

Válasz Prof. Dr. Bíró György bírálatára

Szeretném megköszönni Bíró György professzor úrnak, hogy elvállalta, igen gyorsan elkészítette dolgozatom bírálatát, kedves szavait, amellyel a dolgozat tartalmát, nyelvezetét illette.

Egyetértek Professzor úrral, hogy a C-vitamin biológiai felhasználhatósága a terület egyik legfontosabb kérdése. Sajnos a terjedelmi korlátok miatt ezt nem volt lehetőségem mélyebben ismertetni. Tekintve, hogy Professzor úr a szőlőcukor aszkorbát transzportot, felszívódást illető kérdése összefügg ezzel a területtel, válaszomban röviden ki fogok térni erre a kérdéskörre is.

Szintén a terjedelmi korlátok miatt nem került be a mérési módszerek validálásával foglalkozó rész a dolgozatba. A dolgozat szempontjából legfontosabb méréseket, az aszkorbát, dehidroaszkorbát meghatározásokat Harapanhalli és munkatársai 1993-ban megjelent Journal of Chromatography cikke alapján végeztük, azonban a különböző általunk is alkalmazott C-vitamin meghatározási módszereket részletekbe menően összehasonlítottuk, gyümölcs, zöldség mintákon is validáltuk, eredményeinket az Acta Alimentaria hasábjain publikáltuk (Balogh és Szarka 2016). A másik igen gyakran alkalmazott eljárás, a transzport meghatározásra szolgáló gyors szűréses (rapid filtráció) módszert két ortodox, transzporttal foglalkozó laboratóriumban volt szerencsém elsajátítani (Angelo Benedetti, Sienai Egyetem, Nele Horemans, Antwerpeni Egyetem) (Benedetti és mtsai 1985, Horemans és mtsai 1996). A módszert mindkét labor validálta, a kísérletek megkezdésekor én magam is validáltam, illetve alameticines validálást minden egyes transzport mérés esetén többször magam is végeztem.

A megfelelő sejtorganellum minőség különösen kritikus a transzportmérések szempontjából, ezért a mitokondrium, mitoplaszt és mikroszóma preparálás folyamatát irodalmi előzmények alapján magam állítottam be és folytattam le validálásukat. A mitokodrium esetében a preparátum citokróm C oxidáz aktivitásának, illetve annak latencia mérése alapján, a mitoplaszt esetében alameticines transzport mérésekkel, a mikroszóma esetében jellegzetes mitokondriális, illetve mikroszómális markerenzimek aktivitása (citokróm c oxidáz, glukuronil-transzferáz, glukóz-6- foszfátáz) alapján (Szarka és mtsai 2002, 2004) validáltam.

Az egyes mérési módszerek eredetét, forrását, azok validálását végző referenciákat a vonatkozó eredeti közleményeimben feltüntettem.

„Az aszkorbát és a glükóz kölcsönhatásának tisztázása azért is fontos, mert van olyan közlemény, amely szerint a szőlőcukor olyan mértékben gátolja az aszkorbát profilaktikus effektusát, hogy az étrend alapját hús, zsír és belsőség képezze, mert ezekből elegendő C-vitamin kerül az ember szervezetébe és hiányzik a glükóz kompetíció (Clemens Zs, Tóth Cs: Vitamin C and Disease Insight from the Evolutionary Perspective. J Evolution and Health. 2016;1:Iss. 1, Article 13; DOI: 10.15310/2334-3591.1030). Mi erről a jelölt véleménye?”

A C-vitamin felszívódása a vékonybél epitélium polarizált enterocitáin keresztül történik. Mindkét redox formája, mind az aszkorbát, mind a dehidroaszkorbát a vékonybél teljes

