

Válasz Dr. Tóth Tünde bírálataira

Köszönöm Opponensemnek — Dr. Tóth Tündének —, hogy a műhelyvitát követően másodszor is elvállalta a dolgozatom bírálatát. Szeretném megköszönni dolgozatomat újbóli alapos átolvasását és részletes bírálatát. Köszönöm, hogy elismerően nyilatkozik a témám fontosságáról és munkásságomról.

A konkrét szakmai kérdések előtt szeretnék válaszolni egy alaki kérdésre: a disszertációmban a magyar nyelvben elterjedt, fonetikus írással írt glifozát szó helyett az eredeti *glyphosate* megnevezést használtam, ami követi a növényvédőszer-hatóanyagok nemzetközi szinten elfogadott *Pesticide Manual* kézikönyv szerint írt alakját. Továbbra is abból az okból használtam ezt a helyesírási alakot (amit előbírálathoz írt válaszómban is megindokoltam), hogy az eredeti anyagnév gyakorta – akár a jogszabályokban is – többféleképpen leírt fonetikus alakjából eredő félreértéseket elkerüljük¹. Ez egyben azzal az előnnyel is jár, hogy a különböző nyelvű irodalomban is könnyebben kereshetők erre az anyagra vonatkozó munkáink.

(1) Darvas B., Székács A. A glyphosate –(első rész)–Alkalmazás és környezetanalitika Magyar kémikusok lapja, 2018, 73. évf. 6 sz.

Megjegyzéseit elfogadom, kérdéseire az alábbiakban válaszolok.

1. A layer by layer technikával kialakított felületek között mosási fázisban a nem kötődött láncokat távolították el. Mérték-e, hogy milyen arányban kötődik a polielektrolit a felülethez (hány százalék kötődik, illetve hány százalék távozik a mosásnál)?

Külön nem számoltunk a méréseinknél a polielektrolitok felülethez köthető arányával.

Az eredményeim alapján csak kis része kötődik ki az oldatból felületre a polimerekből.

Az OWLS-küvetta területe: 0,16 cm²

A PSS (poli-(szirol-szulfonát) polimeroldatokból 1 mg/ml 200 µl injektálok be az egyes lépéseknél, vagyis a teljes injektált mennyiség 5 réteg esetében 1000 µg.

Amint a jelmagasságból látható PSS-injektálás után, ötréteg megkötődés esetén 395 ng/cm² tapad a felületre, ami a teljes felületen 63 ng PSS megkötődését jelenti. A lemosás után 360 ng/cm² marad a felületen, ami a teljes felületen 58 ng mennyiségnek felel meg.

A PAH poli-(allil-amin-hidroklorid) polimeroldatokból 1 mg/ml 200 µl injektálok be az egyes lépéseknél, vagyis az injektált mennyiség 5 réteg esetében 1000 µg.

Öt PAH-rétegből 185 ng/cm² tapad a felületre, ami a teljes felületen 30 ng PAH megkötődését jelenti. A lemosás után 280 ng/cm², marad a felületen, ami a teljes felületen 45 ng mennyiségnek felel meg.

A fentiek alapján a megkötődési arányok:

A PSS esetében $(0,063 \mu\text{g}/1000 \mu\text{g}) \cdot 100 = 0,0063\%$ kötődik meg az injektált oldatból, lemosás után pedig $(0,058 \mu\text{g}/1000 \mu\text{g}) \cdot 100 = 0,0058\%$ marad a felületen.

A PAH esetében $(0,030 \mu\text{g}/1000 \mu\text{g}) \cdot 100 = 0,0030\%$ kötődik meg az injektált oldatból, lemosás után pedig $(0,045 \mu\text{g}/1000 \mu\text{g}) \cdot 100 = 0,0045\%$ marad a felületen.

Összesen az injektált oldatból $(0,093 \mu\text{g}/2000 \mu\text{g}) \cdot 100 = 0,0047\%$ kötődik meg, lemosás után pedig $(0,103 \mu\text{g}/2000 \mu\text{g}) \cdot 100 = 0,0052\%$ marad a felületen.

