

SZÉKFOGLALÓK A MAGYAR TUDOMÁNYOS AKADÉMIAÁN

BAUER GYŐZŐ

AZ OXIDATÍV STRESSZ  
ÉS AZ ANTIOXIDÁNSOK  
HATÁSA  
A SIMAIZOMSZÖVETEKRE

---



1825

Szerkesztő  
GLATZ FERENC

Olvasószerkesztő  
Póto János

ISBN 963 508 199 5  
ISSN 1419-8959

Kiadja ·  
a Magyar Tudományos Akadémia, 2000  
Felelős kiadó: Szabó B. István  
Kiadói szerkesztő: Burucs Kornélia  
Nyomdai előkészítés: MTA Történettudományi Intézete kiadványcsoportja  
Tördelő: Csányi Attila  
Nyomdai munkálatok: AKAPRINT Nyomdaipari Kft.  
Felelős vezető: Freier László ügyvezető igazgató

Bauer Győző

az MTA külső tagja

# Az oxidatív stressz és az antioxidánsok hatása a simaizomszövetekre

Elhangzott 1999. március 17-én

**A**z 1970-es évek közepén egy véletlen megfigyelés folytán, mely szerint egy általunk tanulmányozott piridoindol-vegyület antihipoxiás hatással rendelkezik, érdeklődésem az oxigénhiány és oxigén-visszaadás, az oxidatív stressz következményeire és az antioxidánsok hatására irányult. Mivel az azt megelőző évtizedekben a simaizmok és azok autonóm idegrendszerének gyógyszerertana volt kutatásaim tárgya, e megfigyelést követően tudományos kutatásom az oxidatív stressz és antioxidánsok simaizomszöveteken kifejtett hatására összpontosult.

J. Priestley több mint kétszáz éve (1775), már az oxigén felfedezésekor figyelmeztetett arra, hogy ez a gáz mérgező hatással is rendelkezik. Ennek ellenére az oxigén felfedezését követő két évszázad kutatási eredményei elsősorban csak pozitív élettani hatásaival foglalkoztak.

A századfordulón (1900) Gomberg felfedezte a trifenilmetilgyököt, s a kémikusok egyre nagyobb figyelmet szenteltek a szabad gyökök keletkezésének és vegyi hatásainak. A biológiával, élettannal, kórtannal, gyógyszerertannal foglalkozó kutatók viszont az 1950–1960 évekig nem sok figyelmet szenteltek a szabad gyököknek. Ennek az oka elsősorban abban keresendő, hogy a szabad gyökök, s köztük a szervezetben is gyakran keletkező reaktív oxigéngyökök (SZOGY), formák, törzsek, anyagcsere-köztitermékek (Reactive Oxygen

Species, Reactive Oxygen Intermediates) élettartama nagyon rövid. Többségüké csupán egy-két másodperc (peroxi-nitrit, peroxilgyök, nitrogén-oxid) vagy annak nagyon rövid töredéke ( $10^{-9}$ – $10^{-5}$  s) (hidroxilgyök, alkoxilgyök, singlet oxigén). Kevés köztük az olyan, amely vegyileg állandó (hidrogén-peroxid, szuperoxid-gyök, hipoklórossav), és élettartama a jelenlevő enzimek vagy célstruktúrák mennyiségétől függ.

Az 1950-es évek közepén Gerschman és munkatársai (1954) elsőként fogalmaztak meg egy akkor még nehezen elfogadható hipotézist, mely szerint a radiáció és az oxigéntoxicitás közös tőről fakadnak. Valós nagy áttörést az 1960-as évek végén az SOD felfedezése (McKord és Fridovich, 1969) jelentett, mely két fontos tényezőre figyelmeztetett:

1. Az emlősök szövetei olyan védekezőmechanizmusokkal rendelkeznek, melyek képesek eltávolítani a szuperoxidgyököt.

2. Ha az első feltevés igaz, akkor az emlősök szöveteiben minden valószínűség szerint szuperoxidgyököknek kell keletkezniük.

Nem sokkal később Babior és munkatársai (1973) felfedezték, hogy a neutrofilek baktericid aktivitása a szuperoxid-termeléssel kapcsolatos, és Granger és munkatársai (1981) megállapították, hogy a reaktív oxigéngyökök a felelősek a bél ischaemiáját követő reperfüziós károsodásáért.

