

A redox homeosztázis alakulása bélbetegségekben fekete retek tartalmú készítmény hatására

Blázovics Anna, Kovács Ágota, Székely Edit, Lugasi Andrea

BEVEZETÉS – Kutatások igazolják, hogy a természetes antioxidánsok közvetve hatnak a jelátviteli utakra, és több ponton is képesek befolyásolni az apoptózist kezdeményező gének indukcióját. A fekete retekéből készült epegranulátum főbb bioaktív vegyületei – az izotiocianátok, flavonoidok, vitaminok, nyomelemek – az újabb kutatások szerint módosítják a molekuláris biológiai folyamatokat. Ezért közepesen aktív gyulladásos bélbetegségben vizsgáltuk a készítmény hatását a redox homeosztázisra.

BETEGEK ÉS MÓDSZEREK – Az értékelhető adatok összesen 32 középkorú betegből (13 férfi, 19 nő) származtak. A betegek fele (hat férfi, tíz nő) a szükséges kezelés mellett hat hónapon át epegranulátumot is kapott (napi 0,2 g). Az egyéb rutinvizsgálatok mellett meghatároztuk a plazma redukálóképességet, a H-donor-aktivitást, a szabad SH-csoport-, az epesav-, az IL-6-, az IL-1-, a TNF- α -, a koleszterin- és a triglicerid-koncentrációt, valamint a vörösvértest kemilumineszcenciát és a HbA_{1c}-szintet.

EREDMÉNYEK – Az epegranulátummal történő kezelés nem befolyásolta a betegség aktivitását. A kedvező szubjektív megítélés mellett, a periódus végére kismértékben megemelkedett a szérumpesav-koncentráció, és csökkentek a plazmában a redoxiparaméterek értékei. A készítmény szignifikánsan csökkentette a vörösvértest-kemilumineszcenciát és mérsékelten csökkentette a vörösvértestek HbA_{1c}-koncentrációját.

KÖVETKEZTETÉSEK – Az adatok azt mutatták, hogy az antioxidánsokban és izotiocianátokban gazdag epegranulátum már ebben a kis dózisban is jelentősen beavatkozott a redox homeosztázisba.

gyulladásos bélbetegség, antioxidáns, izotiocianátok, redox homeosztázis, keresztesvirágúak

THE EFFECT OF A BLACK RADISH PREPARATION ON THE REDOX HOMEOSTASIS IN INFLAMMATORY BOWEL DISEASE

INTRODUCTION – Natural antioxidants have been shown to indirectly act on signal transduction pathways and influence the induction of apoptotic genes in several ways. The black radish-based granules contain several bioactive components including isothiocyanates, flavonoids, vitamins and trace elements that can modify various molecular biological pathways. The aim of this study was to find out whether this preparation has an effect on the redox homeostasis of patients with inflammatory bowel disease.

PATIENTS AND METHODS – Data from 32 middle-aged patients (13 male, 19 female) with moderately active IBD were evaluated. Half of the patients (6 male, 10 female) received 0.2 g/day granules for 6 months in addition to regular treatment. Apart from other routine laboratory measurements, redox parameters including plasma reducing power, H-donor ability, free SH groups and IL-6, IL-1, TNF-alpha, bile acids, cholesterol, triglycerides, red blood cell chemiluminescence and HbA_{1c} level were determined.

RESULTS – The black radish-based granules had no effect on the activity of inflammatory bowel disease. Beside a positive subjective judgement, bile acid levels had slightly increased and the values of redox parameters had decreased in the plasma by the end of the study period. The granules significantly diminished red blood cell chemiluminescence and moderately reduced the HbA_{1c}-level.

CONCLUSION – The results show that the granules rich in antioxidants and isothiocyanate have a marked effect on the redox homeostasis of IBD patients even at low doses.

inflammatory bowel disease, antioxidant, isothiocyanates, redox homeostasis, Cruciferous vegetables

dr. Blázovics Anna (levelező szerző/correspondent): Semmelweis Egyetem, II. Belgyógyászati Klinika/Semmelweis University, Faculty of Medicine, 2nd Department of Medicine; H-1088 Budapest, Szentkirályi u. 46. E-mail: blaz@bel2.sote.hu
dr. Kovács Ágota: Péterfy Sándor Utcai Kórház- és Rendelőintézet, Gasztroenterológia/Péterfy Hospital, Department of Gastroenterology; Budapest
Székely Edit: MÁV Kórház- és Központi Rendelőintézet, Magyar Porphyria Centrum/ Central Hospital of the Hungarian State Railways Budapest, Hungarian Porphyria Center; Budapest
dr. Lugasi Andrea: Országos Élelmiszerbiztonsági és Táplálkozástudományi Intézet/ National Institute for Food Safety and Nutrition; Budapest

Érkezett: 2005. május 10. Elfogadva: 2005. szeptember 20.

Az oxidatív stressz kulcsfontosságú modulátor, amely extracellulárisan és intracellulárisan is módosítja a ligand-receptor kölcsönhatásokat, befolyásolja a génextpressziót. A szabad gyökök másodlagos hírvivőként hatnak számos jelátviteli úton, részt vesznek a kemotaktikus citokinek és a sejtfelszíni adhéziós molekulák aktiválásában stb. (1). Az oxidatív stressz indukálja a stresszválasz-géneket, ugyanakkor a mérsékelt oxidatív stressz down-regulálja számos gén expresszióját (2, 3). A DNS-szintézis, a szelektív génextpresszió, az enzimek aktiválása és a sejtproliferáció szabályozása érintett a redoxi-jelátvitelben. A mérsékelt szintű szabadgyök-termelés módosítja a kinázok működését vagy közvetlenül aktiválja a transzkripciós faktorokat, ezáltal befolyásolja a génszabályozást a magban. Az NF- κ B és AP-1 transzkripciós faktorok olyan proteinek, amelyek működését a reaktív-oxigén-intermedierek a biokémiai folyamatok során szabályozzák (4).