hosszán felszívódik (Malo és Wilson 2000). A jejunumból preparált vezikulákon történt transzportmérések valóban azt mutatták, hogy az intravezikuláris (tehát citoplazmatikus oldalon levő) glükóz gátolja az aszkorbát felvételét. Ez a megfigyelés egyben arra is utal, hogy az aszkorbát felvétel (felszívás) folyamatában a nátrium-függő glükóz transzporterek nem vesznek részt, mivel kizárólag a citoplazmatikus oldalon található glükóz lassította az aszkorbát nátrium függő felvételét (transz oldali gátlás), versengés (cisz oldali gátlás) nem volt tapasztalható (Malo és Wilson 2000). A glükóz kizárólag az aszkorbát felvételét gátolta a dehidroaszkorbátét nem, ami valószínűleg a dehidroaszkorbát, aszkorbáthoz képesti biológiai felhasználhatóságát (bioavailability) növeli. Amennyiben a glükóz transz gátlása *in vivo* következik be, az valóban azt jelentheti, hogy a felszívódott glükóz és a hiperglikémia csökkenti az aszkorbát biológiai felhasználhatóságát a vitamin felszívódásának lassítása révén. Azt gondolom, hogy ennél a pontnál érdemes figyelembe vennünk azt a tényt, hogy az aszkorbát a vékonybél teljes hosszán felszívódik, tehát még a csökkent felszívódási sebesség mellett is alkalom adódik a transzportjára, felszívódására. Más élelmiszerekben, illetve gyógyszerekben található alkotók is hasonló hatással rendelkeznek. Például a nátrium-aszkorbát kotranszportot *in vitro* (Dixon 1991) gátolja a szalicilát, ami magyarázhatja az aszpirin okozta csökkent aszkorbát biológiai felhasználhatóságot (Ioannides és mtsai 1982). Az is viszonylag régóta ismert, hogy flavonoidok, mint például a quercetin szintén gátolja az aszkorbát transzportot, felszívódást (Song és mtsai 2002). Ez utóbbit (és a glükóz gátló hatását) mi is kihasználtuk kísérleteink során. A vörös szőlő levében nagy mennyiségben található quercetin és más flavonoidok gátló hatása magyarázhatja azt az embereken végzett megfigyelést, amely szerint a gyümölcsle fogyasztását követően a ¹³C-aszkorbát felszívódása csökkent.

A glükóz (és a flavonoidok) aszkorbát transzportot, felszívódást lassító hatása azonban korántsem biztos, hogy káros, vagy előnytelen. Az aszkorbát és más antioxidánsok minden mennyiségben felüli bevitele egyáltalán nem előnyös, hiszen felboríthatja szervezetünk, sejtjeink redox háztartását. Erre utal az a megfigyelés is, amely szerint az aszkorbát szervezetbe, illetve sejtekbe történő felvétele szigorúan szabályozott. Az aszkorbát saját maga is leszabályozza a nátrium-aszkorbát kotranszportot (Malo és Wilson 2000). Az intracelluláris aszkorbát szint mind az SVCT1, mind az SVCT2 kifejeződésének fontos szabályozó faktora. Az intestinális lumen magas aszkorbát tartalma az enterociták SVCT1 mRNS szintjének csökkenését eredményezte (MacDonald és mtsai 2002). Az SVCT1, aszkorbát hatására tapasztalt leszabályozása egyértelműen megkérdőjelezi az orálisan megadózisban bevitt C-vitamin létjogosultságát. Az aszkorbát felszívásban nagyobb szerepet kapó SVCT1 transzporter szabályozásán túl érdemes a sejtek aszkorbát felvételében nagyobb szerepet kapó SVCT2 transzporter szabályozására is röviden kitérni. Az SVCT2 aktivitása ebben az esetben is inverz módon függ az intracelluláris aszkorbát szinttől (Savini és mtsai 2007a). Talán még érdekesebb, hogy a sejtek redox egyensúlyát hidrogén-peroxiddal az oxidált irányba eltolva az SVCT2 mRNS és fehérjeszint növekedését, míg más antioxidánsokkal például liponsavval a redukált irányba eltolva a markáns csökkenését lehetett megfigyelni (Savini és mtsai 2007b). Mindezek a megfigyelések arra utalnak, hogy a sejtek redox állapota befolyásolja az SVCT2 kifejeződését és ezen keresztül az aszkorbát transzportját, sejtbeli szintjét.

A glükóz a finomított cukor megjelenése előtti időkben kizárólag növényi táplálékokkal kerülhetett szervezetünkbe, így nem kizárható, hogy a jelenség hátterében az aszkorbát felszívás direkt csökkentése, lassítása állhat. A glükóz fogyasztás (jelenlét) tehát egy lassabb, elnyújtottabb aszkorbát felszívódást eredményezhet, amely egy vízoldható antioxidáns esetében még kedvező is lehet. Mindenesetre a növényi források olyan nagy mennyiségben tartalmazzák az aszkorbátot, hogy a glükóz aszkorbát transzportját gátló hatása, hiányát semmiképpen sem okozza.

