

## **Xenohormesis és öregedés: membránok, lipidek, stresszfehérjék, stresszválasz**

*Vígh László, MTA, Szegedi Biológiai Központ,  
Biokémiai Intézet, Szeged*

James Lovelock, a Gaia-elméletről elhíresült angol tudós, aki nemrégén még azt állította, hogy a Föld valójában egy „önszabályozó szuperorganizmus”, újabban egy meglepően pesszimista jóslattal állt elő. Ezt írta: „Mielőtt véget ér e század, milliárdok halnak meg közülünk, a kevés túlélő pedig a sarkvidékeken él majd, ahol még elviselhető lesz a klíma”. A megállíthatatlan klímaticus változásokra, mint tudjuk, nagyon sokan figyelmeztetnek, a Föld melegebb lehet, mint bármikor az elmúlt egymillió évben. Legyen az már csak könnyű vigasz, hogy a globális felmelegedési folyamat pontosan azt a forgatókönyvet követi, amelyet számításai alapján a híres svéd kémikus, Arrhenius több mint száz évvel ezelőtt tett közzé. Tudjuk, hogy még az sem zárható ki, hogy a nagy meleget nagy hideg követi majd... De hogyan is jönnek ide a sejtmembránok, lipidek, stresszfehérjék és a stresszválasz?

Kollégáimmal lassan négy évtizede tudjuk, hogy a klímakatasztrófák elől menekülésre képtelen növényvilág sejtjeiben mindenekelőtt a membránok azok a sejtalkotók, amelyeket a környezet hőmérsékletének extrém változásai - az egyed túlélése szempontjából - talán a legérzékenyebben érintenek (Vígh et al., *Phytochemistry* 18: 787, 1979.; Vígh et al. *FEBS Letters* 107: 291., 1979.; Horváth et al., *Physiol. Plantarum* 49: 117, 1980.; Vígh L.: *MTA Biológiai Tudományok Osztályának közleményei* 25: 637, 1980.; Horváth et al., *Planta* 151: 103, 1981.; Horváth et al., *Planta* 153: 476, 1981.; Horváth et al., *Biochemistry and Metabolism of Plant Lipids: 5th Int. Symp. Proceedings*, pp. 427-431, 1982.). Mielőtt ennek tárgyalását folytatnánk, hangsúlyozom, hogy az előző előadásokban már részleteiben tárgyalt “xenohormezis” jelenség hasznát - vagyis, hogy a legkülönbözőbb környezeti stresszeknek kitett növényvilág az állatvilág ill. az ember számára ezres nagyságrendű, azok stressztűrését, “fittségét” fokozó, az egészségmegóvás szempontjából kulcsfontosságú bioaktív anyagot termel - is csak akkor érthetjük meg,

ha tisztázzuk a stresszérzékelés ill. stresszválasz alapvető, sejt- és molekuláris szintű mechanizmusait.(Hooper et al., Cell Stress Chaperon. 15: 761, 2010).