A SZOGY elsődleges forrása a szervezetben egy sor alapvető élettani folyamat. Ezek enzimatis és nem enzimatis folyamatok, melyek a sejtthártyában (pl. NADPH-oxidáz, prosztatlaninszintetáz, lipoxigenáz), a lizozómokban (mieloperoxidáz), a peroxizómokban (flavoproteinoxidáz), az endoplazmatikus retikulumban (citochróm  $P_{450}$ ) vagy a citoplazmában (xantinoxidáz, hemoglobin, riboflavin, katecholaminok), gyakran vas vagy réz közreműködésével vagy ezek hatására keletkeznek.

Az  $O_2$  90%-a a mitokondriumokban négy elektron felhasználásával, reaktív oxigén, köztitermékek (hidroxilgyök, singlet oxigén, hidrogén-peroxid, szuperoxidgyök, hipoklórossav) keletkezése mellett, katalitikusan vízzé redukálódik. Ezek egy része keletkezési helyéről elszivárog, s más gyökökkel (pl. NO) vagy szerves anyagokkal lép reakcióba. Más részük külső forrásokból jut a szervezetbe, ilyenek a füst, a légszennyeződés, a belélegzett vagy az ételbe kerülő vegyi anyagok, gyógyszerek. Nem kis részük a szervezetben külső, zömében fizikai hatásokra vagy a szervezetbe bekerült vegyi anyagokból az anyagcsere folytán jön létre.

A SZOGY jelenléte fontos (pl. a fagocitózis), de káros is lehet a szervezet számára (krónikus gyulladások). Ahogy már McKord és Fridovich (1969) megállapították: az emlősök szövetei hatékony mechanizmusokkal rendelkeznek, hogy kordában tartsák az élettani folyamatok során keletkező SZOGY-ot.

Az intra- és extracelluláris védekezőeszközöket magába foglaló rendszer részei az antioxidáns enzimek, pl. a SOD (citozolós és mitokondriális), glutation peroxidázis (citozolós és mitokondriális), katalázis (citozolós és peroxizomális), az alacsony molekulású antioxidánsok, mint pl. a  $\beta$ -karotin (vitamin A), az  $\alpha$ -tokoferol (vitamin E), az aszkorbinsav (vitamin C), katecholaminok, ceruloplazmin, transferin, tiolok, de a nagy molekulású fehérjék is stb.

Amennyiben külső forrásból vagy patológiai elváltozások folytán nagymértékben megnő a SZOGY keletkezése, vagy csökken az eltávolítása, és megbillen az addigi egyensúly, a reaktív oxigéngyökök felhalmozódhatnak. Ma széles körben elfogadott az a hipotézis, mely értelmében a felhalmozódott SZOGY egy sor szervi, a korral és betegségekkel járó elváltozásért felel, vagy azoknak velejárója (Demple és Amábile-Cuevas; 1991; Halliwell et al., 1992; Stoh, 1995; Rice-Evans és Diplocks, 1993; Stoh, 1995; Rauen et al., 1997; Suzuki et al., 1997; és sokan mások). Ezekből a mi érdeklődésünk szempontjából csak hármat emelnék ki: ilyen az intracelluláris felhalmozódással járó ischaemia-reprúzió, az extracelluláris felhalmozódással járó gyulladásos reakciók s a mindkét helyen való felhalmozódással járó immunreakciók.

A légutak és az emésztőrendszer szinte állandóan ki van téve a környezetünkben származó SZOGY-nak. Az érfal, a légutak s az emésztőcsatorna rendszeresen a szervezetben termelődő SZOGY hatás alatt van. Felvetődött tehát a kérdés: vajon célponjai-e a simaizmok, s befolyásolják-e a reaktív oxigéngyökök a simaizmok működését?

Munkatársaimmal Pozsonyban, Fukuokában és Londonban elsősorban arra kerestük a választ, hogy:

- a) hatnak-e a reaktív oxigéngyökök a simaizmokra;
- b) miben különbözik az egyes reaktív oxigéngyökök hatása;
- c) miben különbözik a simaizmok reakciója;
- d) milyen a nyálkahártya, az endotélium, az autonóm idegek, a lipid peroxidáció, a prosztaglandinok, a kalciumháztartás szerepe a reaktív oxigéngyökök hatásában;
- e) védhetők-e a simaizomszövetek a reaktív oxigéngyökök hatásától?

