

MAGYAR TUDOMÁNYOS AKADÉMIA
KÉMIAI TUDOMÁNYOK OSZTÁLYA

ÉLELMISZERTUDOMÁNYI TUDOMÁNYOS BIZOTTSÁG

rendezésében

2020. szeptember 18-án
tartandó

379.

TUDOMÁNYOS KOLLOKVIUM

előadásainak rövid kivonata

349. füzet

Budapest



MAGYAR TUDOMÁNYOS AKADÉMIA
KÉMIAI TUDOMÁNYOK OSZTÁLYA

MEGHÍVÓ

az MTA Élelmiszertudományi Tudományos Bizottság
2020. szeptemberi ülése keretében rendezett

379. Tudományos Kollokviumra

Időpont: 2020. szeptember 18. péntek, 9.30 órákor
A kollokvium online formában kerül megrendezésre:

<https://teams.microsoft.com/join/19%3a6eb29f66e6b04ac0b6e7d04d9616e150%40thread.tacv2/1599549867639?context=%7b%22Tid%22%3a%226a3548ab-7570-4271-91a8-58da00697029%22%2c%22Oid%22%3a%22c0e05ff9-1cf9-442d-904a-82f97c7b6770%22%7d>

Elnök: Dr. Szarka András

9:30 – 9:50 **Dr. Szarka András** (*BME VBK, Alkalmazott Biotechnológia és*

Élelmiszertudományi Tanszék): Oxidatív stressz és antioxidánsok

9:50 – 10:10 **Hajdinák Péter** és **Dr. Szarka András** (*BME VBK, Alkalmazott Biotechnológia*

és Élelmiszertudományi Tanszék): Az akrolein és a ferroptózis-szerű sejthalál kapcsolata

10:10 – 10:30 **Dr. Farkas Orsolya, Dr. Karancsi Zita, Dr. Kovács Dóra,**

Dr. Jerzsele Ákos (*Állatorvostudományi Egyetem, Gyógyszertani és*

Méregtani Tanszék): Növényi eredetű hatóanyagok bélhámra gyakorolt antioxidáns, gyulladáscsökkentő és antibakteriális hatásának modellezése

10:30 – 10:50 **SZÜNET**

10:50 – 11:10 **Makk-Merczel Kinga, Dr. Lőrincz Tamás** és **Dr. Szarka András** (*BME*

VBK, Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudományi Tanszék):

C vitamin és sejthalál

11:10 – 11:30 **Varga Dóra, Makk-Merczel Kinga, Dr. Lőrincz Tamás, Dr. Deák**

Veronika, Hajdinák Péter, Dr. Szarka András (*BME VBK, Alkalmazott*

Biotechnológia és Élelmiszertudományi Tanszék): In vitro toxikológiai modellek: HepG2 és HepaRG sejtvonalak alkalmazhatósága.

Budapest, 2020. szeptember 12.

Simonné Dr. Sarkadi Livia

ÉTB elnök

Dr. Gelencsér Éva

ÉTB társelnök

1051 Budapest, Nádor utca 7. (1245 Budapest, Pf. 1000)

Telefon: +36 1 411-6306 / Fax: +36 1 411-6122 / E-mail: kemia@titkarsag.mta.hu / www.mta.hu

AZ AKROLEIN ÉS A FERROPTÓZIS-SZERŰ SEJTHALÁL KAPCSOLATA

Hajdinák Péter, Dr. Szarka András

BME VBK Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudományi Tanszék

A ferroptózis egy 2012-ben, emlőssejteken azonosított, vasfüggő, kaszpáz-független programozott sejthalálforma, amelynek egyedi, a többi programozott sejthalálformától eltérő morfológiai és molekuláris jellemzői vannak, valamint specifikus induktorokkal (pl.: RSL3) és gátlószerekkel (pl.: ferrostatin-1) rendelkezik. Bár a ferroptózis pontos molekuláris mechanizmusa még nem ismert, lehetséges, hogy a sejthalálért a ferroptózis folyamatára jellemző fokozott lipidperoxidáció által kiváltott membránkárosodás a felelős.