A fotoszintetikus szervezetek membránlipidjei a „túl hidegben” ugyan- is átlépnek egy olyan karakterisztikus fázisátalakulási hőmérséklet küszöbértéket, ami alatt rigid, gélszerű struktúra alakul ki. Ugyanezek a membránok a „túl melegben” is a lipidjeik fázisátalakulásaitól károsodnak: érdekes módon, részben talán éppen a membránok görbületét is szabályozni képes lipidféleségek itt nem részletezett szerkezetváltozásai miatt. A membránok működésének mind a merev gél, mind a „hiperfolyékony” állapot beállta súlyos csapást jelent: megszűnik pld. a kényesen szabályozott féligáteresztő képességük, így azután felbomlik a sejtek anyagcsere-egyensúlya, a szervezet pedig elpusztulhat. A fotoszintetizáló szervezetek (kékalgák, növények) sejtmembránjainak tehát a lehető legnagyobb sebességgel kell alkalmazkodniuk a változó környezeti hőmérsékletekhez, mégpedig értelemszerűen membránjuk fluiditásának, finomszerveződésének optimalizálásával (Vígh et al., FEBS Letters 191: 200, 1985.; Vígh et al., PNAS 90: 9090, 1993.). Hogy valóban a membránfluiditás eme adaptív szabályozásának képessége, annak eredményessége határozza meg az adott fajta túlélési esélyeit hideg- és fagyveszély esetén, azt az eltérő fagyűrőképeségű búza-fajtákra szegedi laborunkban több mint 30 éve igazoltuk. A klímakamrákban hidegedzett búzák plazmamembránjaik fluiditását megfelelő technikákkal követve ui. kiderült, hogy míg a fagyűrő fajták esetében az edződés egy stádiumában a membránok fluiditása folyamatos növekedésbe kezdett, ugyanez nem történt meg a fagyérékeny társaik esetében (Vígh et al. FEBS Letters 107: 291., 1979.). Hogy valóban a membránok lipidfázisa volt felelős a hatékony membránadaptáció kivitelezésében, azt pedig úgy sikerült igazolnunk, hogy bizonyos lipidféleség előanyagának a bevitelével sikerült felszaporítanunk egy olyan „alacsony olvadáspontú” foszfolipidet a búza csíranövénykéek membránjaiban, amiktől a fagyűrőképeségük drámaian javult (Horváth et al., Planta 151: 103, 1981.). Korai megfigyeléseinket számos megerősítés követte. A membránlipidek összetétele, a „lipidfejek” és főleg a „lábak” minősége, egészen pontosan a zsírsavláncok telítetlenségi szintje egyazon növény esetében is lényegesen eltérhet, jól tükrözve az élőhely

jellegzetes hőmérsékleti stressz viszonyait (Farkas et al., *Cryobiology* 15: 569, 1978.). A telítetlen zsírsavak mennyiségét genetikai beavatkozással növelve jelentősen fokozódott az adott növény hidegtűrése (Horváth et al, *Physiol. Plantarum* 57: 532, 1983.). Fordítva, a lipidtelítéssel keményített membrán általában nagyobb garanciát nyújtott a vizsgált szervezetek sejtjeinek azok hőstresszel szembeni ellenállásában. Miután igazoltuk, hogy a növényekben a membránok a túl nagy hidegnek és a túl nagy melegnek egyaránt szenvedő alanyai és ezért létfontosságú membránjaik lipidkészletének az adaptív átrendezése, nyitva maradt a legizgalmasabb kérdés. Vajon hogyan érzik a sejtek a hőmérséklet stressz veszélyét? Mi a parancsadó jel a membránok lipidjeinek átszabására?

A fenti kérdésre a választ szintén magunk próbáltuk megadni, egy nagyon is szokatlan és sokakat meghökkentő kísérletes megoldást választva. A nyolcvanas évek elején, a Debreceni Egyetemen dolgozó fizikai-kémikussal, ma már akadémikustársammal, Joó Ferenc barátommal szövetkezve, olyan ún. hidrogénező lipid katalizátorok kifejlesztésébe kezdtünk, amelyek segítségével a jól ismert „növényolajból-margarin” reakciót utánoztuk, ám nem lombikban, hanem élő sejtek membránjaiban (Vígh L. & Joó F., *Acta Biochim. Biophys. Acad. Sci. Hung.* 17: 153, 1982.; Vígh et al., *J. Mol. Catalysis* 22: 15, 1983.; Vígh L. & Joó F., *FEBS Letters*, 162: 423., 1983.; Vígh et al., *Eur. J. Biochem.* 147: 477, 1985.; Vígh et al., *FEBS Letters* 191: 200, 1985.; Vígh et al., *Eur. J. Biochem.* 146: 241, 1985.; Horváth et al., *Biochim. Biophys. Acta* 849: 325, 1986.; Horváth et al., *Chem. Phys. Lipids* 39: 251, 1986.; Thomas et al., *Biochim. Biophys. Acta* 849: 131, 1986.; Dominy et al., *Biochem. Soc. Trans.* 14: 56, 1986.; Hideg et al., *Photobiochem. Photobiophys.* 12: 221, 1986.; Vígh et al., *Biochim. Biophys Acta* 921: 167, 1987.; Horváth et al., *Biochim. Biophys. Acta* 891: 68, 1987.; Joó et al., *Cryobiol.* 25: 585, 1988.; Vígh et al., *Biochim. Biophys. Acta* 937: 42, 1988.). Tervünk lényege az volt, hogy élő kékalga sejtek citoplazmás membránjaiban a környezeti hőmérséklet változtatása nélkül, pusztán ezzel a módszerünkkel keltünk „hidegérzetet”. Jól tudtuk, hogy a zsírsavak cisz-kettős kötése által okozott “lánctörések” rendezetlenítenek, és megfordítva, ha azok egy részét hidrogénezéssel kiegyenesítjük, a membránok lipidmátrixában gél-szigetek jelennek meg és a membrán