Ami az állati forrásokból történő aszkorbát bevitelt illeti, ez is egy lehetőség bár az átlagos aszkorbát tartalom állati izomszövetben (húspan) mindössze 1-3 mg/100 g szövet (Geraci és Smith 1979). Clemens Zsófia és Tóth Csaba cikkét, illetve annak forrásait alaposabban áttanulmányozva érdekes megállapításokra juthatunk. Az állati eredetű C-vitaminforrás tanulmányozásának kedvelt alanyai az inuit őslakosok (eszkimók) (Geraci és Smith 1979). Az őslakosok nagy mennyiségben fogyasztanak szárított hal és fókahúst, amelyek C-vitamintartalma szintén 1-3 mg/100 g szövet közé esik. Nagy vitamintartalmú táplálékuk a májszövet és a „muktuk” a beluga bálna bőre, amelyekben az izomtól egy nagyságrenddel nagyobb mennyiségben található a C-vitamin. Az eredeti tanulmány szerzői úgy találták, hogy a nagy mennyiségű nyers hússal és belsőséggel táplálkozó inuit őslakosok nyári diétája naponta mintegy 10-100 mg C-vitamint tartalmazhat (Geraci és Smith 1979). A téli diétát nem vizsgálták. Az eredeti tanulmány (Geraci és Smith 1979) szerzői az említett hús, belsőségek aszkorbát tartalmát nyersen és 10 perces forralást követően is meghatározták. Clemens Zsófia és Tóth Csaba cikkének állításával szemben igen jelentős hőbomlást állapítottak meg, a májszövet esetében harmadára esett, az izomszövet (hús) esetében 0,3-0,8 mg/100 g szövetre esett a vizsgált minták C-vitamin tartalma. Ez a hőbomlás egyáltalán nem kisebb mértékű, mint a növényi források esetében tapasztalható. Az eredeti közlemény szerzői a sarkkörön a nyári időszakban fellelhető és az őslakosok által is fogyasztott növények esetében is elvégezték a kísérletet, a növények esetében 4-5 mg/100 g szövetre esett a vizsgált minták C-vitamin tartalma. Növényi források hőkezelésével kapcsolatban mi magunk is számos kísérletet végeztünk. Brokkoli esetében a 10 perces forralást követően 57,3, míg nyers esetben 91 mg/100 g szövet volt a minták C-vitamin tartalma. Zöldborsó esetében nyersen 6,86; 7 perces forralást követően 3,25; 14 percet követően 2,36; 21 és 28 percet követően 2,26 és 2,13 mg/100 g szövet volt a minták C-vitamin tartalma. Az aszkorbát bomlása nem a szövet eredetétől, hanem a körülményektől (így persze a mátrixtól) is függ, kiemelendő a pH és a fémionok hatása. A májszövet rendkívül nagy mennyiségű vasat tartalmaz, így az aszkorbát bomlása is jelentős mértékű lesz. Sajnos ezen faktorok hatását az eredeti Geraci és Smith által jegyzett tanulmány nem vizsgálta, illetve nem kontrollálta. Clemens Zsófia és Tóth Csaba cikke tehát nem teljes valójában idézte az eredeti kísérletes közleményt.

Itt fontos megjegyeznünk, hogy a skorbut már 10 mg/nap C-vitamin bevitelével elkerülhető, amelyhez 10 μ M-os aszkorbát plazma koncentráció társul (Padayatty és mtsai 2003). Természetesen „normális” kiegyensúlyozott diéta mellett ez utóbbi érték közel egy nagyságrenddel magasabb. Ez utóbbi nem véletlen, hiszen az ideális és a skorbutmentes

egészségi állapot között jelentős különbség van, amelyhez a magasabb C-vitamin szint is hozzájárul.

Amennyiben azt tételezzük fel, hogy az inuitok egyáltalán nem fogyasztanak olyan ételt, amelyből glükóz származna, akkor megállapíthatjuk, hogy a glükóz, aszkorbát felvételt okozó gátlásának elmaradása segíti az inuitokat, abban, hogy legalább a skorbut elkerüléséhez szükséges mennyiséghez hozzájussanak.