Az „antioxidáns” fogalomhoz hosszú időn át csak a szabad gyökökkel szembeni védelem fűződött. Jelentőségük nem kétséges az oxidatív stresszel összefüggő állapotok terápiájában. A Janus-arcú antioxidánsok azonban a fehérjefoszforiláció és a transzkripciós faktorok gátlásával megakadályozhatják a sejtproliferációt, károsíthatják az oxidatív stresszel szembeni adaptációs mechanizmusokat. Az átmeneti fémionok redukálásával felerősíthetik az oxidatív stresszt. Gátolhatják a szabad gyökök által kezdeményezett apoptózist, és fokozhatják a nekrotikus folyamatokat is (5, 6).

A legismertebb vitaminok, mint például az A-, C-, E-vitaminok, a polifenolos vegyületek, a flavonoidok és a glükozinolatokból származó izotiocianátok hatását közvetve génszinten is kifejtik. Antioxidáns karakterük révén közvetlenül is hatnak a jelátviteli utakra, a génszabályozásra és a fehérjeszintézisre (7–10).

Gyulladásos bélbetegségekben a plazmában az antioxidáns retinol, az α -tokoferol, likopin, β -kriptoxantin és a β -karotin szignifikánsan kisebb koncentrációit találták, míg a lutein, zeaxantin és az α -karotin koncentrációja nem különbözött az egészséges emberekétől. A C-vitamin koncentrációja a beteg mucosában szintén kisebb volt, mint az egészségesben (11–13). Szignifikánsan alacsony volt a szérum A-vitamin-szintje terminális ileitisben, colorectalis polyposisban, illetve különböző malignus folyamatokban is (14). Sok kutató feltételezi, és részben igazoltnak látszik, hogy ezeknek a vegyületeknek a pótlása kedvező lehet e betegségek terápiájában (6, 11, 14, 15).

Mivel Crohn-betegségben és ileumreszekciót követő állapotokban gyakori az epekövesség, a kőképződés megelőzésében hasznos lehet a cholericus, cholekineticus hatású feketerepek-présle felhasználásával készült epegranulátum (Raphacol), amelynek gyulladáscsökkentő, lipidperoxidációt gátló és gyökfogó tulajdonsága kedvezően befolyásolhatja a gyulladásos bélbetegségekben szenvedő betegek diszkomfort érzését. A fekete retek glükozinolatjaiból képződő izotiocianátok a rákprevenció igazolt hatóanyagai. Feltételeztük, hogy a készítmény polifenol-, flavonoid-, izotiocianát-, vala-

RÖVIDÍTÉSEK

AP-1: aktivátor protein-1 (transzkripciós faktor).
 ARE: antioxidáns-válaszelem.
 CAI: colitisaktivitási index/Rachmilewitz.
 CD: Crohn-betegség.
 CDAI: Crohn-betegség-aktivitási index.
 CU: colitis ulcerosa.
 DPPH: 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil stabil gyök.
 IBD: gyulladásos bélbetegségek (inflammatory bowel diseases).
 IL-1 β és IL-6: interleukinek (citokinek).
 NF- κ B: magfaktor- κ B (transzkripciós faktor).
 p53: transzkripciós faktor.
 TNF- α : tumornekrózis faktor alfa.

mint vitamintartalma jelentősen befolyásolja a bélhámsejtek redoxiállapotát. A készítmény enyhe baktericid, fungicid hatása védelmet biztosíthat a bél normális bélflórájának. E megfontolások alapján adtuk a készítményt gyulladásos bélbetegségben szenvedőknek.

Arra voltunk kíváncsiak, hogy milyen időintervallum alatt jelentkezik kedvező hatás, és a több hónapos kezelés alatt jelentkezik-e nem kívánt mellékhatás. A kérdések eldöntésére a redox homeosztázis vizsgálatára alkalmas módszereket adaptáltunk, illetve fejlesztettünk ki. A spektrofotometrián és luminometrián alapuló módszerek kiegészítik egymást, és biztonsággal informálnak az antioxidáns-kezelés hatásáról (16).

Betegek és módszerek

Betegek

A vizsgálatokba önként jelentkező, gyulladásos bélbetegségben szenvedő betegeket vontunk be, akik közül az egyik csoport fekete retek hatóanyagú epegranulátum kiegészítő kezelésben részesült, míg a másik fele nem kapott kiegészítő kezelést. Ezt az utóbbi csoportot tekintettük kontrollnak.

Korábbi vizsgálataink során az aktivitástól, illetve tünetmentes állapottól függően a vér redoxi-paramétereiben megfelelő antioxidáns terápia mellett is szignifikáns különbségeket tapasztaltunk (16, 17). Ezért a jelen tanulmányban az 50, gyulladásos bélbetegségben szenvedő beteg közül a mérések idején csak mérsékeltan aktív betegségtől szenvedők – 32 beteg – adatait dolgoztuk fel. A vizsgálatokba bevont betegek fél éven keresztül azonos terápiával, azonos állapotban voltak. A kezelést csak súlyosbodás esetén változtattuk. Ezeknek a betegeknek az adatait nem dolgoztuk fel, így a nemek és a csoportok összetétele némileg változott a mérési időpontokban.