2017-ben növényeken is leírásra került egy ferroptózis-szerű sejthalál, amelyet 10 percig tartó 55 °C-os hőkezeléssel váltottak ki *Arabidopsis thaliana* gyökérszőrökben. A ferroptózis-szerű sejthalál biokémiai és morfológiai jellemzői nagyon hasonlóak az emlőssejtek ferroptózisához, azaz a növényi sejthalál folyamat során is a mitokondriumok zsugorodása, a celluláris glutation depléciója, a reaktív oxigénvegyületek mennyiségének megemelkedése, valamint fokozott lipidperoxidáció figyelhető meg.

Régóta ismert, hogy a lipidperoxidok fragmentációja révén reaktív karbonilvegyületek, köztük akrolein keletkezik. Korábbi kutatási eredmények azt mutatják, hogy az akrolein által kiváltott sejthalál jellemzői nagyon hasonlóak a ferroptózis-szerű sejthaláléhoz, így felvetettük annak a lehetőségét, hogy az akrolein mediátor szereppel bír a ferroptózis-szerű sejthalálban. Ezért megvizsgáltuk az ismert ferroptózis induktor, az RSL3 hatását *Arabidopsis thaliana* sejteken, és összevetettük azt az akrolein hatásával, hogy tisztázzuk az akrolein esetleges szerepét a ferroptózis-szerű sejthalálban.

Az *Arabidopsis thaliana* sejteket ferroptózis gátlószerekkel, akrolein-kötő karnozinnal, vagy a kaszpáz inhibitor Z-VAD-FMK-val előkezelve, az akrolein kezelés hatására bekövetkező sejtpusztulás mértéke szignifikánsan csökkent. Ezek a megfigyeléseink megerősítik hipotézisünket, miszerint az akrolein által kiváltott sejthalálban szerepet játszik a ferroptózis-szerű sejthalál. Saját és korábbi eredmények alapján azonban, szemben az emlőssejtek kaszpáz-független ferroptózisával, a növényi ferroptózis-szerű sejthalál minden jel szerint kaszpáz-szerű proteázfüggő folyamat.

Földünk átlaghőmérsékletének emelkedésével feltehetőleg egyre nagyobb szerepet fog kapni a hőstressz hatására beinduló ferroptózis-szerű sejthalál. Eredményeink hozzájárulhatnak a sejthalál folyamat jobb megértéséhez, ezen keresztül pedig az azzal szembeni célzott védekezéshez, amely a mezőgazdaság számára kiemelt jelentőséggel bírhat, hiszen így a termésmennyiség esetleges csökkenése megakadályozható lehet.

NÖVÉNYI EREDETŰ HATÓANYAGOK BÉLHÁMRA GYAKOROLT ANTIOXIDÁNS, GYULLADÁSCSÖKKENTŐ ÉS ANTIBAKTERIÁLIS HATÁSÁNAK MODELLEZÉSE

Dr. Farkas Orsolya, Dr. Karancsi Zita, Dr. Kovács Dóra, Dr. Jerzsele Ákos

Állatorvostudományi Egyetem Gyógyszertani és Méregtani Tanszék

Napjaink egyik legsúlyosabb humán- és állategészségügyi problémáját az antimikrobiális szerekkel szemben rezisztens baktériumok által okozott fertőzések jelentik. Ennek fő oka a nem megfelelően alkalmazott antibiotikum-használat (túl kis dózisban vagy túl rövid ideig történő alkalmazás), illetve azok az esetek jelentik, mikor az antibiotikumok feleslegesen kerülnek adagolásra (bakteriális fertőzés hiányában, vagy nem megfelelő baktérium ellen).

A 2019/6 EU rendelet egyik legfőbb intézkedései közé tartozik az állatgyógyászatban történő antibiotikum felhasználás korlátozása. Az antibiotikumokkal szemben ellenálló kórokozók, valamint az állatgyógyászati antibiotikum felhasználás korlátozása miatt egyre növekszik az igény az állattartásban használható alternatívák iránt, melyek segíthetnek az állatok egészségének megőrzésében, valamint a betegségek kezelésében amellet, hogy használatuk hozzájárul a globális antibiotikum fogyasztás csökkentéséhez. Ilyen alternatívák lehetnek többek között különböző növényi eredetű vegyületek.

