molekulák sejtbe történő bejuttatásának, melyeket normál fiziológiai körülmények között a sejtek nem vesznek fel. A sugárzás okozta permeabilitásváltozás molekuláris mechanizmusának pontos megértéséhez és tisztázásához további kutatás szükséges.

A rádiófrekvenciás elektromágneses sugárzásról rengeteg és nagyon sokféle szakirodalmi adat olvasható attól függően, hogy milyen az alkalmazott frekvencia, teljesítmény, moduláció, besugárzási időtartam. A tudományos eredmények, vélemények és ezek interpretációi nagyon eltérőek. Ennek oka, hogy a vizsgálatokat más-más paraméterű, különböző típusú készülékkel végzik, és az egyes kísérleti objektumokon eltérő frekvenciákat, modulációkat valamint dózis-hatásokat vizsgálnak. Napjaink széleskörűen kutatott témája a mikrohullámú sugárzás, de az eredmények nem konkluzívak, hanem akár ellentmondóak és emiatt egymással nem összevethetők, éppen a vázolt okok miatt. Az intenzív kutatás ellenére az elektromágneses sugárzás hatásai kevésbé ismertek, felderítetlenek. Különösen a biológiai hatásokkal fontos foglalkozni, hiszen a sugárzásnak lehetnek az egészségre és a közvetlen környezetre nézve veszélyes következményei. Meghatározott mikrohullámú besugárzás véletlen hatásaként normál körülmények között bejutni képtelen anyagok transzportálódhatnak a sejtekbe, aminek jelentős, adott esetben veszélyes következményei lehetnek a különböző élő szervezetekben. Mindennapjainkban egyes ételünk mikrohullámú melegítésekor az élelmiszerben lévő anyagok

fizikokémiai reakciója során olyan reaktív molekulák és bomlástermékek keletkezhetnek, melyek a szervezetbe jutva az egészségre ártalmasak. A mikrohullám kutatott és újonnan megismert hatásai ugyanakkor kedvezőek is lehetnek, különböző célokra alkalmazhatók és gyakorlati felhasználásra kerülhetnek, mint például a mikrohullámú sütőé.

Mivel a vizsgálataink során feltárt jelenség is egy eddig ismeretlen biológiai hatással kapcsolatos, valószínűleg számos egyéb új eredmény lát napvilágot e területen, melyek kutatása ezért mindenképpen indokolt.

6. ÖSSZEFOGLALÁS

Napjainkban fokozott figyelem kíséri a nagy frekvenciájú mikrohullámú sugárzás különböző hatásait. Ezek ismerete nem kielégítő. Különösen a biológiai hatások felderítetlenek, így kutatásuk nélkülözhetetlen.

A sugárzás következtében felléphetnek az egészségre és a közvetlen biológiai környezetre veszélyes hatások, de olyan újonnan megismert hatások is, melyek a gyakorlati alkalmazás során különböző eljárások új módszerei lehetnek. A mikrohullámú sugárzás biológiai objektumokra gyakorolt hatásairól egymásnak ellentmondó eredmények és értelmezések szerepelnek a szakirodalomban. A mikrohullám nemtermikus hatása elismert, de erről lényegesen kevesebbet tudunk, mint a termikus hatásról. Nemtermikus hatásról akkor beszélünk, amikor a besugárzott élő objektumban nincs hőmérséklet-emelkedés. Egy-egy konkrét besugárzás meghatározott hatást vált ki, melynek pontos megismerése célzott vizsgálattal valósítható meg.

Ennek érdekében kutatásaink a 2,45 GHz frekvenciájú mikrohullámú sugárzás nemtermikus hatására irányultak. A vizsgálatok célja a besugárzás *Saccharomyces cerevisiae* (pékélesztőre), mindenekelőtt a sejtmembránra, illetve a vízre mint a folyékony biológiai médiumok nélkülözhetetlen alkotórészére gyakorolt hatásainak felderítése. Célkitűzéseink a következők voltak:

- Választ kerestünk arra, hogy a 2,45 GHz frekvenciájú 37 °C konstans hőmérsékletű besugárzás milyen hatással van az élesztőre, és esetében kimutatható-e ún. biológiai hatás?

-
- Kérdésünk volt, hogy milyen változások következnek be a sejtmembránon, mely az élő sejtet kívülről határoló első és alapvető barrier.
 - Szerettük volna megismerni a 2,45 GHz frekvenciájú folyamatos mikrohullámú besugárzás vizes közegre kifejtett hatását, a bekövetkezett változások mibenlétét.
 - Kutatásainkat abban a reményben végeztük, hogy az említett célok teljesülésével bővíteni tudjuk a mikrohullámú sugárzással foglalkozó alapkutatás ismeretanyagát.