Tekintettel a gyulladásos bélbetegségek közös autoimmun eredetére, és a korábbi vizsgálatok eredményeire, az értékelésnél nem tettünk különbséget a diagnózis szerint. Ez későbbi célkitűzésünk. Ugyancsak nem tettünk különbséget a nemek között sem, mert vizsgálá-

1. TÁBLÁZAT

A betegek nem, kor és diagnózis szerinti csoportosítása

Csoport	Nem	Kor (év)	Diagnózis
Kontroll IBD (n=25)	10 férfi, 15 nő	47,5±15,7	11 CU, 14 CD
Epeggranulátummal kezelt IBD (n=25)	10 férfi, 15 nő	42,5±12,7	9 CU, 16 CD

IBD (inflammatory bowel disease): gyulladós bélbetegség; CU: colitis ulcerosa; CD: Crohn-betegség

lataink során a férfiak és nők között a redox homeosztázisban sem kaptunk szignifikáns eltéréseket (16, 17). Az aktivitást colitis ulcerosában a colitisaktivitási index (CAI) (Rachmilewitz), Crohn-betegségben a Crohn-betegség-aktivitási index (CDAI) alapján ítéltük meg. Közepes aktivitásnak vettük a CAI 6–10 és a CDAI 150–200 értékeket. A javulást, illetve a panaszok változását kérdőív segítségével regisztráltuk. Az 1. és 2. táblázatban részletezzük a betegekkel és betegségekkel kapcsolatos ismereteket.

Mindhárom mérési időpontban hat férfi- és tíz epeggranulátumot szedő nőbetegektől nyertünk értékelhető adatokat.

A kezelést különböző okok miatt kellett megszüntetni. Két férfi esetben műtetre került sor, egy férfi émelygett a készítmény szagától, egy nőbeteg a megengedett dózis többszörösét vette be, mert így több zsíros ételt fogyaszthatott saját bevallása szerint. Egy nő és egy férfi nem szedte rendszeresen a készítményt, három nő remisszióba került.

A random kiválasztott gyulladós bélbetegségben szenvedők kontrollcsoportjában is csak azok adatait dolgoztuk fel, akik közepesen aktív állapotban voltak (hét férfi és kilenc nő) a mérési időpontokban. Nem volt szignifikáns különbség a megváltozott aktivitású betegek számában. A betegek ellátása, felügyelete és ellenőrzése biztosított volt.

A kiegészítő kezelésben részesülők fél éven át 0,2 g

epeggranulátumot kaptak főétkezésükhöz. A készítmény hatását a redox homeosztázisra a szokásos ellenőrző vizsgálatokkal egy időben végeztük. Mérésekre a kezelést megelőzően, majd három és hat hónap elteltével került sor. Hasi ultrahangvizsgálat alapján kizártuk az epekőbetegséget. Kizáró ok volt a tumor, a diabetes mellitus és a májbetegségek. A betegek a kúra alatt minden szükséges gyógyszert szedtek. A vizsgálatok során a betegek egyszerűsített kérdőívet töltöttek ki életminőségükre vonatkozóan.

Kutatási engedély száma: SOTE-TUKEB 24/1996.

Készítmény

A készítmény 60 g fekete retekéből (*Raphanus sativus L. var. niger*) nyert friss préslet és 0,25 g édesköményolajat (*Aetheroleum foeniculi*) tartalmaz 100 g inaktív hordozógranulátumra porlasztott formában. Javasolt kúraszerű dózisa: naponta minimum 0,2 g. Országos Gyógyszerészeti Intézet nyilvántartási száma: OGYI-090/1988, megújítva 1998-ban, forgalmazási engedély száma: 3386/68/89 98.07.11.

Az ismertető alapján a készítmény az epeműködés fokozása által javítja és gyorsítja az emésztést, megszünteti a puffadást és teltségérzetet. Az *Aetheroleum foeniculi* ismert és széles körben alkalmazott karminatívum, eredményesen egészíti ki a fekete retek hatását, és teljesen elfedi annak kissé kellemetlen ízét és szagát. A készítmény enyhén sárgás színű, jellegzetes édesköményillatú és -ízű feketeretek-préslet és édesköményolajat tartalmazó granulátum. Fogyasztása javasolt dyspepsia, cholecystopathia esetén. Mellékhatások és interakciók más vegyületekkel eddig nem ismertek. Szükség esetén vagy kúraszerűen főétkezések után, minimum egy csapott adagolókanállal fogyasztható.

A fekete retek a keresztesvirágúak családjába tartozó kultúrnövény. A népi gyógyászatban évszázadok óta ismert emésztésjavító, epehajtó, epekőképződést megakadályozó, féreghajtó, de leírták vesekőoldó és légzőkönnyítő hatását is (18–20).

2. TÁBLÁZAT

A betegek nem, illetve a betegség kiterjedése, aktivitása, típusa és kezelése szerinti csoportosítása

Csoport	Nem	Kiterjedés	Aktivitás, típus	Kezelés
<i>Kontroll IBD (25 beteg)</i>				
CU betegek	5 férfi, 6 nő	bal kolonfél	CAI 6–10	aminoszalicilsav
CD betegek	6 férfi, 8 nő	vékony- és vastagbél	CDAI 150–250 sipolyozó 9 szűkületes 5	aminoszalicilsav azatioprin
<i>Epeggranulátummal kezelt IBD (25 beteg)</i>				
CU betegek	4 férfi, 5 nő	bal kolonfél	CAI 6–10	aminoszalicilsav
CD betegek	7 férfi, 9 nő	vékony- és vastagbél	CDAI 150–250 sipolyozó 11 szűkületes 5	aminoszalicilsav azatioprin

