

Freie Radikale und Antioxidantien

1. Vorbemerkung

Tagtäglich erfahren wir über die Medien, in Drogeriemärkten und in Apotheken, dass wir zum Schutz gegen die negativen Auswirkungen von freien Radikalen sogenannte Radikalfänger, die als Wundermittel gegen Arteriosklerose, Krebs, das Altern, Diabetes usw. gepriesen werden, vermehrt aufnehmen sollen. Aber was sind eigentlich Radikalfänger, freie Radikale und oxidativer Stress?

2. Von freien Radikalen und einsamen Elektronen

Freie Radikale sind Atome oder Moleküle, die ein oder mehrere ungepaarte (freie) Elektron/en besitzen (gekennzeichnet mit einem Punkt als Zeichen des freien Elektrons) und dadurch instabile, kurzlebige und hoch reaktive Moleküle darstellen. Als reaktive Sauerstoffspezies (ROS) werden auch reaktive Sauerstoffverbindungen ohne Radikalcharakter, wie Wasserstoffperoxid, Singulett-Sauerstoff, hypochlorige Säure oder Ozon bezeichnet.

Spezies	Name	Entstehung	Halbwertszeit in Sekunden
Hydroxylradikal	HO^\bullet	aus H_2O_2 durch Übergangselemente	10^{-9}
Superoxidradikal	$\text{O}_2^{\bullet-}$	Respiratory Burst	10^{-6}
Alkoxyradikal	RO^\bullet	Lipidperoxidation	10^{-6}
Peroxyradikal	ROO^\bullet	Lipidperoxidation	2 bis 10
Singulett-Sauerstoff	$^1\text{O}_2$	Bestrahlung	10^{-5}
Wasserstoffperoxid	H_2O_2	Respiratory Burst	?

Tabelle 1: Freie Radikale

Da „einsame“ Elektronen bestrebt sind, rasch einen Elektronenpartner zu finden, entreißen sie diesen dem nächstliegenden Molekül. Das können Proteine, Lipide, Kohlenhydrate usw. sein, die dadurch in ihrer Funktion verändert werden. Ein Zuviel an ROS kann durch Umwelttoxene (z.B. Luftschadstoffe, Schwermetalle, Pestizide), Genussmittel (Alkohol, Tabak) oder inadäquate körperliche Belastung wie z.B. falsches Training entstehen. Die Metabolisierung diverser Medikamente wie Zytostatika, orale Kontrazeptiva, Paracetamol, Antibiotika wie Chloramphenicol oder Nitrofurantoin führt ebenfalls zu einer vermehrten Radikalfreisetzung. Reaktive Sauerstoffspezies erfüllen aber auch positive Funktionen im Organismus, so dienen sie beispielsweise dazu, eindringende Mikroorganismen abzutöten oder als Mediatoren die Synthese von Interleukinen zu stimulieren.

Das bedeutet, dass der menschliche Organismus täglich mit einer Vielzahl an reaktiven Sauerstoffspezies konfrontiert ist. Damit es nicht zu einer übermäßigen Gewebeschädigung kommt, hat sich ein ausgeklügeltes System an Schutzmechanismen gegen den Angriff freier Radikale und ROS entwickelt.

3. Antioxidantien

Unter Antioxidantien versteht man Substanzen, die in niedrigen Konzentrationen den Organismus vor unerwünschten oxidativen Schäden schützen. Man unterscheidet zwischen enzymatischen und nicht enzymatischen antioxidativen Abwehrsystemen. Zu den enzymatischen Antioxidantien gehören vor allem die Superoxiddismutase, die Glutathionperoxidase und die Katalase. Damit diese Enzyme arbeiten können, benötigen sie Selen, Kupfer, Mangan, Zink und Eisen. Bei den nicht enzymatischen Antioxidantien unterscheidet man zwischen endogenen Antioxidantien (z.B. Glutathion) und den exogenen Antioxidantien, die über die Nahrung zugeführt werden müssen, wie Vitamin C, Vitamin E, Karotinoide (β -Karotin, Lycopin, Kryptoxanthin, ...) und sekundäre Pflanzeninhaltsstoffe (Polyphenole, Flavonoide, ...).