Különböző reaktív oxigéngyökök hatása kétfázisos a tengerimalac-ileumon. Egy átmeneti gyors izom-összehúzódást hosszan tartó elernyedés követ. A különböző reaktív oxigéngyökök hatása csak az intenzitásában különbözött egymástól, s hatásuk független volt a bél adrenerg és cholinerg inervációjától és a nyálkahártya jelenlététől. Kísérleteinkben a legkevésbé hatásos a szuperoxidgyök volt. Mivel a megfigyelt kontrakció s az azt követő relaxáció az intracelluláris szabad ionizált kalcium növekedésére utalt, és közismert, hogy a tengerimalac-bélsejten a sejtéből kifolyó áramért szinte kivétel nélkül a kalciumtól

függő káliumion-csatorna a felelős, izolált belsejteken *cell attached* konfigurációban megmértük: hogyan változik az egyes kalciumtól függő káliumcsatornák aktivitása hidrogén-peroxid hatására. A hidrogén-peroxid megnövelte annak a valószínűségét, hogy egy időegység alatt ezek a csatornák többször legyenek nyitott állapotban, mint zártban, s hogy az elektród hegyénél elhelyezkedő káliumcsatornákból egyszerre több is nyitva legyen. Ugyanakkor az egyes csatornák vezetőképességét nem változtatta meg. Ezek a megfigyelések arra utalnak, hogy megnőtt az intracelluláris szabad kalcium mennyisége, ami magyarázatot ad az előidézett izom-összehúzódsra. A sejthártya közelében felgyülemlt szabad ionizált intracelluláris kalcium aztán aktiválta a káliumcsatornát, s előidézte a simaizom elernyedését.

A különböző reaktív oxigéngyökök hatása a tengerimalac légcsövén két szempontban különbözik a bélétől:

1. Míg a szuperoxidgyök az intakt tracheán nem okoz izom-összehúzóds, s a hidroxilgyök hatásában az izomelernyesztő hatás dominál, a hidrogén-peroxid kontrakciót okoz.

2. Ezen a szöveten nagy jelentősége van a nyálkahártya jelenlétének. Ha az epitélium jelen van, a SZOGY izomösszehúzó hatása kicsi, és csak átmeneti jellegű, ha viszont az epitélium sérült, minden SZOGY hosszan tartó kontrakciót okoz.

A hidrogén-peroxid hatásmechanizmusát elemezve izolált macskatrachea-sejteken kimutattuk, hogy növeli az intracelluláris szabad kalcium mennyiségét. A hidrogén-peroxid a membránfeszültségtől független kalcium-beáramlást idéz elő, aminek következménye, hogy csökken az izom ingerlési küszöbe, és aktiválódnak a kalciumfüggő káliumcsatornák.

Ahogy az indometacin és az NDGA (nordihidro-guajósav) hatásából kitűnik, a légző simaizmokon a hidrogén-peroxid kontrakciós hatását gátolja egy minden valószínűség szerint a nyálkahártyából származó relaxációs ciklooxigenáz termék s a kontrakciós hatását egy az izomból származó lipoxigenáz termék. A hosszan tartó E-vitamin-kezelés vagy a kezdetben említett piridindol-származék, a stobadin antioxidáns hatása szintén gátolja a SZOGY nem óhajtott, légzősimaizom-görcsöt okozó hatását.

A xantin-xantinoxidáz nagy mennyiségű szuperoxidot termel, amely szuperoxid-dizmutázzal eltávolítható. A nitrogén-oxid szuperoxiddal peroxinitritet alkot, amely a nitrogén-oxidtól eltérően hat a simaizomra. Ennek ellenére a szuperoxidgyöknek a tengerimalac-tracheán csupán elenyésző hatása volt. A miéltre macskahörgők révén próbáltuk megkapni a választ. Ezen a szöveten a nem adrenerg, nem kolinerg (NANC) idegszálak ingerlésének hatására az előre kontrahált izom kétfázisú relaxációval válaszol. Az izomelernyedés

első fázisa nitrogén-oxid felszabadulásának és hatásának következménye. Az NANC-válasz eme komponensét csak akkor befolyásoltuk, ha az endogén szuperoxid-dizmutázt bénítottuk. Minden valószínűség szerint az intakt légzőizmok olyan mennyiségű endogén szuperoxid-dizmutázt tartalmaznak, amely meggátolja a keletkezett szuperoxid nem kívánt hatását.