A mikrohullám nemtermikus hatását élő sejtrendszeren kimutattuk. A vizsgálatokat a *Saccharomyces cerevisiae* M26 törzs tápoldatos tenyészetein konstans hőmérsékletű (37 °C) besugárzási protokoll alapján 2,45 GHz, 400 W 12%-os teljesítményleadás mellett végeztük. Ez az optimalizált besugárzás önmagában nem változtatta meg a vizsgált élesztőtörzs életképességét és szaporodási profilját sem.

A besugárzásos kísérletek során a szakirodalomban eddig nem említett, új jelenséget ismertünk fel. Ehhez az a véletlen körülmény vezetett, hogy a kontamináció elkerülése miatt az élesztőtörzs tápoldatos tenyészetéhez kloramfenikolt adtunk. Ez a széles spektrumú, antibakteriális, de nem antifungális antibiotikum normál körülmények között az élesztősejtekre hatástalan, nem gátolja szaporodásukat. Amennyiben a besugárzás ideje alatt a kloramfenikol jelen volt a tenyészetben, szaporodásgátló hatás lépett fel. Ez a hatás besugárzás hiányában értelemszerűen elmaradt, mert a tápoldathoz adagolt kloramfenikol önmagában alkalmazva nem pusztította az élesztő sejteket. Mivel önmagában sem a mikrohullámú besugárzás, sem az

antibakteriális antibiotikum nem gátolta az élesztőgomba szaporodását, egyértelmű, hogy a két tényező együttes hatásának tulajdonítható a szaporodásgátlás. E jelenséget az aminoglükozid típusú antibakteriális gentamicin és neomycin antibiotikumokkal is megfigyeltük.

Kimutattuk továbbá, hogy a szaporodásgátló hatás egyértelműen nő az antibiotikumkoncentráció függvényében, de a besugárzás időtartamának korlátozott növekedése is fokozza a gátlást. Következtetésünk szerint a mikrohullámú sugárzás érzékenységet indukált az eukariotikus élesztősejtekben a vizsgált antibakteriális antibiotikumokkal szemben. Feltételezzük, hogy a sejtekben a jelenséget a besugárzás alatt fellépő reverzibilis membránpermeabilitás-változás okozhatja. Ennek következtében az élesztősejtek mitokondiumaiba bejutó antibiotikum a proteinszintézis gátlásával az energiaellátást bénítja. Emellett a sejteket körülvevő folyékony tápközeg vízmolekuláiban a mikrohullám olyan változásokat kelt, melyek közvetetten hatással lehetnek a besugárzott biológiai objektum minden részére kiterjedően.

Eredményeinkből kitűnik, hogy az általunk kifejlesztett sejtszisztéma alkalmas eszköz a mikrohullámú sugárzás biológiai hatásainak vizsgálatára. Az alkalmazott 2,45 GHz frekvenciájú 37 °C konstans hőmérsékletű besugárzási protokoll hatékony eszköze lehet olyan molekulák sejtbe történő bejuttatásának, melyeket normál fiziológiai körülmények között a sejtek nem vesznek fel. A mikrohullámú sugárzás okozta permeabilitásváltozás molekuláris mechanizmusának pontos megértéséhez és tisztázásához további kutatás szükséges.

7. ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK

Az új kutatási eredmények a következőkben foglalhatók össze:

1. A WHO (*World Health Organization*) és az ICNIRP (*International Commission on Non-Ionizing Radiation Protection*) által engedélyezett és közhasználatban lévő mikrohullámú sugárzásoknak bőven vannak – kedvező vagy éppen kedvezőtlen – felderítetlen hatásaik. Jelen munka során egy eddig ismeretlen jelenség figyelhető meg.
2. A kísérletes úton optimalizált besugárzási protokoll (2,45 GHz, 37°C, 50W, 0–45 perc időtartam) alkalmazásával a mikrohullám egy sajátos biológiai hatása bizonyítható élesztőtenyészeteken. Megállapítottam, hogy az alkalmazott konstans hőmérsékletű, nemtermikus mikrohullámú sugárzás a *Saccharomyces cerevisiae* szaporodását nem gátolja.
3. A besugárzás hatására bizonyos molekulaméretű és tulajdonságú anyagok transzportálódhatnak a sejten kívüli térből az élesztősejtekbe. Az alkalmazott besugárzási protokoll hatékony eszköz olyan molekulák élő sejtbe történő bejuttatásának, melyeket normál fiziológiai körülmények között a sejtek nem vesznek fel. A hatás monitorozására a *S. cerevisiae* esetében kis molekulatömegű antibakteriális antibiotikumok: a kloramfenikol, a gentamicin és a neomycin alkalmasnak bizonyultak.