azonnal keményre vált (Joó F. & Vígh L., Biological Role of Plant Lipids: Proceedings 8th Int. Symp. Biol. Role Plant Lipids, ppp. 533-536, 1988.). Pontosan úgy, ahogy az a hidegnek kitett növények membránjaiban történhet. Ráadásul, – a kilencvenes évek elején jártunk – egy japán csoport épp ezidőtájt fedezte fel egy kékalgá törzsben (*Synechocystis*) azt a gént, aminek az átírásából pedig olyan „deszaturáz” típusú fehérje keletkezik, ami a telített lipid-pálcikákat a membránban meghajlítgatni képes (Lehel et al., J. Biol. Chem. 268: 1799, 1993.). Nem lepődünk meg, amikor az említett deszaturáz gén hirtelen és nagy sebességgel működésbe lépett a kékalgá sejteket lehűtve (Török et al., Biochem. Biophys. Res. Commun. 192: 518, 1993.). Annál nagyobb volt az örömmünk azonban, amikor az említett deszaturáz gének aktiválása az élő kékalgá sejtek sejt felszíni membránjainak hidrogénezésére is beindult. Világossá vált kísérleteink során, hogy a membránok lipidfázisa „sejthőmérő” szereppel bír (Maresca B. & Cossins A.R.: Fatty feedback and fluidity, Nature News and Views 365: 606-607, 1993.). A mozaikokat összerakva kiderült, hogy akár a lehűtés, akár pedig az ennek hatását a membránban utánzó hidrogénezés során amint az első gél-szigetek megjelennek, a sejtek a létüket veszélyeztető folyamatot igyekeznek háttalanítani, bizonyos deszaturázok génexpressziójának azonnali, kb. százszoros aktivációjával. Ahogy megfigyelésünk nyomán arra egy, a Nature c. folyóiratban közölt reflexió rámutatott (Maresca B. & Cossins A.R.: Fatty feedback and fluidity, Nature News and Views 365: 606-607, 1993.), felismerésünk jelentősége abban állt, hogy elsőként hívta fel a figyelmet a lipid-vezérelt celluláris hőmérők létezésére.

Természetesen izgatott bennünket az is, hogy vajon mennyiben terjeszthető ki észrevételeink érvényessége a magas hőmérséklet okozta stressz viszonyaira. Vajon a gél-szigetek mintájára léteznek olyan lipid-szerkezetek amelyek jel-képző szereppel bírnak a hőstressz során? (Logue et al., Biochim. Biophys. Acta 1368: 41, 1998.). A feltevés első ránézésre elég bizarr logikai bukfencknek látszott, hiszen jól tudtuk, hogy a szervezetek a magas hőmérsékletekre ún. hősokk-fehérje termeléssel válaszolnak. Az ezeket kódoló hősokk gének az akkor uralkodó nézetek szerint a sejtek „meghibásodott fehérjéinek” szintje által szabályozódnak. A képződő hősokk fehérjék azután a magas hőmérséklettől (és még sok-sok más stresszhatástól) károsodást szenvedett fehérjékhez