Annak ellenére, hogy a reaktív oxigéngyökök az érfal simaizomtónusát is befolyásolják, hatásukat elsősorban az endotéliumon fejtik ki. Erre jellemző pl. a kontrahált patkányorta acetilcholinnal vagy kalcium-ionofórral okozott relaxációjának gátlása, ami jellegében hasonlít az endotélium eltávolításához.

A reaktív oxigéngyökök hatása az érfalon, mint egy sor más szövetben is, függ az általuk előidézett lipid-peroxidációtól. Ahogy nő pl. az alacsony sűrűségű lipoproteinek oxidációja, úgy csökken az acetilcholin relaxációs hatása az intakt érfalon. Sikerült előállítanunk egy olyan nifedipin-származékot, a nitrozopint, amely nem rendelkezik kalciumion-csatornát gátló hatással. A nitrozopin viszont a nifedipintől eltérően hatásos antioxidáns, és csökkenti nem csupán a lipid peroxidációt, hanem megvédi az endotéliumot a SZOGY hatásától is.

Az ischaemiát követő reperfúzió egyike azon kóros állapotoknak, melyek során nagy mennyiségű SZOGY termelődik. Az ischaemia idején hipoxantinná bomlanak a nagy energiájú foszfátok, a xantidehidrogenáz xantioxidázzá alakul, s felgyülemlenek a fehérvérsejtek. Ezek oxigén visszaáramlása idején szuperoxidgyököt és hidrogén-peroxidot, majd belőlük hidroxilgyököt és hipoklórossavat termelnek. Az így keletkezett reaktív oxigéngyökök úgy az endotéliumban, mint a sejteken kívül reakcióba lépnek az NO-szintáz által termelt nitrogén-oxiddal, és meggátolják hatását.

Már az oxigénhiány idején észlelhetők elváltozások a simaizomsejtek működésén. Csökken a kalciumion-csatornák aktiválhatósága, ennek következtében a sejtben a szabad ionizált kalcium koncentrációja, következésképpen a kalciumtól függő káliumion-csatornákon folyó áram mennyisége.

Hasonlóan, mint a xantin-xantioxidáz, az FMLP-vel aktivált neutrofilek is szuperoxidot termelnek. Míg az intakt neutrofilek hatástalanok, az aktivált neutrofilek érgörcsöt idéznek elő a fenilefrinnel kontrahált érfalon. Az ilyen érgörcs meggátolható a szuperoxid és hidrogén-peroxid enzimatisus eltávolításával (szuperoxid-dizmutáz, kataláz).

Az ischaemia/reoxigenáció hatását *in vivo* is elemeztük, s megmutattuk, hogy az aorta hasüregi részének 30 perces elzárását követő reperfúzió 18 órán belül súlyos endotélium-károsodáshoz vezet. Amennyiben az állatokat a reperfúzió megkezdése előtt antioxidánssal, pl. stobadinnal kezeltük, a károsodást meggátoltuk.

Az ilyen antioxidánssal való kezelés jelentőségéről tanúskodik, hogy a kiváltott infarktus nagysága majdnem egyharmadával volt kisebb, ha a három órát tartó szívkoszorúér-elzárást követő 30 percen belül a kutyákat stobadinnal kezeltük.

Ami még ennél is jelentősebb: az *angina pectoris*ban szenvedő betegeknel a klinikai elemzések második stádiumában a stobadin jelentősen csökkentette a szívrohamok számát és a szükséges nitroglicerinnel mennyiségét.

\*

Az idő rövidege miatt csak egy szeletét tudtam bemutatni a SZOGY hatásainak. Az általuk okozott lipid-peroxidáció, a membránkárosodás, a kalciumakkumuláció elindítóinak a folyamatoknak, amelyek a sejtek elhalásához vezetnek. Természetesen reaktív oxigéngyökök az élő szervezet minden szerve összetevőjére hatnak, de az egy hosszabb történet.