-
4. A besugárzás és az élesztősejteket normál körülmények között nem gátló antibakteriális antibiotikumok együttes hatásaként jelentős szaporodásgátló hatást mértem. Előzmények hiányában a megismert jelenség legvalószínűbb oka az, hogy az élesztősejt plazmamembránjának átjárhatósága besugárzás hatására tranziensen és reverzibilisen megváltozik. A kidolgozott kísérleti rendszer alkalmasnak tűnik a mikrohullámú sugárzás különböző biológiai hatásainak tanulmányozására.

 5. A különböző vizes közegek besugárzásakor a mikrohullám hatással van a vízre is. Elektrolízis útján mérhető, hogy a víz olyan hordozó közeg, amely a sugárzás hatására fellépő változást bizonyos ideig, akár 48 órán át képes megőrizni. Bizonyítottam, hogy ennek oka nem hőközlési folyamat, hanem a mikrohullám hatása.

 6. Meghatározott hőmérséklettartományon belüli besugárzás és a hagyományos melegítés összevetése alapján a vizes közegekben okozott változás szintén a 2,45 GHz mikrohullám nemtermikus hatására következik be. Bizonyítottan létezik tehát a mikrohullám termikus hatása mellett egy nemtermikus hatás is. A mikrohullámú sugárzás okozta változások molekuláris mechanizmusainak pontos megértéséhez és tisztázásához további kutatás szükséges.

8. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Szeretném köszönetemet kifejezni doktori tanulmányaim vezetőjének, Professzor Dr. Neményi Miklós akadémikus, intézetigazgató, egyetemi tanár Úrnak, aki biztosította számomra a kutatómunka elvégzésének feltételeit és segítő közreműködésével lehetővé tette munkámat.

Szeretnék köszönetet mondani Dr. Érsek Tibor Professzor Úrnak a témavezetésért, dolgozatom javítását szolgáló észrevételeiért, biztatásáért és a kutatómunkáról alkotott szakmai véleményéért.

Köszönöm opponenseimnek, Prof Dr. Jakab Gábor, Prof. Dr. Varga László egyetemi tanár Úrnak és Dr. habil. Molnár Zoltán egyetemi docens Úrnak, hogy dolgozatom létrejöttét értékes bírálatukkal segítették.

Köszönetemet szeretném kifejezni Dr. Erdei János Főorvos Úrnak, akitől az együtt végzett sikeres és örömteli laboratóriumi munka keretében szisztematikusan végzett kísérleti metodikát, eredményre vezető kutatói gondolkodásmódot sajátíthattam el.

Szintén köszönettel tartozom az NYME-MÉK, Biológiai Rendszerek Műszaki Intézete valamennyi munkatársának, hogy hozzájárultak munkámhoz.

Hálával tartozom szüleimnek, családomnak, barátaimnak szeretetükért és a munkámat segítő mindennemű támogatásukért.

9. IRODALOMJEGYZÉK

Adair R.K. (2002): Vibrational Resonances in Biological Systems at Microwave Frequencies, *Biophysical Journal*, 83. pp. 1147-1152

Adey W.R. (1990): Electromagnetic Fields and the Essence of Living Systems, in: Andersen J.B. (ed): *Modern Radio Science*, pp. 1-36.

Aktories K., Förstermann U., Hofmann F., Starke K. (2005): *Allgemeine und Spezielle Pharmakologie und Toxikologie*, 9th ed., Urban Fischer Verlag

Alberts B., Johnson A., Lewis J., Raff M., Roberts K., Walter P. (2008): *Molecular Biology of The Cell*, 5th ed., pp.

Almássy Gy. (1982): *Mikrohullámú Mérés és Műszertechnika*. Egyetemi Jegyzet. Budapesti Műszaki Egyetem

Banik S., Bandyopadhyay S., Ganguly S. (2003): Bioeffects of Microwave- a Brief Review, *Bioresource Technology* 87. pp. 155-159

Barcs I. (2009): *Az Antibiotikum - Érzékenység és - Rezisztencia*, A Semmelweis Egyetem Egészségtudományi Kar Népegészségtani Intézetének kiadványa, Budapest, pp. 8.

Belyaev I. (2005): Non-thermal Biological Effects of Microwaves, *Microwave Review* pp. 13-29

Berecz L. (1999): *Élelmiszerek Száradási Jellemzői, Különös Tekintettel az Élesztőkre*. Doktori (PhD) értekezés. Pannon Agrártudományi Egyetem, Mezőgazdaságtudományi Kar, Mosonmagyaróvár.