4. Oxidativer Stress

Das Gleichgewicht zwischen antioxidativen und prooxidativen Faktoren ist also für die physiologische Zellfunktion von entscheidender Bedeutung. Ist dieses Gleichgewicht gestört, indem z.B. mehr reaktive Sauerstoffverbindungen gebildet werden als durch die Antioxidantien abgefangen werden können, so spricht man von oxidativem Stress. Bei der Entstehung von oxidativem Stress spielen sowohl endogene als auch exogene Faktoren eine wesentliche Rolle.

Durch dieses Ungleichgewicht werden Pathomechanismen in Gang gesetzt, die in Zusammenhang mit einer Vielzahl von Erkrankungen gebracht werden. Zu nennen wäre hier an erster Stelle Arteriosklerose mit Herzinfarkt und Schlaganfall als Folge. Aber auch die Beteiligung an Entzündungsvorgängen, Sepsis, Karzinogenese und neurodegenerativen Prozessen scheint augenscheinlich. Allerdings konnte bis heute noch kein kausativer Zusammenhang zwischen oxidativem Stress und diesen Erkrankungen aufgezeigt werden.

4.1. Vermeidung des oxidativen Stresses

Die beste Möglichkeit, einen ausgeglichenen Zustand zwischen Oxidantien und Antioxidantien aufrechtzuerhalten, ist ein ausgewogener Lebensstil. Dazu zählt eine ausgewogene Ernährung, mit der eine Kombination aus möglichst vielen Antioxidantien aufgenommen wird. Im Vordergrund einer solchen Ernährung stehen Obst- und Gemüseprodukte. Radikalfänger sind besonders reichlich in gelben, orangeroten und roten Obst- und Gemüsearten sowie in dunkelgrünem Gemüse (z.B. Möhren, Rotkohl, Spinat, Kürbis, Radicchio, Tomaten, Aprikosen, Kirschen, Erdbeeren) enthalten. Weiters kann durch adäquates körperliches Training einerseits die Effizienz der antioxidativen Enzyme gesteigert werden und andererseits bilden Trainierte weniger ROS. Die Vermeidung von exogenen ROS-Quellen (z.B. Tabak-, Alkoholkonsum) führt ebenfalls zum Einsparen von Antioxidantien. Eine gute Hilfe für die Umsetzung eines ausgewogenen Lebensstil bzw. einer ausgewogenen Ernährung bietet die „Gesund-Leben-Pyramide“ (siehe Beitrag „Empfehlungen für ein gesundes Ernährungs- und Bewegungsverhalten – die „Gesund-Leben-Pyramide“ als Guideline“).

5. Stand der Forschung

5.1. Interventionsstudien

In zahlreichen epidemiologischen Untersuchungen wurde klar gezeigt, dass Personen, die viel Obst und Gemüse verzehren, ein verringertes Risiko aufweisen, an Krebs oder Herz-Kreislauf-Erkrankungen zu erkranken. Da Obst und Gemüse reich an Antioxidantien sind, geht man davon aus, dass die in der Nahrung enthaltenen Antioxidantien zur Prävention beitragen. Deshalb wurden in den vergangenen Jahren groß angelegte Interventionsstudien mit gezielt ausgewählten Antioxidantien durchgeführt.

Die Ergebnisse dieser Studienreihen sind jedoch alarmierend. Bei keiner dieser über mindestens eineinhalb bis maximal dreizehn Jahre laufenden Untersuchungen erreichte man mit der Antioxidantiensupplementation positive Ergebnisse. Hohe Dosen an β -Karotin (20–30 mg/d) erhöhten sogar das Lungenkrebsrisiko in Hochrisikogruppen, wie Rauchern oder Asbestarbeitern. Weiters zeigte β -Karotin einen leichten aber signifikanten Anstieg in der Gesamtmortalität und in der kardiovaskulären Mortalität. Da gerade Hochrisikopatienten (z.B. Raucher) jene Gruppe darstellen, bei der ein positiver Effekt durch eine Antioxidantiensupplementation erwartet wurde, sind diese Studienergebnisse umso enttäuschender.

Interessanterweise scheint ein verminderter Serumspiegel an β -Karotin nicht ursächlich mit dem Krebsrisiko zu korrelieren, sondern vielmehr ein Indikator für den Verzehr von Obst und Gemüse zu sein. Eine tägliche Aufnahme bis zu 10 mg/d β -Karotin über die Nahrung wird als unbedenklich angesehen.