Összegzésként elmondhatjuk, hogy a reaktív oxigéngyökök többféle mechanizmussal befolyásolják a simaizmok működését:

- a) hatásuk többnyire függ az intakt nyálkahártya vagy epitélium jelenlététől;
  - b) hatásuk mechanizmusa nem minden simaizmon azonos;
  - c) hatnak a sejthártya lipidjeire, beleértve a prosztaglandinok keletkezését;
  - d) megváltoztatják a ioncsatornák vezetőképességét és a kalciumháztartást, ennek következtében egy sor élettanilag fontos enzim aktivitását;
  - e) befolyásolják a neuromediátorok felszabadulását, hatását és élettartamát.
- Hatásuk meggátolható:

1. termelésük csökkentésével:

- a) nem kívánt fizikai vagy kémiai hatások megszüntetésével;
- b) krónikus gyulladások megszüntetésével;

2. megkötésükkel vagy eltávolításukkal:

- a) enzimszubsztitúcióval;
- b) antioxidánsokkal, scavengerekkel;

3. hatásuk meggátolásával:

- pl. a nem kívánt intracelluláris szabad kalcium növekedésének meggátolásával.



# SZÉKFOGLALÓK

## A MAGYAR TUDOMÁNYOS AKADÉMIAÁN 1995–1998 I–II. KÖTET

- Bartók Mihály: Térkémi tényezők szerepe a fémkatalízisben
- Bárdossy György: A radioaktív hulladék hazai elhelyezésének földtudományi alapjai
- Farkas Tibor: Membránfoszfolipidek molekuláris összetétele és a testhőmérséklet
- Ferge Zsuzsa: A civilizációs folyamat fenyegetettsége
- Freund Tamás: Agykérgi neuronhálózatok szerkezete és működése
- Görög Sándor: A gyógyszeranalitika szépségei
- Hanák Péter: Modernizáció és antikapitalizmus Magyarországon
- Horváth József: Növényvírusok in vivo
- Ihász Mihály: A pepticus fekélyek korszerű sebészi kezelése
- Kákósy László: Théba a Ptolemaiosz- és a római korban
- Kálmán Alajos: Barangolások kristályrácsokban
- Kulcsár Szabó Ernő: Költészet és dialógus
- Kúnos György: Opio melanokortin peptidok szerepe a vérkeringés agyi szabályozásában
- Lipták András: Fehérje-szénhidrát kölcsönhatások
- Makkai Mihály: A kategóriaelmélet szerepe a matematika megalapozásában
- Marosi Sándor: A földrajzi táj kutatások összetettsége és alkalmazhatósága
- Meskó Attila: Környezettudomány, környezeti geofizika
- Méhes Károly: Régi és új módszerek az orvosi genetikában
- Paláncsai Tibor: Az integráció mérésének néhány elméleti-stratégiai kérdése
- Pálinkás Gábor: Molekuláris oldatkémia
- Palkovits Miklós: Agy pályák – idegi hálózatok
- Reményi Károly: Paradoxonok a tüzeléstechnikában
- Rézler Gyula: Az arbitrálás szociológiája
- Róna-Tas András: Honfoglalás és népalakulás a középkori Euráziában
- Sajó András: A jogosultságok lehetősége
- Sárközy András: Hibrid problémák a számelméletben
- Solymos Rezső: Az erdészeti, fatermesési és erdőnevelési kutatások eredményei és alkalmazásuk az erdőgazdasági gyakorlatban (1958–1998)
- Somfai László: Kottakép és műalkotás
- Szabadváry Ferenc: Magyar tudománytörténeti tabló, előtérben a kémia
- Szakály Ferenc: Török kori történelmünk kritikus kérdései
- Teplán István: Antitumor aktivitású peptidok
- Terplán Zénó: A gépszerkezettanról
- Tőke László: Szupramolekuláris kémia; koronaéterek
- Venetianer Pál: A génszintézis műszerei: a restrikciós-modifikációs enzimek
- Vékás Lajos: A szerződési szabadság alkotmányos korlátai
- Vicsek Tamás: A természet geometriája
- Zimányi József: A maganyagtól a kvarkanyagig a nehézion-fizikában