Bíró S., Hornok L., Kevei F., Kucsera J., Maráz A., Pesti M., Szűcs Gy., Vágvolgyi Cs. (2001): *Általános mikrobiológia*, Dialóg Campus Kiadó, Budapest-Pécs

Blackmann C.F., Blanchard J.P. (1994): Empirical Test of an Ion Parametric Resonance Model for Magnetic Field Interactions with PC-12 Cells, *Bioelectromagnetics*, 15. pp. 239-260

Böttger E. C., Springer B., Prammananan T., Kidan Y., Sander P. (2001): Structural Basis for Selectivity and Toxicity of Ribosomal Antibiotics European Molecular Biology Organization (EMBO) Reports, 21. pp. 318-323

Charpenter P.L. (1977): Microbiology, 4th (ed.), W.B. Saunders Company, ISBN: 0-7216-2438-3

Chou C.K., Guy A.W., Kunz L.L., Johnson R.B., Crowley J.J., Krupp J.H. (1992): Long-Term, Low-Level Microwave Irradiation of Rats, Bioelectromagnetics, 13, pp. 469-496.

Cipollina C., Vai M., Porro D., Hatzis C. (2007): Towards Understanding of the Complex Structure of Growing Yeast Populations, Journal of Biotechnology, 128. pp.393-402

Ciurlicá E.F., Curecheriu L., Creanga D., Goiceanu C., Tufescu F.L.M. (2007): Nucleic Acid Changes Induced by Microwave and Radiofrequency Exposure of Animal Tissues, Romanian Journal of Biophysics, 17. pp. 109-117

Cohen Y., Coffey M.D., (1986): Systemic Fungicides and The Control of Oomycetes. Annu. Rev. Phytopatol. 24, pp. 311-338

Crouizer D., Perrin A., Torres G., Dabouis V., Debouzy J.-C. (2009): Pulsed Electromagnetic Field at 9.71 GHz Increase Free Radical Production in Yeast (*Saccharomyce cerevisiae*), Pathologie Biologie 57. pp. 245-251

D'Ovidio K.L., Trucksess M.W., Devries J.W., Bean G. (2007): Effects of Irradiation on Fungi and Fumonisin B₁ in Corn, and of Microwave-Popping on Fumonisin in Popcorn, Food Additives and Contaminants, 24. pp. 735-743

Deák T. (1998): Élesztőgombák a Természetben és az Iparban, Mezőgazdasági Szaktudás Kiadó ISBN 9633562538

De Nobel J.G., Barnett J.A. (1991): Passage of Molecules Through Yeast Cell Walls: A Brief Essay-Review. Yeast, 7. pp. 313-323

Dutton M.S., Galvin M.J., McRee D.I. (1984): In Vitro Effects of Microwave Radiation on Rat Liver Mitochondria, *Bioelectromagnetics*, 5. pp. 39-45

EC. 2004: Directive 2004/40/EC of the European Parliament and of the Council on the Minimum Health and Safety Requirements Regarding the Exposure of Workers to The Risks Arising from Physical Agents (electromagnetic fields). *Official Journal of the European Union* 24.5.2004 L 184, pp. 1-9

Emerson L.L., Tripp S.R., Baird B.C., Layfield L.J., Rohr L.R. (2006): A Comparison of Immunohistochemical Stain Quality in Conventional and Rapid Microwave Processed Tissues, *American Journal of Clinical Pathology*, 125. pp. 176-183

Feirabend H.K., Ploeger S. (1991): Microwave Applications in Classical Staining Methods in Formalin-Fixed Human Brain Tissue: A Comparison between Heating with Microwave and Conventional Ovens, *European Journal of Morphology*, 29. pp. 254

Ferreira A.V.B., Glass N.L. (1996): PCR from Fungal Spores After Microwave Treatment, *Fungal Genetics Newsletter*, 43. pp. 25-26

Fesenko E.E., Geletyuk V.I., Kazachenko V.N., Chemeris N.K. (1995): Preliminary Microwave Irradiation of Water Solutions Changes their Channel-Modifying Activity, *Federation of European Biochemical societies (FEBS) Letters* 366. pp. 49-52

Fischer E. (2000): A Funkcionális Sejtten Alapjai, *Dialóg Campus Kiadó, Budapest-Pécs*, pp. 30

Fritze K., Sommer C. (1997): Effects of Mobile Global Communication (GSM) Microwave Exposure on Blood Brain Barrier Permeability in Rat, *Acta Neuropathologica (Berlin)*, 94, pp. 465-470

Fröhlich H. (1968): Long Range Coherence and Energy Storage in Biological Systems, *International Journal of Quantum Chemistry*, 2, pp. 641-649

Gabaldón T., Huynen M.A. (2007): From Endosymbiont to Host-Controlled Organelle: The Hijacking of Mitochondrial Protein Synthesis

and Metabolism, Public Library of Science (PloS) computational Biology 3 pp. 2309-2218