IBD (inflammatory bowel disease): gyulladós bélbetegség; CU: colitis ulcerosa; CAI: colitisaktivitási index; CD: Crohn-betegség; CDAI: Crohn-betegség-aktivitási index

A készítmény alapanyaga, a fekete retek-présle, a részleges fitokémiai elemzés alapján glükozinolátokat nem tartalmazott. Irodalmi adatok alapján feltételezhető, hogy a fekete retek glükozinolátjai a feldolgozás során a mirozináz enzim aktivitására izotiocianátokká alakultak. A fő bioaktív komponensek a következők (mg/100 ml): aszkorbinsav (5,0), karotin (0,02), tokoferolok (0,31), polifenolok (25,5), ezen belül kvercetin (0,07) és kempferol (0,50). Az ásványianyag-analízis szerint toxikus fémek nem fordultak elő a présleiben. A kálium/nátrium arány 10,5:1 és a kalcium/magnézium arány 2,1:1 volt (20).

Módszerek és anyagok

Az erythrocyta szabadgyök-szintjének meghatározására saját fejlesztésű lumineszcenciás módszert alkalmaztunk (16). A reakcióelegy hidrogén-peroxidot, luminozt és mikroperoxidázt tartalmazott. Az eredményeket relative light unit (RLU) egységben adtuk meg.

A plazma redukálóképességét *Oyaizu* szerint határoztuk meg (21). A redukálóképességet aszkorbinsav-ekvivalensben (eqAS) adtuk meg. Egy aszkorbinsav-ekvivalens az egységnyi térfogatú minta (1 ml) redukálóképessége, ha hatása egyenértékű 1 μ mol aszkorbinsavval.

A plazma H-donor-aktivitását *Blois* módszerének kis módosítása (22) alapján 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil stabil gyök jelenlétében mértük spektrofotometriával 517 nm-en. Az abszorbanciát 517 nm-en metanol-vakkal szemben olvastuk le. Az eredmény gátlásszázalékot jelent.

Sedlak és *Lindsay* módszere szerint mértük a plazmában a szabad szulfhidrilcsoportok koncentrációját 5,5-ditiobisz-nitrobenzoesav reagenssel pH 7,4-es nátrium-foszfát-pufferben 512 nm-en. Standardként redukált glutationt használtunk (23).

A szérumkoleszterint, trigliceridet és epesavat rutin laboratóriumi módszerekkel, Hitachi 717 klinikai automatával határoztuk meg a szérumból.

A glikált hemoglobin (HbA_{1c}) meghatározása Randox kittel 700 nm-en történt.

Az IL-1 β -t és IL-6-ot szilárd fázisú, enzimmel jelzett immundiagnosztikai készítménnyel (Diagnosticum) határoztuk meg. A TMB-szubsztrát-oldattal kapott színreakciót 450 nm-en mértük.

A TNF- α meghatározása Biosource TNF- α szilárd fázisú szendvicsmódszeren alapuló kittel történt. A leolvasást 450 nm-en végeztük.

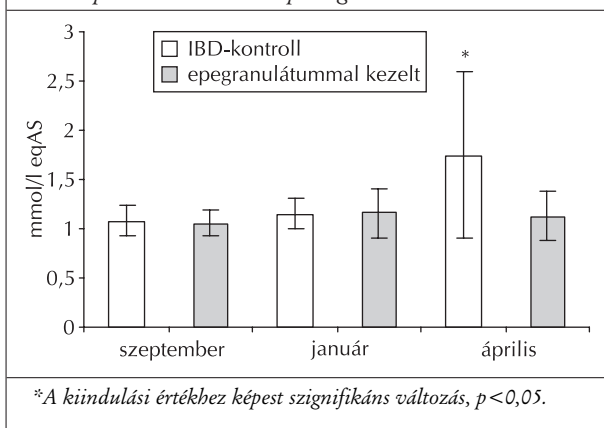
A mérések kiértékeléséhez Microsoft Excel és Statistika 6.0 programokat használtunk. Alkalmaztuk a Student-féle t-próbát. A szignifikanciát 95%-os valószínűségi szinten adtuk meg.

Eredmények

A kezelés alatt a betegek CDAI- és CAI-mutatói spontán változtak. A szubjektív tünetekre vonatkozó kérdőívek értékelésével és az aktivitási indexek eredm-

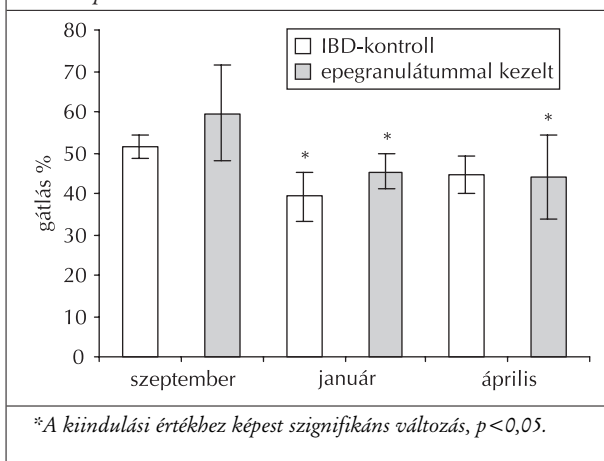
1. ÁBRA

Epegranulátum-kezelés hatása gyulladásoos bélbetegségben a plazma redukálóképességére



2. ÁBRA

Epegranulátum-kezelés hatása gyulladásoos bélbetegségben a plazma H-donor-aktivitására