Fontosnak tartom megjegyezni, hogy az aszkorbát bevitele csak egy a táplálkozástudományi szempontok közül, a nyers hús és belsőségek fogyasztása más táplálkozástudományi, élelmiszerbiztonsági kockázatokat vonnak maguk után, így személyes meglátásom szerint a növényi C-vitamin források kedvezőbbek.

Végezetül szeretném még egyszer megköszönni Bíró György Professzor úr értékes, új gondolatokat, kutatási ötleteket inspiráló bírálatát.

Tisztelettel kérem az opponensi véleményre adott válaszom elfogadását.

Budapest, 2017. március 6.



Szarka András

Referencia lista

- Balogh T, Szarka A (2016) A Comparative Study: Methods for the determination of ascorbic acid in small and middle sized food analytic laboratories *Acta Alimentaria* x:(x) Paper 10.1556/AAlim.2015.0017
- Benedetti A, Fulceri R, Comporti M. Calcium sequestration activity in rat liver microsomes. Evidence for a cooperation of calcium transport with glucose-6-phosphatase. *Biochim Biophys Acta*. 1985 Jun 27;816(2):267-77.
- Dixon SJ, Kulaga A, Jaworski EM, Wilson JX. 1991. Ascorbate uptake by ROS 17/2.8 osteoblast-like cells: substrate specificity and sensitivity to transport inhibitors. *J. Bone Miner. Res.* 6:623–29
- Geraci J.R., Smith T.G. Vitamin C in the diet of inuit hunters from Holman northwest territories. *Arctic* 1979;**32**:135–139.
- Harapanhalli RS, Howell RW, Rao DV. Testicular and plasma ascorbic acid levels in mice following dietary intake: a high-performance liquid chromatographic analysis. *J Chromatogr.* 1993 May 5;614(2):233-43.
- Horemans, N., Asard, H. & Caubergs, R.J. Protoplasma (1996) Transport of ascorbate into plasma membrane vesicles of *Phaseolus vulgaris* L. 194: 177. doi:10.1007/BF01882025
- Ioannides C, Stone AN, Breacker PJ, Basu TK. 1982. Impairment of absorption of ascorbic acid following ingestion of aspirin in guinea pigs. *Biochem. Pharmacol.* 31:4035–38
- MacDonald L, Thumser AE, Sharp P (2002). Decreased expression of the vitamin C transporter SVCT1 by ascorbic acid in a human intestinal epithelial cell line. *Br J Nutr* **87**: 97–100.
- Malo C, Wilson JX. 2000. Glucose modulates vitamin C transport in adult human small intestinal brush border membrane vesicles. *J. Nutr.* 130:63–69
- Padayatty SJ, Katz A, Wang Y, Eck P, Kwon O, Lee JH *et al.* (2003). Vitamin C as an antioxidant: evaluation of its role in disease prevention. *J Am Coll Nutr* **22**: 18–35.
- Savini I, Catani MV, Arnone R, Rossi A, Frega G, Del Principe D *et al.* (2007b). Translational control of the ascorbic acid transporter SVCT2 in human platelets. *Free Radic Biol Med* **42**: 608–616
- Savini I, Rossi A, Catani MV, Ceci R, Avigliano L (2007a). Redox regulation of vitamin C transporter SVCT2 in C2C12 myotubes. *Biochem Biophys Res Commun* **361**: 385–390.
- Song J, Kwon O, Chen S, Daruwala R, Eck P, *et al.* 2002. Flavonoid inhibition of sodium-dependent vitamin C transporter1 (SVCT1) and glucose transporter isoform 2 (GLUT2), intestinal transporters for vitamin C and glucose. *J. Biol. Chem.* 277:2252–6

Szarka A., Horemans N., Bánhegyi G., Asard H. (2004) Facilitated glucose and dehydroascorbate transport in plant mitochondria. *Arch. Biochem. Biophys.* 428: 73-80.

Szarka A., Stadler K., Jenei V., Margittai É., Csala M., Jakus J., Mandl J., Bánhegyi G. (2002) Ascorbyl free radical and dehydroascorbate formation in rat liver endoplasmic reticulum. *J Bioenerg Biomembr.* 34: 317-323.