Geletyuk V.I., Kazachenko V.N., Chemeris N.K., Fesenko E.E. (1995): Dual Effects of Microwaves on Single Ca²⁺-Activated K⁺ Channels in Cultured Kidney cells *Vero*, Federation of European Biochemical societies (FEBS) Letters 359. pp. 85-88

Gergely L. (2003): Orvosi Mikrobiológia, 2. kiadás, Alliter Kiadói és Oktatásfejlesztő Alapítvány, Budapest

Geveke D.J., Brunkhorst C. (2003): Inactivation of *Sccharomyces cerevisiae* with Radio Frequency Electric Fields, Journal of Food Protection, 66. pp. 1712 – 1715

Géczi G., Sembery P. (2005): Mikrohullám az Élelmiszeriparban. Áram és Technológia 3, pp. 19-21

Gilbert D. (2000): Aminoglycosides. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, eds. Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases. 5th ed. Philadelphia: Churchill Livingstone, pp. 307-336.

Goldsmith J.P. (1995): Epidemiologic Evidence of Radiofrequency (Microwave) Effects on Health in Military, Broadcasting and Occupational Studies, International Journal of Occupational and Environmental Health, pp. 45-47.

Gray M.W., Doolittle W.F. (1982): Has the Endosymbiont Hypothesis Been Proven? Microbiological Reviews, 46. pp. 1-42

Griffin D.H. (1993): Fungal Physiology, 2nd (ed), John Wiley – Liss Publication, ISBN: 0-471-59586-1

Griffith J.M., Davis A.J., Grant B.R. (1992): Target Sites of Fungicides to Control Oomycetes. In W. Köller (ed.): Target Sites of Fungicide Action, pp.69-100. CRC Press, Boca Raton, FL.

Grundler W., Keilmann F., Fröhlich H. (1977): Resonant Growth Rate Response of Yeast Cells Irradiated by Weak Microwaves, Physics Letters 62A

Guven R.G., Guven K., Dawe A., Worthington J., Harvell C., Popple A., Smith T., Smith B., de Pomerai D.I. (2006): Effects of Radio-Frequency Fields on Bacterial Cell Membranes and Nematode Temperature-Sensitive Mutants, *Enzyme and Microbial Technology* 39. pp. 788-795

Gyires K., Fürst Zs. (2011): *A Farmakológia Alapjai, Medicina Könyvkiadó Rt.*

Hardman J.G., Limbird L. E., Gilman A. G. (2001): *Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics*, 10th ed. New York, NY: McGraw-Hill, (2001), p. 1246

Hatzis C., Porro D. (2006): Morphologically-Structured Models of Growing Budding Yeast Populations, *Journal of Biotechnology*, 124. pp. 420-438

ICNIRP, "ICNIRP Guidelines. Guidelines for Limiting Exposure to Time-Varying Electric, Magnetic, and Electromagnetic Fields (up to 300 GHz)" *Health Physics*, 74 (1998), pp. 494-522

Im-Sun W., In-Koo R., Heui-Dong P. (2000): Differential Damage in Bacterial Cells by Microwave Radiation on the Basis of Cell Wall Structure, *Applied and Environmental Microbiology*, 66. (5) pp. 2243-2247

Jakucs E., Vajna L. (2003): *Mikológia, Agroinform Kiadó és Nyomda Kft, Budapest*

Kim Y.A., Fomenko B.S., Agafonova T.A., Akoev I.G. (1985): Effects of Microwave Radiation (340 and 900 MHz) on Different Structural Levels of Erythrocyte Membranes, *Bioelectromagnetics* 6. pp.305-312

Köller W. (1992): Antifungal Agents with Target Sites in Sterol Functions and Biosynthesis. In W. Köller (ed.): *Target Sites of Fungicide Action*, pp. 119-206. CRC Press, Boca Raton, FL

Kucers A., Crowe S., Grayson M.L., Hoy J. (1997): *The Use of Antibiotics: A Clinical Review of Antibacterial, Antifungal, and Antiviral Drugs*. 5th ed. Oxford: Butterworth Heinemann, pp. 452-457.

Lai H., Singh N.P. (1996): Single- and Double-Strand DNA Breaks in Rat Brain Cells After Acute Exposure to Radiofrequency Electromagnetic Radiation, *International Journal of Radiation Biology*, 69, pp. 513-521.

Lakatos E., Kovács A.J., Szerencsi Á., Neményi M., Non-Thermal Effect of Microwave Treatment on Enzyme Suspensions Part 2.(2009): Cellulase Enzyme Activity, *Rewiev of Faculty of Engineering, Analecta Technica Szegedinensina* ISSN: 1788-6392 pp. 63-68.