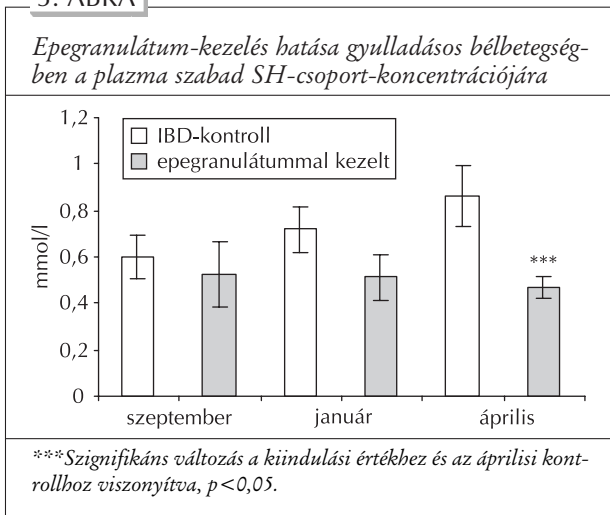


nyeivel mértük fel a készítmény hatását. Az epegranulátum hatóanyagai az adott dózisban nem befolyásolták a betegség lefolyását.

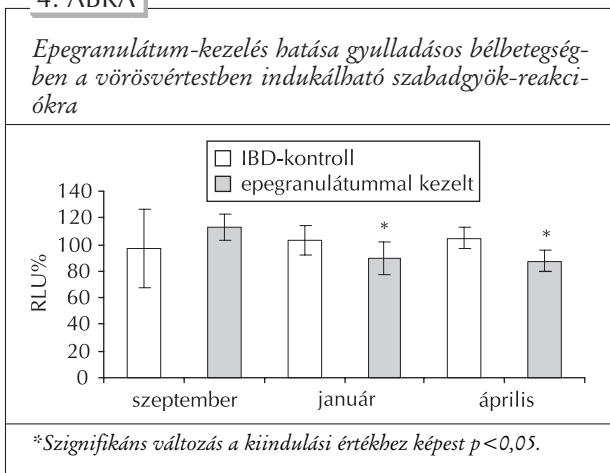
Az epegranulátummal nem kezelt gyulladásoos bélbetegségben szenvedőknél is mindhárom mérési időpontban csak a közepesen aktív betegségtől szenvedők adatait dolgoztuk fel. Az 1–6. ábrákon az epegranulátum-kezelés hatását mutatjuk be a redoxi-paraméterek változására.

Az epegranulátummal nem kezelt gyulladásoos bélbetegségben szenvedő betegek plazmájának redukálóképessége január hónapban $1,18 \pm 0,18$ mmol/leqAS volt, és áprilisa ez az érték $1,75 \pm 0,85$ mmol/leqAS-ra nőtt (1. ábra). Az epegranulátum-kezelteké nem változott. A plazma H-donor-aktivitása a kontrollcsoportban januárban $39,16 \pm 6,11$ gátlásszázalék, míg az epegranulátumos csoportban $45,35 \pm 4,11$ gátlásszázaléknak adódott. Ez a paraméter áprilisa $44,67 \pm 4,45$ gátlásszázalékra nőtt az epegranulátumot nem szedők esetében, az epegranulátumos csoportban viszont alig változott a januári értékhez képest, de a szeptemberi értékhez viszonyítva szignifikáns csökkenést tapasztaltunk (2. ábra).

3. ÁBRA



4. ÁBRA



A szabad SH-csoport koncentrációja a plazmában szintén ellentétesen változott a két betegcsoport között (3. ábra). Az eltérés a terminus végére szignifikáns lett a nem kezeltékhez képest. Az epeggranulátumos csoportban csökkent, a kontrollokban pedig nőtt a kiindulási értékhez viszonyítva, annak ellenére, hogy a készítmény kéntartalmú hatóanyagokat tartalmaz. Ennek magyarázata az lehet, hogy az izotiocianátok metabolizmusa során a redukált glutationnal történő konjugáció, majd a metabolitok gyors kiürülése miatt a tiolgyületek mennyisége változhat.

A vörösvértest-kemilumineszcencia az epeggranulátummal kezeltéknél szignifikánsan csökkent a hat hónap alatt [$113,36 \pm 9,85 \rightarrow 87,73 \pm 7,65$ (RLU%)], míg a nem kezelt kontrollcsoportban nem tapasztaltuk ezt a kedvező változást (4. ábra). A HbA_{1c}-koncentrációk nem szignifikáns mértékben, de szintén csökkentek (5. ábra). A HbA_{1c}-koncentráció a gyulladásoos bélbetegségben szenvedő kontrolloknál januárban $5,90 \pm 0,43\%$, az epeggranulátum-csoportban $5,70 \pm 0,14\%$ volt. Ez az érték áprilisra a gyulladásoos bélbetegségben szenvedő kontrolloknál nőtt ($6,15 \pm 0,58$), míg az epeggranulátumos csoportban csökkent ($5,62 \pm 0,28\%$). A csoportok között áprilisban szignifikáns volt a különbség.

A beválasztás alkalmával megvizsgált közepesen súlyos állapotú betegeknek a citokinek közül csak az IL-6-koncentráció meghatározása volt informatív. Az IL-1 β - és a TNF- α -szérumszintek nagyon alacsonyak voltak. A kóros IL-1 β -aktivitás 90 Crohn-beteg vizsgálatakor összesen négy esetben, míg a TNF- α -aktivitás csupán egy Crohn-betegnél volt detektálható az általunk használt kitekkel. Mivel ezek a betegek nem kerültek be egyik vizsgálati csoportba sem, így e két citokinnel nem foglalkoztunk a továbbiakban. Az IL-6 koncentrációja áprilisban az epeggranulátummal nem kezelt gyulladásoos bélbetegségben szenvedő betegekben $305,0 \pm 444,4$ pg/ml, míg az epeggranulátum-kezelésben részesülteknél $207,6 \pm 217,31$ pg/ml volt. A 6. ábra mutatja az IL-6-koncentráció kedvezőbb változását a kezelési periódus alatt.