A sertés vékonybélhából származó IPEC-J2 sejt vonal nem daganatos eredetű és nem transzformált, emiatt jól reprezentálja az emberi és állati bélcsatornában zajló folyamatokat. Tanszéki kutatócsoportunk ezen a sejtmodellen vizsgálja különféle természetes eredetű vegyületek antioxidáns és gyulladáscsökkentő hatását a bélhámot károsító tényezőkkel szemben. Ezzel párhuzamosan különböző eredetű *E. coli* és *Salmonella enterica* baktériumtörzsek *in vitro* érzékenységét is elvégezzük a vizsgált anyagokkal szemben a MIC (minimum inhibitory concentration) értékek meghatározásával.

Az IPEC-J2 sejtek ún. poliészter membrán inzerten is tenyésztethetők, ekkor az *in vivo* viszonyokat még pontosabban reprezentáló modellhez jutunk, melyen tanulmányozhatóvá válik a bélhámsejtek permeabilitása illetve transzportfolyamatai. A sejtréteg áteresztő képességét fluoreszcens jelölőmolekula (FD4) felhasználásával vizsgáljuk, melyet az apikális részhez adagolunk. A gyulladást, illetve az oxidatív stresszt *Salmonella enterica* serovar Typhimurium és különböző szerotípusú *E. coli* lipopoliszacharid (LPS) kezeléssel váltjuk ki. Az intracelluláris reaktív oxigénszármazékok (ROS) szintjének méréséhez diklorofluorescein-diacetátot (DCFH-DA) használunk, az extracelluláris redox státusz nyomon követéséhez a H₂O₂ detektálására alkalmas Amplex Red módszert alkalmazzuk. A különféle gyulladáscsökkentő citokinek koncentrációja (pl. IL-6, IL-8) szendvics ELISA módszerrel egyszerűen meghatározható IPEC-J2 sejtekben.

Előadásom során néhány növényi eredetű kivonat és vegyület (fermentált búzacsíra, szőlőmag proantocianidinek, kvercetin és származékai, luteolin) hatását mutatom be a fent ismertetett bélhám modellen. Célunk az, hogy olyan vegyületeket találjunk, amelyek használhatóak lehetnek háziállataink egészségének megőrzésében, elsősorban a bélcsatornába kerülő kórokozók és más toxinok hatásaival szemben. Ezek a vegyületek önállóan, vagy antibiotikumokkal kombinációban alkalmazva hozzájárulhatnak a bakteriális fertőzések megelőzéséhez és sikeres gyógykezeléséhez, ezáltal csökkentve az állattartásban felhasznált antibiotikumok mennyiségét.

C-VITAMIN ÉS SEJTHALÁL

Makk-Merczel Kinga, Dr. Lőrincz Tamás, Dr. Szarka András

*Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem,
Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudományi Tanszék*

A farmakológiai aszkorbát rákellenes terápiában való potenciális alkalmazhatósága már közel 40 éve felvetődött, azonban a nagy dóziszú aszkorbát indukálta sejthalál pontos mechanizmusa a mai napig nem ismert.

Habár a rákos sejtek antioxidáns rendszerének újraprogramozódását illetően ellentmondásosak az ismereteink, az kétségtelen, hogy sikeresen adaptálódtak a primer társaikhoz képest megnövekedett reaktív oxigénszármazék-szinthez. Ez a tulajdonság azonban különlegesen sérülékennyé teszi őket egy külsődleges oxidatív stresszhatásra, amely lehetőséget ad a tumorsejtek szelektív eliminációjára.

A farmakológiai aszkorbát citotoxicitása az oxidatív stresszt okozó képességén alapul: nagy dóziszú aszkorbát jelenlétében a Fenton-reakcióhoz szükséges kétértékű fémionok folyamatos regenerációja biztosított, így jelentős mennyiségű hidrogén-peroxid és hidroxil-gyök termelődik. A hidroxil-gyök elsődleges támadáspontja a DNS: a farmakológiai aszkorbát kezelés ismert következménye a kettős-szálú DNS törések keletkezése. Ez a poli(ADP-ribóz) polimeráz 1 (PARP1) enzim aktiválódásán keresztül ATP deplációhoz vezet, aminek eredményeképpen a sejt bioenergetikai tartalékai kimerülnek.