Lakatos E. (2009): *Mikrohullámmal Intenzifikált Enzimvizsgálatok*. BSc Szakdolgozat. Szegedi Tudományegyetem, Mérnöki Kar, Szeged

Lakatos E. (2006): *Folyékony élelmiszerek kezelése, különös tekintettel a mikrohullám tejre gyakorolt hatására*, PhD értekezés

Lew D.J. (2000): Cell-Cycle Checkpoints that Ensure Coordination between Nuclear and Cytoplasmic Events in *Saccharomyces cerevisiae*, *Current Opinion in Genetics & Development*, 10. pp. 47-53

Liburdy R.P., Penn A. (1984): Microwave Bioeffects in the Erythrocyte Are Temperature and pO₂ Dependent: Cation Permeability and Protein Shedding Occur at the Membrane Phase Transition, *Bioelectromagnetics*, 5. pp. 283-291

Lin J., Philip M.K., Donald T.J. (1998): Enhancement of Anticancer Drug Delivery to the Brain by Microwave Induced Hyperthermia, *Bioelectrochemistry and Bioenergetics*, 47. pp. 259-264

Long D.J., Buggs C. (2008): Microwave Oven-Based Technique for Immunofluorescent Staining of Paraffin-Embedded Tissues, *Journal of Molecular Histology*, 39. pp. 1-4

Luedtke N.W., Carmichael P., Tor Y. (2003): Cellular Uptake of Aminoglycosides, Guanidinoglycosides, and Poly-arginine, *Journal of the American Chemical Society (JACS)* 125. pp. 12374-12375

Malyapa R.S., Ahern E.W., Straube W.L., Moros E.G., Pickard W.F., Roti Roti J.L. (1997): Measurement of DNA Damage after Exposure to Electromagnetic Radiation in the Cellular Phone Communication

Frequency Band (835.62 and 847.74 MHz), Radiation Research, 148, pp. 618-627.

Martin D., Cinca S., Margaritescu I., Neagu M., Iacub N., Ighigeanu D., Matei C., Craciun G., Manaila E., Chirita D.A., Moisescu M. (2009): Cell Investigations Simultaneously with Exposure to 2.45 GHz Microwaves, Journal of Microwave Power & Electromagnetic Energy, 43. pp. 21-25

Mayers C.P. (1970): Histological Fixation by Microwave Heating, Journal of Clinical Pathology., 23, pp. 273-275

Mátay G., Zombory L. (2000): A Rádiófrekvenciás Sugárzás Élettani Hatásai és Orvosbiológiai Alkalmazásai, Műegyetemi Kiadó ISBN 963 420 658 1

Mingeot-Leclercq M.P., Tulkens M.P. (1999): Aminoglycosides: Nephrotoxicity, Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 43. pp. 1003-1012

Mingeot-Leclercq M.P., Glupczynski Y., Tulkens M.P. (1999): Aminoglycosides: Activity and Resistance. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 43. pp. 37-727

Nacsa Á., Ambrus R., Berkesi O., Szabó-Révész P., Aigner Z. (2008): Water-Soluble Loratadine Inclusion Complex: Analytical Control of The Preparation by Microwave Irradiation, Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 48, pp. 1020-1023

Neményi, M., Lakatos E., Kovács, A.J. (2006): Mikrohullám Kezelés Használata Nyers és Fogyasztói Tej Zsírtartalmának Meghatározására. MTA-AMB, 30. Kutatási-Fejlesztési Tanácskozás, Gödöllő

Neményi, M.; Lőrincz, A.; Lakatos, E. (2003): Az Ultrahangszugár Fizikai Paramétereinek Változása a Besugárzott Anyagban. MTA-AMB 27. Kutatási-Fejlesztési Tanácskozás, Gödöllő, 2003. 01. 21-22., Proceedings, szerk. Dr. Tóth László 3. kötet 66-70.

Orlando R.A., Mossa G., D'Inzeo G. (1994): Effect of Microwave Radiation on the Permeability of Carbonic Anhydrase Loaded Unilamellar Liposomes, Bioelectromagnetics 15. pp. 303-313

Orlando A.R., Longo G., Cappelli M., Girasole M., Tarricone L., Beneduci A., Massa R. (2009): The response of giant phospholipid vesicles to millimeter waves radiation, *Biochimica et Biophysica Acta - Biomembranes* 1788. pp. 1497-1507

Ottenbreit M.J., Lin J.C., Inoue S., Peterson W.D. (1981): In Vitro Microwave Effects on Human Neutrophil Precursor Cells (CFU-C), *Bioelectromagnetics*, 2. pp. 203-215

Pakhomova O.N., Pakhomov A.G., Akyel Y. (1997): Effect of millimeter waves on UV-induced recombination and mutagenesis in yeast, *Bioelectrochemistry and Bioenergetics* 43. pp. 227-232

Pallai E., Vass A., Szijjártó E., Szentmarjay T. (2001): A mikrohullámú energia hatása gyógynövények mikrobiológiai szennyezettségére, 4. Magyar Szárítási Szimpózium Mosonmagyaróvár