A terminus alatt a koleszterin koncentrációja fokozatosan csökkent, viszont a trigliceridkoncentráció inkább nőtt az epeggranulátumos csoportban. A triglicerid szérumszintjének növekedése feltehetően táplálkozási figyelmetlenség következménye. E két szérumparaméter esetében nem észleltünk szignifikáns változást.

Az epesav-koncentráció az epeggranulátum-kezelés alatt a nagy szórást figyelembe véve, nem kívánt módon, mérsékelten nőtt a szérumban, míg a gyulladásoos bélbetegségben szenvedő kontrollokban kisebb mértékben változott.

Megbeszélés

A természetes eredetű készítmények számos ismert és ismeretlen hatásmechanizmusú biológiailag aktív vegyületet tartalmaznak. A hosszú távon adott drogok, illetve kivonatok mai ismereteink szerint jelentősen befolyásolhatják szervezetünk redox homeosztázisát. Például az A-vitamin, illetve a β -karotin túlzott fogyasztása Crohn-betegségben és colitis ulcerosában nem ajánlott, mert a betegség fellángolását idézheti elő (24). Az A-vitamin túladagolása a CYP2E1 fokozottabb indukciója miatt fokozza a vitamin toxicitását, cholestasis és krónikus májbetegség tünetei jelentkeznek. A β -karotin 250–500 mg/kg dózisban indukálja a CYP1A1/2, CYP3A1/2, CYP2E1, CYP2B1/2, CYP2C11 izoenzimeket a májban, a tüdőben, a bélben és a vesében, ezek a szabad gyökök túltermelését eredményezik (25, 26).

A flavonoid típusú kvercetin in vitro nagy koncentrációban végzett kísérletekben DNS-mutációkat okoz, annak ellenére, hogy epidemiológia tanulmányok tanúsága szerint az e vegyületet tartalmazó élelmiszerek tartós fogyasztása az érlelmeszesedés és az infarktus megelőzésében jelentős (27, 28). Számos polifenolról bebizonyították, hogy részt vesznek a celluláris antioxidáns hálózatban. Ismert, hogy a katechin, epikatechin, taxifolin, ferulasav, procianidin az NF- κ B- és az AP-1-aktivitást gátolják a TNF-fel stimulált endothelsejteken (13, 29, 30).

A glükozinolatokból képződő izotiocianátok nemcsak a kaspázok aktiválásával indíthatják be az apop-

totikus kaszkádot, hanem a p53-on keresztül is. Elősegítik a citokróm C kiáramlását a mitokondriumokból. Az apoptózist csak nagy dózisban indítják be. Ilyenkor az ARE aktivitása a magban teljesen megszűnik (10).

Számos tudományos vizsgálat igazolja, hogy a táplálkozási antioxidánsok együttes alkalmazása kedvezőbb hatást eredményez, mintha külön-külön történne a bevitelük (15, 28, 31).

Gyulladásos bélbetegségben különösen jelentős a megfelelő antioxidáns-ellátottság, mert a gyulladásos folyamatokban képződő szabadgyökös reakciók felerősítik a nekrotikus folyamatokat. Az antioxidánsok túlzott fogyasztása azonban nem kívánt módon felerősítheti az apoptózist, így nehezen valósul meg a szöveti regeneráció (32–34).

A fekete retek hatóanyagú epegranulátummal történő kiegészítő kezelés nem befolyásolta az IBD-s betegeknél a betegség fellángolását vagy remisszióját. A periódus végére kismértékben megemelkedett a szérum-epesav-koncentráció, amely nemkívánatos. Romlottak a plazmában a redoxi-paraméterek értékei (redukálóképesség, H-donor-aktivitás, szabad SH-csoport). Lényeges eltérést azonban nem tapasztaltunk a laboratóriumi rutinvizsgálatok eredményeiben a kiegészítő kezelés alatt.

A fekete retek hatóanyagú epegranulátum szignifikánsan csökkentette a vörösvértest-kemilumineszcenciát és mérsékelten csökkentette a vörösvértestek HbA_{1c}-koncentrációját a hat hónap alatt, ami kedvező hatás (16).

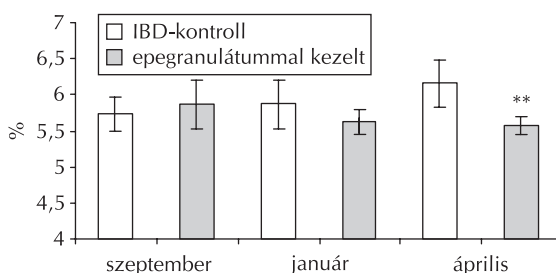
A kapott adatokból arra lehet következtetni, hogy e bioaktív hatóanyagokat tartalmazó szer már ilyen kis koncentrációban (0,2 g/nap) is hosszú távon képes befolyásolni a redox homeosztázist. Ennek okát abban látjuk, hogy az izotiocianátok és a többi redoxiaktív ágens származékai (a készítmény vitamin- és polifenolos vegyületei) be tudnak jutni a sejtmagba, és ott különböző reakcióutakat stimulálnak.