2. A 66. oldalon található: „A glyphosate a foszfortartalmú ligandumok közé tartozik, amelyekről ismert, hogy erős affinitásuk van kétértékű fémionokhoz (pl.: Ca^{2+} és Mg^{2+})²³². Nagy glyphosate koncentráció alkalmazása elősegíti a glyphosate kationokkal (Ca^{2+}) való kelátkomplex képződését, amely hatással van a sejtdhézisra, citoszkeleton elhelyezkedésére és morfológiájára^{233,234}. Ráadásul a glyphosate hatóanyagot és származékait, pl.: AMPA vegyületet 1964-ben szabadalmaztatták kémiai kelátorként, mivel megköti és eltávolítja az ásványokat, mint például a kalciumot, a magnéziumot, a mangánt, a rezet és a cinket²³⁵. Mindazonáltal, a glyphosate relatíve gyenge Ca^{2+} - és Mg^{2+} -kationkelátor (harmadakkora hatékonyságú) az EDTA vegyülethez képest²³⁶. Ezáltal a magas glyphosate-koncentráció is csak kis affinitással tud Ca^{2+} - és Mg^{2+} -kationt kötni, így csak részlegesen tud sejtleválást és sejtmorfológiai változásokat előidézni.” Mely hatás tekinthető befolyásoló tényezőnek nagy glifozát koncentráció esetén?

A glyphosate mimikálja az RDG-motívumot, ezért nemcsak gátolni tudja az integrineket (így a sejtek kötődését), de nagy koncentrációban le is tudja szorítani a ligandumokat az integrinekről (így a lekötődött sejteket).

3. A valós idejű, jelölésmentes citotoxicitási vizsgálatok kimutatták, hogy a formázóanyag (a polioxietilénamin származék) felelős a növényvédő szer citotoxicitásáért. Mit gondol a glifozát tartalmú, azonban más segédanyagot tartalmazó készítmények használatáról?

N. Defragne és munkatársai további glyphosate-alapú növényvédő szerekben található formázóanyagokról (pl.: kvaterner ammóniumvegyületek, polioxietilén-alkil-éter-foszfát, alkil-poliglükózid) is bizonyították, hogy citotoxikusak, vélhetően hormonmoduláns hatás miatt. Továbbá a nonilfenol-polietoxilátok károsak lehetnek a beporzókra, illetve a kitettségüket igazolja, hogy nagy mennyiségben találhatóak virágporban és mézben^{2,3}.

Ezzel szemben új alternatívák jelennek meg a formázóanyagok káros hatásának kiküszöbölésére. R. Haefs és munkatársai új formázó anyagot fejlesztettek ki glyphosate-alapú növényvédő szerekhez, a triglicerin-etoxilátot. Ez a – repceolajból kinyert – anyag könnyen elbomlik és nem toxikus.⁴

Véleményem, hogy a glyphosate-alapú növényvédő szereket nem teljeskörűen vizsgálták be, és sokszor figyelmen kívül hagyták a formázóanyagokat, ezért úgy gondolom, hogy ezek a

formázóanyagok rejthetnek egészségügyi kockázatot magukban (toxikusak lehetnek mind emberekre és állatokra). Azonban reményt nyújthatnak a toxikusság csökkentésére új alternatív formázó anyagok, melyeknek környezetre való hatását figyelembe veszik.