Panagopoulos D.J., Karabarbounis A., Margaritis L.H. (2002): Mechanism for action of electromagnetic fields on cells, *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 298. pp. 95-102

Panogopoulus D.J., Messini N., Karabarbounis A., Philippetis A.L., Margaritis L.H. (2000): A Mechanism for Action of Oscillating Electric Fields on Cells, *Biochemical and Biophysical Research Communications* 272. pp. 634-640

Parazzini M., Tognola G., Thuróczy Gy., Molnár F.B., Sacchetti A., Ardesi G., Ravazzani P., Mainardi L.T. (2007): Possible effects of electromagnetic fields produced by GSM cellular phones on heart rate variability. *Bioelectromagnetics*, 28. pp. 122-129.

Peinnequin A., Piriou A., Mathieu J., Dabouis V., Sebbah C., Malabiau R., Debouzy J.C. (2000): Non-thermal effects of continuous 2.45 GHz microwaves on Fas-induced apoptosis in human T-cell line, *Bioelectrochemistry* 51. pp. 157-161

Phelan A.M., Lange D.G., Kues H.A., Luty G.A. (1992): Modification of Membrane Fluidity in Melanin-Containing Cells by Low-Level Microwave Radiation, *Bioelectromagnetics*, 13. pp. 131-146

Pon L, Schatz G. (1991): Biogenesis of yeast mitochondria. In: Broach JR, Pringle JR, Jones EW, editors. *The Molecular Biology of the Yeast Saccharomyces: Genome Dynamics, Protein Synthesis, and Energetics*. Cold Spring Harbor, NY: Cold Spring Harbor Press;. pp. 333–406.

Radhakrishnan A. and McConnell H.M. (2000): Electric field effect on cholesterol-phospholipid complexes, *Proceedings of the National Academy of Sciences (PNAS)* 97. pp. 1073-1078

Rai S., Singh U.P., Mishra G.D., Singh and Samarketu S.P. (1994): Additional Evidence of Stable EMF-Induced Changes in Water Revealed by Fungal Spore Germination, *Electromagnetic Biology and Medicine*, 13. pp. 253-259

Repacholi M.H. (1998): Low-level exposure to radiofrequency fields: health effects and research needs, *Bioelectromagnetics*, 19. pp. 1-19.

Rothman K.J. (1996): Assessment of cellular telephone and other radio frequency exposure for epidemiologic research, 7, pp. 291-305.

Rupe I. (2002): Checking cell size in yeast, *Trends in Genetics*, 18. pp. 479-485

Saalman E., Nordén B., Arvidsson L., Hamnerius Y., Höjevik P., Connell K.E., Kurucsev T. (1991): Effect of 2.45 GHz microwave radiation on permeability of unilamellar liposomes to 5(6)-carboxyfluorescein. Evidence of non-thermal leakage, *Biochimica et Biophysica Acta -Biomembranes* 1064. pp. 124-130

Saifuddin N., Wong C.W., Nur Yasumira A.A. (2009): Rapid Biosynthesis of Silver Nanoparticles Using Culture Supernatant of Bacteria with Microwave Irradiation, *E-Journal of Chemistry*, 6. pp. 61-70

Sajin G., Kovacs E., Moraru R.P., Savopol T., Sajin M. (2000): Cell Membrane Permeabilization of Human Erythrocytes by Athermal 2450-MHz Microwave Radiation, *Institute of Electrical and Electronics Engineers (IEEE) Transactions on Microwave Theory and Techniques*, 48. pp. 2072-2075

Sanborn M.R., Wan S.K., Bulard R. (1982): Microwave Sterilization of Plastic Tissue Culture Vessels for Reuse, Applied and Environmental Microbiology, 44. pp. 960-964

Sandblom J., Theander S. (1991): The Effect of Microwave Radiation on the Stability and Formation of Gramicidin-A Channels in Lipid Bilayer Membranes, Bioelectromagnetics, 12, pp. 9-20

Scherrer R., Loudon L., Gerhardt P. (1974): Porosity of the Yeast Cell Wall and Membrane, Journal of Bacteriology 118. pp. 534-540

Schubert H., Regier M. (2005): The microwave processing of foods, Woodhead Publishing Limited and CRC Press LCC, Cambridge, England

Schwartz L.M., Azar M.M. (1981): Advanced Cell Biology, ISBN: 0-442-27471-8, pp.