Megállapítható volt, hogy a várttal ellentétben a fekete retek hatóanyagai hosszú távon nem javítják a szervezet antioxidáns kapacitását, nem segítik a szervezet szabad gyökökkel szembeni védekezését, hanem kompenzatorikus mechanizmusok indulnak be, azaz a szervezet szabad gyökös reakciói felerősödnek a kívülről bejuttatott antioxidánsokkal szemben, ami új redoxiegyensúly kialakulásához vezet. Az a gondolat is felmerült, hogy a terápiában alkalmazott egyéb antioxidánsok (például 5-ASA) mellett a kis dózisú antioxidánsokban gazdag készítmény hatása már nem elhanyagolható a hat hónapos kúra során. Mivel a redox homeosztázis az oxidációs és redukációs folyamatok egyensúlyát jelenti, a szükségesnél több antioxidáns felvétele az oxidációs folyamatok felerősödését kell, hogy eredményezze. A készítmény – összetétele miatt – valószínűleg több szinten és több ponton is módosítja a redoxireakciókat.

A vörösvértest HbA_{1c}-koncentrációjának kedvező alakulása arra enged következtetni – tekintettel a vörösvértest életidejére és funkciójára –, hogy egy koráb-

5. ÁBRA

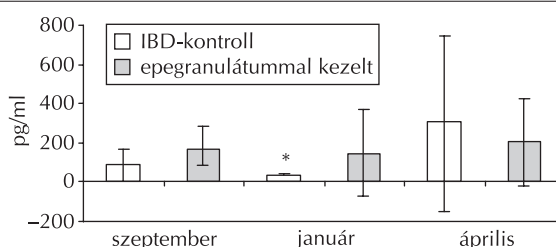
Epegranulátum-kezelés hatása gyulladásos bélbetegségben a HbA_{1c}-koncentrációra (normálérték: 4,4–6,4%)



**Szignifikáns változás az áprilisi kontrollhoz viszonyítva, $p < 0,05$.

6. ÁBRA

Epegranulátum-kezelés hatása gyulladásos bélbetegségben a plazma-IL-6-aktivitás változására



*Nincs szignifikáns változás.

bi állapot kedvezőbb oxidációsértékét mértük a vizsgálati időpontokban, tehát a készítmény hatásossága dózis- és időfüggő, ezért csak megfelelő orvosi ellenőrzés mellett lehet ilyen típusú készítményeket hosszú távon fogyasztani, amelyet ma már a nemzetközi irodalomban is hangsúlyoznak.

A betegek zsíremésztése javult (hasi görcsök megszűnése, bélgázképződés csökkenése) a fekete retek alapú epegranulátum hatására, ezért előfordult, hogy fegyelmezetlenekké váltak az étkezésben, amelyről a betegekkel történő beszélgetés során értesültünk. Ez lehetett az oka a mérsékelt lipidszint-növekedésnek.

Az antioxidáns-terápia hatásosságának vizsgálatára már Magyarországon is rendelkezésre állnak különböző kitek, mint például a Randox és Oxys cégek termékei. Az ilyen irányú vizsgálatokat támogatja az Országos Egészségbiztosítási Pénztár. A módszerek széles körű alkalmazása azonban még nem általános a nagy költségigény miatt.

Az általunk adaptált, illetve kifejlesztett módszerek, amelyek alkalmasak az emberi szervezet redox homeosztázisának jellemzésére, és viszonylag egyszerűen kivitelezhetőek, könnyen bevezethetők a rutin laboratóriumi alkalmazásra, új utakat megnyitva ezáltal az általános egészségi állapotot felmérő, betegségmegelőző programok megtervezéséhez és megvalósításához. Ezek a redoxiállapotot felmérő módszerek lehetővé teszik nagy betegcsoportok egészségi állapotának megítélését

és a betegségmegelőző programok menedzselését. Így költséghatékonyan megvalósítható az antioxidáns-kezelések rövid és hosszú távú ellenőrzése, és lehetővé válik az adaptációs folyamatok megértése (16, 17).

Köszönetnyilvánítás

A szerzők köszönettel tartoznak prof. dr. Kéry Ágnesnek a

szakmai tanácsokért, Bárkovits Saroltának és Pintér Edinának a kiváló asszisztenciáért (Semmelweis Egyetem), Pallai Zsolt igazgatónak és Kurucz Tímea vegyész-mérnöknek (Diachem Kft.) az epesavak meghatározásáért. A kutatásokat a NKFP 1/016, NKFP-1B/047, az OTKA T-043537 pályázatok és a Parma Product Kft. támogatták.