kötődnek és/vagy visszaállítják (pl. visszatekerik) azok eredeti állapotát, vagy lebontásra ítélik azokat. A hősokk-fehérjék egyébként nem csak a károsodott, de a nyugalmi állapotú sejtekben is ellátják a már említett fehérje-konformáció őrző, a proteosztázist biztosító szerepüket. Hasonlatosak a gardedámokhoz: innen a chaperone elnevezés (a chaperone a korosabb hölgy, aki a bálban a gondjaira bízott leánykák erkölcsseire ügyel) (Sóti et al., *Brit. J. Pharmacol.* 146: 769, 2005.; Shigapova et al., *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 328: 1216, 2005.; Nagy et al., *PNAS* 104: 7945, 2007.; Csermely P. & Vigh L., *Advances in Exp. Med. Biol.*, Springer-Verlag, 2007.). A dolog számunkra akkor vett izgalmas fordulatot, amikor kiderült, hogy létezik a hősokk fehérjék bizonyos családjának egy további, eddig fel nem ismert funkciója is. Nevezetesen, hogy stressz hatására a membránokhoz kötődnek és védik azok integritását (Török et al., *PNAS* 94: 2192, 1997.; Török et al., *PNAS* 98: 3098, 2001.; Tsvetkova et al., *PNAS* 99: 13504, 2002.; Escriba et al., *J. Cell. Mol. Med.* 12: 829, 2008.). Ennek a felismerésnek a birtokában azután csöppet sem lepődtünk meg, hogy bizonyos körülmények között membránjaik lipidfázisában történő „zavarkeltésre” a sejtek akkor is hősokk fehérjéket produkáltak, ha sejtfehérjéikkel semmi sem történt mindeközben. Ahogy fentebb tárgyaltuk, ma már tudjuk, hogy a magas hőmérsékletnek kitett sejtekben nem csak a kitekeredő vagy denaturálódó, aggregálódó fehérjék, de a hiperfluidizálódó membrán maga is képes jeladó szerepet ellátni (Horváth et al., *PNAS* 95: 3513, 1998.; Balogh et al., *FEBS J.* 272: 6077, 2005.; Csermely P. & Vigh L., *Advances in Exp. Med. Biol.*, Springer-Verlag, 2007.). A jeladás és jeltovábbítás számos részletét azonban még sűrű homály fedi. Az indukálódó chaperone-ok egy része nem csupán bizonyos membránok segítségére is siet, de esetenként képes látványosan „visszakeményíteni” azok „legpuhább” régióit, feltehetően ezzel a negatív visszacsatolással azután kikapcsolva az aktivált stresszválasz jelpályákat (Horváth et al., *Biochim. Biophys. Acta* 1778: 1653, 2008.). A termométer membrán ezen modelljének érvényességét időközben számos prokarióta és eukarióta szervezetben végzett kutatások eredményei is alátámasztották.

Részben a membránok ilyen szenzorfunkciójának felismerése révén kerültünk közel munkatársaimmal a gyógyszerkutatáshoz és jellemeztünk elsőként egy olyan szintetikus kismolekula családot, amelynek hatására a sejtek hősokk fehérje expressziós aktivációja a stresszhatásnak egy sokkal alacsonyabb szintjén is beindul (Vígh et al., *Nature Medicine* 3: 1150, 1997.). Ezek az ún. hidroximsav származékok nem fehérje-toxikusak, maguk tehát nem okoznak stresszet, ám mégis leszállítják a hősokk fehérje válasz küszöbértékét. A molekulák specifikusan kölcsönhatnak bizonyos membrán-lipidekkel, és feltételezzük, hogy ez a kölcsönhatás nagyban közrejátszik azok stresszfehérje indukciós képességében (Török et al., *PNAS* 100: 3131, 2003.; Grimm et al., *J. Biol. Chem.* 286: 14028, 2011.; Balogh et al., *PLoS One* 6: p. 10.1371, 2011.; Literáti-Nagy et al., *Cell Stress Chaperon* 17: 517, 2012.; Balogh et al., *FEBS Letters* 587: 1970, 2013.). Világviszonylatban is kiemelkedő szenzáció volt a molekulák hősokk fehérje ko-indukciós képességének felfedezése (eredményeinket a *Nature Medicine* c. folyóirat hasábjain közzöltük – Vígh et al., *Nature Medicine* 3: 1150, 1997.), hiszen az ősi sejtvédő szereppel bíró hősokk fehérjék expresszióját fokozni képes molekulák potenciális gyógyszer jelöltek. Valóban, állatkísérletekben és klinikai tesztekben egyaránt hatásosnak bizonyultak bizonyos neurodegeneratív betegségek, vagy a diabéteszes szövődmények gyógyítására.