Severin F.F., Meer M.V., Smirnova E.A., Knorre D.A., Skulachev V.P. (2008): Natural causes of programmed death of yeast *Saccharomyces cerevisiae*, Biochimica et Biophysica Acta - Molecular Cell Research, 1783. pp. 1350-1353

Shcheglov V.S., Alipov E.D., Belyaev I.Y. (2002): Cell-to-cell communication in response of *E. coli* cells at different phases of growth to low-intensity microwave, Biochimica et Biophysica Acta - General Subjects 1572. pp. 101-106

Schlünzen F., Zavarich R., Harms J., Bashan A., Tocilj A., Albrecht R., Yonath A., Franceschi F. (2001): Structural basis for the interaction of chloramphenicol, clindamycin, and macrolides with the peptidyl transferase center in eubacteria, Nature, 413, pp. 814-821

Stanisavljev D.R., Grozdić T.D., Milica P. Kaninski M., Djordjević A.R., Stojić D.Lj. (2007): The microwave influence on the electrolytic decomposition of KOH water solution, Electrochemistry Communications, 9, pp. 901-904

Szabó G. (1990): Gyorsfagyasztott élelmiszerek mikrohullámú felengedtetése üregrezonátoros térben. Hűtőipar.1 pp. 14-20

Szeberényi J. (1999): Molekuláris sejtbológia, Dialóg Campus Kiadó, Budapest-Pécs, pp. 230

Szerencsi Á., Lakatos E., Kovács A. J., Neményi M. (2009): Non-Thermal Effect of Microwave Treatment on Enzyme suspensions Part 1.: Water Electrolysis Review of Faculty of Engineering, Analecta Technica Szegedinensina, Szeged, 2009, Norma Nyomdász Kft. Kiadó és Nyomda, ISSN: 1788-6392, pp. 58-62.

Szerencsi A., Erdei J., Kovacs A., Lakatos E., Neményi M. (2010): Effect of Microwave Irradiation on Antibiotic Susceptibility of *Saccharomyces cerevisiae* 7th International Conference of PhD Students, University of Miskolc Hungary, 8-13 August 2010, Conference Proceedings CD, ISBN978-963-661-935-0 Ö, ISBN 978-963-661-940-4 Book of Abstracts, p. 21.

Terapic R., Stuparevic I., Mrsa V. (2004): Increased mortality of *Saccharomyces cerevisiae* cell wall protein mutants, Microbiology 150. pp. 3145-3150

Thourel I., Pareilleus A., Thourel B., Auge C. (1975): Microwave specific effect on beer yeast., Proceedings of the IMPI Symposium, Waterloo, Canada, pp. 127-128

Thuróczy Gy., Bakos J. (2002): Az Elektromágneses Terek és Környezetünk, Környezetvédelmi füzetek, BME-OMIKK, ISBN: 963 593 482 3

Thuróczy Gy., Kubinyi Gy., Sinay H., Bakos J., Sipos K., Lénárt Á., Szabó L.D. (1998): Human Electrophysiological Studies on Influence of RF Expo-su-re Emitted by GSM Cellular Phones, in: Bersoni F. (ed): Electricity and Magnetism in Biology and Medicine, Plenum Press (1998)

Ursache M., Mindru G., Creanga D.E., Tufescu F.M., Goiceanu C. (2009): The effects of high frequency electromagnetic waves on the vegetal organisms, Romanian Journal of Physics, 54. pp. 133-145

Van der Rest M.E., Kamminga A.H., Nakano A., Anraku Y, Poolman B., Konings W.N. (1995): The Plasma Membrane of *Saccharomyces*

cerevisiae: Structure, Function, and Biogenesis, Microbiological Reviews, 59. pp. 304-322

Van Ginneken C., De Smet M.J., Van Meir F.J., Weyns A.A. (1999): Microwave Staining of Enteric Neurons Using Cuprilinic Blue (Quinolinic Phythalocyanin) Combined with Enzyme Histochemistry and Peroxidase Immunohistochemistry, Journal of Histochemistry and Cytochemistry, 47. pp. 13-22

Verschaeve L. (1996): Can non-ionizing radiation induce cancer?, The Cancer Journal, 8. pp. 237-249

Vincens Q., Westhof E. (2003): RNA as a Drug Target: The Case of Aminoglycosides, ChemBioChem, 4, pp. 1018-1023

Yang H.-C., Palazzo A., Swayne T.C., Pon L.A. (1999): A Retention Mechanism for Distribution of Mitochondria during Cell Division in Budding Yeast, Current Biology, 9. pp. 1111-1116

Yonath A., Bashan A. (2004.). Ribosomal Crystallography: Initiation, Peptide Bond Formation, and Amino Acid Polymerization are Hampered by Antibiotics, Annual Review of Microbiology, 58, pp. 233–51.

Zhang L., Ging N.C., Komoda T., Hanada T., Suzuki T., Watanabe K. (2005): Antibiotic Susceptibility of Mammalian Mitochondrial Translation, FEBS Letters 579. pp. 6423-6427