IRODALOM

- Powis G, Gasdanska JR, Baker A. Redox signalling and the control of cell growth and death. *Adv Pharmacol* 1997;38:329-58.
- Morel Y, Barouki R. Repression of gene expression by oxidative stress. *Biochem J* 1999;342:481-6.
- Roebuch KA. Oxidative stress regulation of IL-8 and ICAM-1 gene expression differential activation and binding of the transcription factors AP-1 and NF- κ B. *Int J Mol Med* 1999;4:223-30.
- Schulze-Osthoff K, Ferrari D, Riehemann K, Wesselborg S. Regulation of NF- κ B activation by MAP kinase cascades. *Immunobiol* 1997;198:35-49.
- Blázovics A, Hagymási K, Prónai L. Citokinek, prosztaglandinok, nutritív és nem nutritív faktorok gyulladásoz bélbetegségekben. *Orvosi Hetilap* 2004;145:19-25.
- Simopoulos AP, Ordovas JM (editors). Nutrigenetics and nutrigenomics. World Review of Nutrition and Dietetics Vol. 93. Karger; 2004.
- Blázovics A, Fehér J. Sikerek és kudarcok a retinoid terápiaiban. *Gyógyszereink* 1996;46:124-9.
- Lunec J, Holloway KA, Cooke MS, Faux S, Griffiths HR, Evans MD. Urinary 8-oxo-2'-deoxyguanosine: Redox regulation of DNA repair in vivo. *Free Rad Biol Med* 2002;33:875-85.
- Azzi A, Gysin R, Kempná P, Munteanu A, Villacorta L, Visarius T, et al. Regulation of gene expression by alpha tocopherol. *Biol Chem* 2004;385:585-91.
- Keum YS, Jeong WS, Kong AN. Chemoprevention by isothiocyanates and their underlying molecular signaling mechanisms. *Mut Res* 2004;555:191-202.
- D'Odorico A, Bortolan S, Cardin R, D'Inca R, Martinez D, Ferronati Sturniolo GC. Reduced plasma antioxidant concentrations and increased oxidative DNA damage in inflammatory bowel disease. *Scand J Gastroenterol* 2001;36:1289-94.
- Buffinton GD, Doe WF Altered ascorbic acid status in the mucosa from inflammatory bowel disease patients. *Free Radic Res* 1995;22:131-43.
- Buffinton GD, Doe WF Depleted mucosal antioxidant defences in inflammatory bowel disease. *Free Radic Biol Med* 1995;19:911-8.
- Mózsik G, Bodis B, Figler M, Király A, Karádi O, Par A, et al. Mechanisms of action of retinoids in gastrointestinal mucosal protection in animals, human healthy subjects and patients. *Life Sci* 2001;69:3103-12.
- Lugasi A. Az élelmiszer eredetű flavonoidok potenciális egészségvédő hatása. *Orvosi Hetilap* 2000;141:1751-61.
- Blázovics A, Kovács Á, Lugasi A, Hagymási K, Bíró L, Fehér J. Antioxidant defence in erythrocytes and plasma of patients with active and quiescent Crohn's disease and ulcerative colitis: A chemiluminescent study. *Clin Chem* 1999;45:895-6.
- Blázovics A, Kovács Á, Lugasi A, Hagymási K, Bíró L, Fehér J. Total scavenger capacity of erythrocytes and plasma is a good predictive factor in inflammatory bowel diseases. *Curr Top Biophys* 2000;24:19-28.
- Jakobey H, Habegger R, Fritz D. Gemüse als Arzneipflanze. Secundäre Pflanzenstoffe im Gemüse mit Bedeutung für die menschliche Gesundheit, 2. Mitteilung: Gemüse aus der Familie der Brassicaceae und der Familie der Apiaceae. *Ernährungs-Umschau* 1988;35:275-9.
- Vargas R, Perez RM, Perez S, Zavala MA, Perez C. Antiuro lithiatic activity of Raphanus sativus aqueous extract on rats. *J Ethnopharmacol* 1999;68:335-8.
- Lugasi A, Dworschák E, Blázovics A, Kéry Á. Antioxidant and free radical scavenging properties of squeezed juice from black radish (Raphanus sativus L. var. niger) root. *Phytotherapy Res* 1998;12:502-6.
- Oyaizu M. Studies on products of browning reaction prepared from glucosamine. *Jpn J Nutr* 1986;44:307-15.
- Blois MS. Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *Nature* 1958;4617:1198-200.
- Sedlak J, Lindsay RH. Estimation of total protein bound and non protein sulfhydryl groups in tissues with Ellmann's reagent. *Anal Biochem Biophys* 1985;25:192-205.
- Tragnone A, Valpiani D, Miglio F, Elmi G, Bazzocchi G, Pipitone E, et al. Dietary habits as risk factors for inflammatory bowel disease. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 1995;7:47-51.
- Paolini M, Antelli A, Pozetti L, Spetlova D, Perocco P, Valgimigli L, et al. Induction of cytochrome P450 enzymes and over generation of oxygen radicals in beta-carotene supplemented rats. *Carcinogenesis* 2001;22:1483-95.
- Hagymási K, Blázovics A. Antioxidánsok a májvédelemben. *Orvosi Hetilap* 2004;145:1421-5.
- Kuppusamy UR, Khoo HE, Das NP. Structure-activity studies of flavonoids as inhibitors of hyaluronidase. *Biochem Pharmacol* 1990;40:397-401.
- Breinholt V. Desirable vs. harmful levels of intake of flavonoids and phenolic acids. In: Kumpulainen JT, Salonen JT (editor). Natural antioxidants and anticarcinogens in nutrition, health and disease. Cambridge: The Royal Society of Chemistry; 1999. p. 93-105.
- Ahmad N, Gupta S, Mukhtar H. Green tea polyphenol epigallocatechin-3-gallate differentially modulates nuclear factor- κ B in cancer cells versus normal cells. *Arch Biochem Biophys* 2000;376:338-46.
- Owen RW, Giacosa A, Hull WE, Haubner R, Spiegelhalter B, Bartsch H. The antioxidant/anticancer potential of phenolic compounds isolated from olive oil. *Eur J Cancer* 2000;36:1235-47.
- Bázovics A, Fehér J. Az oxidatív stressz és a máj. In: Fehér J, Lengyel G (editors). Hepatológia. Budapest: Medicina; 2001. p. 50-88.
- Haddad JJ. Oxygen-sensitive pro-inflammatory cytokines, apoptosis signaling and redox-responsive transcription factors in development and pathophysiology. *Cytokines Cell Mol Ther* 2002;7:1-14.
- Jobin C, Sartor RB. The I κ B/NF- κ B system: a key determinant of mucosal inflammation and protection. *Am J Physiol* 2000;278:C451-62.
- Bhaskar L, Ramakrishna BS, Balasubramanian KA. Colonic mucosal antioxidant enzymes and lipid peroxide levels in normal subjects and patients with ulcerative colitis. *J Gastroenterol Hepatol* 1995;10:140-43.