A membránok azonban csak egy optimális lipid- és fehérje összetételnél képesek biztosítani a stressz-jel képzés és jelátvitel egészséges szervezetre jellemző, optimális működését. Jól tudjuk, a membránok lipidösszetétele, így a membránok finomszerveződése bizonyos kóralapokban jellegzetesen módosul (Vígh et al., *TIBS* 32: 357, 2007.). Jelentősen változnak a membránok az öregedés során is – talán ezért van az, hogy ugyanarra a stresszre kevésbé jól válaszol az idős szervezet (Balogh et al., *FEBS Letters* 587: 1970, 2013.; Tóth et al., *Cell Stress Chaperon* 19: 299, 2014.; Literáti-Nagy et al., *Metab. Synd. Rel. Disord.* 12: 125, 2014.). Ha a membránok “elromlanak”, jelképző és jelátviteli folyamatok százai módosulhatnak, vagy romolhatnak el. A terápiás – gyógyszeres vagy genetikai – beavatkozások hatékonyságához nélkülözhetetlen a „normális” membránok pontos „térképezése”,

a membránhibák pontos feltárása. Egy japán kutatócsoport a sejtes inzulinrezisztenciát vizsgáló modelljében pl. nemrégiben igazolta, hogy az inzulinrezisztencia kialakulhat akár egyetlen „membrán-tutaj” alkotó lipidnek (GM3 gangliozid) a halmozódása miatt is. Adatok bizonyítják, hogy az inzulinrezisztencia kialakulásának patomechanizmusában sok egyéb mellett, a glukóztanszporter plazmamembránba történő vándorlásának meghibásodása is elvezethet (Escribá et al., Prog. Lipid Res. 59: 38, 2015.). Ez a „defekt” szintén eredhet a nem megfelelő lipidek kínálatától. A glukóztanszportert szállító vezikulumok plazma membránba oladásához, fúziójához nélkülözhetetlen bizonyos mennyiségű „fúziós hajlamú lipid” jelenléte.

Végezetül felmerül a kérdés: és innen hogyan tovább? Lehetséges-e megtalálni az egyes betegségek kialakulásáért felelős lipid molekulaszpecifikusokat, és azután az okozott membránhibákat? És kicsit szarkasztikusabban fogalmazva: lehetséges-e tűt keresni és főleg találni a szalmakazalban? A válasz biztató: talán igen. A megoldás kulcsa az a gyorsan fejlődő, rendszerszemléletű új tudományág lehet, amely a lipid analitikából kinőve, a több ezer egyedi lipid molekula – zömmel membránlipid – (a teljes „lipidom”) gyors minőségi és mennyiségi térképezését tűzi ki célul. A neve, lipidomika (Balogh et al.: Lipidomika, Magyar Tudomány 171: 1078, 2010). Az első hazai lipidomikai laboratóriumot nemrégiben sikerült Szegeden felállítanunk. A közelmúltban pedig – Szilvássy professzorral együttműködve - vizsgáltuk pl. a lipidom változásait egészséges és cukorbeteggá tett patkányokból származó szövetmintákon. A vizsgálat meglepően izgalmas új eredményeket hozott: számos olyan egyedi lipidféleség vált elkülöníthetővé (ezáltal felismerhetővé), amelyek csak a beteg vagy a beteg – ám gyógyszerekkel kezelt – populációkra voltak jellemzőek. Ezzel a szemlélettel ráadásul megvetettük az alapjait egy másik, napjainkban születő és izgalmasan új, potenciális gyógyító eljárásnak, az ún. “membránlipid terápiának” (Escribá et al., Prog. Lipid Res. 59: 38, 2015.). Erről, ill. a fenti gondolatok továbbviteléről, a paradigmaváltásról új stresszfehérje modulátor gyógyszerjelöltek azonosításában részletesen Török Zsolt kollégám számol majd be Önöknek. Ahogy a bevezetőmben hangsúlyoztam, a xenohormezis elveinek a gyakorlatba vitele alapul szolgálhat egy ilyen paradigmavál-

táshoz. A növényekből kinyert és tisztított xenohormetikumok celluláris “támadáspontjainak” azonosítása emlős sejtekben eddig ismeretlen molekuláris célpontokat jelölhet meg, biztosítva pl. az öregedés ill. a legkülönbözőbb betegségek során károsodott stresszfehérje alapú védelmi apparátus működésének a javítását, esetleg teljes helyreállítását (Hooper et al., Cell Stress Chaperon 15: 761, 2010.).