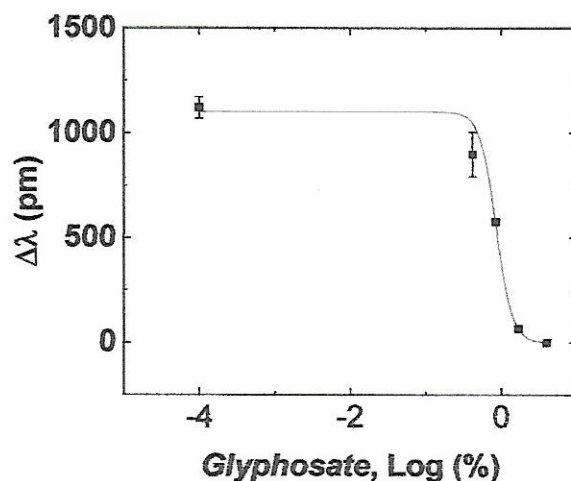
(2) N. Defarge, E. Takács, V. L. Lozano, R. Mesnage, J. Spiroux de Vendômois, G.-E. Séralini, A. Székács Co-formulants in glyphosate-based herbicides disrupt aromatase activity in human cells below toxic levels, *Int. J. Environ. Res. Public Health* **2016**, 13, 264, doi:10.3390/ijerph13030264

(3) N. Defarge, J. Spiroux de Vendômois, G.E. Séralini Toxicity of formulants and heavy metals in glyphosate-based herbicides and other pesticides, *Toxicol. Rep.*, **2018**, 5, 156–163, <https://doi.org/10.1016/j.toxrep.2017.12.025>

(4) R. Haefs, M. Schmitz-Eiberger, H.-G. Mainx, W. Mittelstaedt, G. Noga Studies on a new group of biodegradable surfactants for glyphosate, *Pest Manag. Sci.*, **2002**, 58:825–833, <https://doi.org/10.1002/ps.539>

4. A glifozát MC3T3-E1 sejtek adhéziójára gyakorolt hatását vizsgálva (5.3.2. fejezet) mely hatóanyag-koncentráció tekinthető a határnak a 0,4% és az 1,7% között, ahol a sejtadhézió már blokkolt?

Az 5.3.2. fejezetben a glyphosate MC3T3-E1 sejtekre gyakorolt adhézió blokkolásnak határa 0,53%.



5. A sejtek adhézióját egyértelműen befolyásolja a glifozát koncentrációja. Milyen körülmények növelhetik vagy csökkenthetik ezen kívül a sejtek kitapadását?

A sejtek adhézióját számos körülmény befolyásolhatja; növelheti, illetve csökkentheti. Egy jól beállított mérésnél ezeket a tényezőket nyomon követik és kézben tartják.

A sejtkitapadásra hatással lehetnek környezeti tényezők; a pH és a hőmérséklet. Az optimális pH érték *in vitro* sejt-kultúrákhoz 7,4 érték körül van. Az optimális pH értéket biztosítja

a karbonát a szérumban és az inkubátor 5% CO₂ ellátottsága.⁵ A méréseimet kontrollált hőmérsékleten végeztem 25°C-on, amely optimális a sejtek vizsgálatához.⁵

A környezeti tényezőkön kívül a tápközeg összetétele is befolyásolja a sejtkitapadást. Az integrinek működéséhez szükséges Ca²⁺- és Mg²⁺-ionok jelenléte. Illetve fontosak az ozmotikus egyensúly fenntartásához Na⁺, K⁺, Cl⁻, foszfát és hidrogénkarbonát. Ezeknek az ionoknak hiányában a sejtek életképessége csökken és ennek következtében kitapadásuk hanyatlásnak indul. Szérumfehérjék, hormonok, glükóz, aminosavak, vitaminok jelenléte a szérumban befolyásolhatja a sejtek adhézióját.⁵ Ezeknek a molekuláknak a jelenléte növeli/elősegíti a sejtek kitapadását.

(5) S. A. Hacking, A. Khademhosseini Cells and Surfaces in vitro, *Biomaterials Science (Third Edition)*, 2013, Chapter II. 1. 3.

Még egyszer szeretném megköszönni bírálómnak dolgozatomra adott értékelését. Bízom abban, hogy kielégítően sikerült megválaszolni a feltett kérdéseket.

Budapest, 2020.10.20 .

Farkas Enikő

Farkas Enikő