A farmakológiai aszkorbát indukálta sejthalál és a közelmúltban felfedezett vas-függő ferroptózis számos jellegében hasonlóságot vélhetünk felfedezni, így jogosan merül fel a gyanú, hogy a két sejthalálforma esetleg közös útvonalon zajlik. Kutatócsoportunk azonban HT-1080 humán fibroszarkóma sejteken bemutatta, hogy érdekes módon a specifikus ferroptózis inhibitorok nem függesztik fel a farmakológiai aszkorbát okozta sejthalált, tehát a két sejthaláltípus feltehetően független útvonalon halad. Ugyanakkor az aszkorbát alacsonyabb, közel fiziológiás koncentrációban ferroptózist gátló hatásának bizonyult. Valószínűsíthetően az indukált sejthalál természete az alkalmazott aszkorbát-koncentráció függvénye: közepes dóziszú aszkorbát-kezelés esetén az autofágia és nekroptózis is szerepet játszik a folyamatban, míg a farmakológiai koncentrációtartományban feltehetően kaspáz-független apoptózis dominál.

A farmakológiai aszkorbát okozta sejthalál folyamat mechanizmusának mélyebb megértése nagyban hozzájárulhat ahhoz, hogy a jövőben a nagy dóziszú aszkorbát önmagában vagy egy kombinált antitumor terápia részeként eredményesen szerepelhessen a klinikai vizsgálatok során.

IN VITRO TOXIKOLÓGIAI MODELLEK: HEPG2 ÉS HEPARG SEJTVONALAK ALKALMAZHATÓSÁGA

Varga Dóra, Makk-Merczel Kinga, Lőrincz Tamás, Deák Veronika, Hajdinák Péter, Szarka András

Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem, Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszer-tudományi Tanszék, Molekuláris Biológia és Biokémia Laboratórium

Az élelmiszertoxinok vagy a gyógyszer által kiváltott májkárosodás előrejelzése kiemelt jelentőséggel bír, mind gazdasági, mind egészségügyi szempontból. A toxicitás értékelésére szolgáló általános megközelítés összetett *in vivo* vizsgálatokat foglal magában, a kísérleti állatok élelmiszertoxikológiában történő felhasználása a múlt évszázadra nyúlik vissza. Ezek a kísérletek azonban egyrészt időigényesek és költségesek, másrészt az állatok jólétével kapcsolatos problémákat is felvetnek. Egyre növekvő igény merül fel arra, hogy csökkentsük az állatokon való kísérletezést. A hepatotoxicitás vizsgálatánál gyakran alkalmazunk sejtes alapú modelleket. A primer májsejtek életképessége azonban korlátozott, az immortalizált sejtvonalak esetén pedig a génexpresszió és funkció a májsejtektől jelentősen eltérhet, így a megfelelő toxikológiai modellrendszerek kialakítása, fejlesztése komoly kihívás.

A kutatócsoportunk vizsgálatainak célja különböző sejtes toxicitási modellekben acetaminofen indukált sejthalál folyamatok vizsgálata. A kedvelt láz, fájdalomcsillapító acetaminofen kiváltotta májsejt károsodás a farmakológia, toxikológia egyik fontos modellrendszere. Az általunk vizsgált sejtes modellek közé tartoznak 2D és 3D sejtenyésztési rendszerekben fenntartott HepG2 (humán hepatokarcinóma) és HepaRG (humán máj progenitor) sejtvonalak. Irodalmi adatok alapján a HepaRG vonal a humán primer májsejtekhez hasonlóan magas szinten fejezi ki a biotranszformációs fehérjét, ezért kiváló farmakológiai modellvonal alakítható ki belőle, valamint mind a két vonal 3D tenyészetben fenntartva még inkább hasonló sajátságokat mutat az intakt humán máj működéséhez.