# SZÉKFOGLALÓK 1995–1998, III–V. kötet

- Árkaí Péter: A regionalis metamorfózis és jelentősége a Kárpát-medence kéregfejlődésében
- Bauer Győző: Az oxidatív stressz és az antioxidánsok hatása a simaizomszövetekre
- Bérces Tibor: A gyökreakciók sokszínű világa: a reakciók kinetikája és termokémiája
- Brassai Zoltán: Légtagkeringési zavarok új kezelési lehetőségei
- Csányi Vilmos: Uiselkedés, környezet, gének – etológiai tanulmányok
- Dohy János: Biotechnológia és állattenyésztés – új eredmények, kihívások, kilátások
- Fonyó Zsolt: Integrált vegyipari rendszerek folyamatszintézise
- Friedrich Péter: Fehérjék, enzimek, emlékezet
- Gáspár Zsolt: A számítógépek hatása a tartószerkezetek mechanikájára
- Géczy Barnabás: Kontinuitás, krízis, katasztrófa az ammoniteszek törzsfejlődésében
- Grätzer György: Hálóelméleti függetlenségi tételek
- Harmathy Attila: A magyar polgári jogról 1999-ben
- Haszpra Ottó: Néhány hidraulikai probléma a vízepítésben
- Hatvani László: Differenciálegyenletek megoldásainak stabilitási tulajdonságai
- Heszky László: Morfogenezis haploid és szomatikus sejtekből in vitro
- Hollósi Miklós: Kiroptikai spektroszkópia: változatok egy témára
- Honti László: Az uráli/finnugor „ösnyelv”-ről
- Horvath János: Disztribúciók és topológikus vektorterek
- Kiss Lajos: Az új európai víznév kutatás
- Kosa László: A magyar néprajz 1945 után
- Kristó Gyula: Előd
- Lámfalussy Sándor: Szerkezeti változások az európai pénzpiacban
- Lőrincz Lajos: Összehasonlítás a közigazgatás kutatásában
- Major György: Napsugárzás a légkörben és a felszínen
- Nagy Béla: A háziállatok enterális colibacillosisai
- Nagy Elemér: A klasszikus fizikától az anyagtudományig
- Nagy István: Változó struktúrájú nemlineáris rendszerek
- Nagy-Tóth Ferenc: Fényhatásvizsgálat egysejtű zöldmoszatokon
- Náray-Szabó Gábor: Elektrosztatikus katalízis
- Németh Judit: A nehézion-fizika és asztrofizikai alkalmazásai
- Orbán Miklós: Kémiai periodicitás időben és térben
- Pápay József: Föld alatti gáztárolás porózus kőzetekben
- Papp László: A legyek ritkaságáról
- Péter Mihály: Néhány gomba- és baktériumfaj uiselkedése a létéltételek alsó határában
- Petrányi Győző: A szuppresszív immunreguláció alkalmazása a transzplantáció és a reprodukció immunológia klinikai gyakorlatában
- Pléh Csaba: A relativizmus kérdései és a mai pszicholingvisztika
- Salamon Miklós: Kőzetmechanika fejlődése – egyéni szemszögből
- Sitkei György: A talaj–kerék kapcsolat néhány elméleti kérdése
- Spát András: A kalcium jel és a mitokondrium működése
- Szabad György: A parlamentáris kormányzati rendszer megeremtése, uedelmezése és kockázata Magyarországon (1848–1867)
- Szabó András: Alkotmány és büntetőjog
- Szabó Miklós: Tumultus Gallicus
- Szegedy Maszák Mihály: A Nyugat és a világirodalom
- Szentes Tamás: Fejlődés, rendszerváltás és versenyképesség a globalizálódás korában
- Tóth Klára: Szelektív érzékelők jelentősége a kémiai analízisben
- Uray Zoltán: Sugársérülések mérésére kémiai és biológiai anyagokkal
- Urállay György: Talajfolyamatok szabályozásának tudományos megalapozása
- Varga János: Földeskü
- Vaskovics László: Társadalmi modernizáció és a szülői szerepuáltozás összefüggései
- Vértés Attila: Fullerénvegyületek Mössbauer-spektroszkópiája
- Vizkelety András: A Leuveni Kódex magyar scriptorai
- Zalai Ernő: Neumann János: klasszikus vagy neoklasszikus?