Auch für α -Tocopherol konnte in den Interventionsstudien kein präventiver Effekt hinsichtlich der Gesamtmortalität, des Risikos der kardiovaskulären Mortalität oder der cerebrovaskulären Ereignisse aufgezeigt werden. Mittlerweile liegen genügend Interventionsstudien vor, um Meta-Analysen zu verschiedenen Krankheitsbildern durchzuführen. Die Zusammenfassung mehrerer Interventionsstudien verändert aber die Aussage über die Supplementation nicht. Es gibt keinerlei Hinweise, dass eine Antioxidantiensupplementation in der Krankheitsprävention oder Therapie von

Vorteil wäre. Eine Ausnahme stellt Vitamin C dar, das bei Spitzensportlern zu einer 50 %igen Verringerung an grippalen Infekten führt. In der Normalbevölkerung zeigt sich kein präventiver Effekt, aber die Krankheitsdauer bei Erwachsenen kann um 8 % und bei Kindern um 13 % verringert werden.

Zusammenfassend kann man sagen, dass eine längerfristige Aufnahme von antioxidativ wirkenden Supplementen abzulehnen ist.

5.2. Klinische Studien

Im klinischen Bereich liegen zahlreiche Beobachtungsstudien vor, die einen Abfall an Antioxidantien (Serum-Vitamin-C, Vitamin E, β -Karotin, Mikronährstoffe), eine verminderte Aktivität der antioxidativen Enzyme, eine Vermehrung von oxidativ geschädigten Biomolekülen und eine verminderte antioxidative Kapazität beschreiben. Dies gilt sowohl für akute Krankheitsbilder (Polytrauma, ARDS, Verbrennungspatienten, ...) als auch für chronische wie cystische Fibrose, rheumatoide Arthritis, Morbus Crohn etc. Wenn oxidativer Stress nicht nur ein unbedeutendes Epiphänomen bei diversen Erkrankungen darstellt, dann müsste eine Supplementation mit Antioxidantien, die auf eine Verringerung der durch ROS entstehenden Folgeschäden abzielt, zu einer Besserung des pathophysiologischen Zustandes führen. Eine erwartete Verbesserung der Symptomatik durch parenterale oder enterale Supplementation mit Antioxidantien bleibt allerdings in den meisten Untersuchungen aus. Einzelne Studien zeigen zwar positive Effekte, wie z.B. die Verringerung der Mortalität bei Verbrennungspatienten mit extrem hohen Dosierungen an Vitamin C (110 g am ersten Tag), dennoch können keine generellen Schlüsse über die positive Wirkung von Antioxidantien gezogen werden.

Fazit: Zurzeit besteht keine wissenschaftlich fundierte Begründung für die Supplementation mit Antioxidantien. Randomisiert kontrollierte Studien zeigen keinen Benefit einer Antioxidantiengabe. Ganz im Gegenteil: Die Einnahme an Präparaten, die Antioxidantien enthalten, zeigte in großen Interventionsstudien sogar negative Effekte. So unglaublich diese Ergebnisse auch sein mögen, die Entscheidungen für Patienten werden nicht auf hypothetischen Grundlagen, sondern anhand von randomisierten, doppelblind placebokontrollierten Studien am Menschen gefällt. Aus diesem Grund sollte im Moment keine Empfehlung für eine Supplementation erfolgen. Wenn wir wissen, welche Antioxidantien in welcher Menge und zu welchem Zeitpunkt verabreicht werden sollen, besteht die Hoffnung, dass Antioxidantien tatsächlich den Sprung zum Therapeutikum schaffen.

6. Diagnostische Methoden

Da freie Radikale eine extrem kurze Lebensdauer haben, ist es bis jetzt praktisch unmöglich, sie direkt im Organismus zu bestimmen. Aus diesem Grund versucht man Surrogatparameter zu bestimmen. Diese können

- die Konzentration der Antioxidantien im Plasma,
- die durch oxidativen Stress geschädigten Biomoleküle oder
- die antioxidative Kapazität sein.

6.1. Konzentration von Antioxidantien in Plasma/Serum

Für die Bestimmung der Antioxidantien im Plasma oder Serum werden am häufigsten folgende Parameter herangezogen:

- Vitamin E,
- Vitamin C,
- β -Karotin,
- Selen und
- Zink.

Die Bestimmung von Vitamin E, Vitamin C und β -Karotin wird aus Serum mit Hilfe der HPLC durchgeführt. Die Spurenelemente Selen und Zink werden ebenfalls aus Serum oder EDTA-Plasma mit Hilfe der Atomabsorptionsspektroskopie bestimmt. Der Verlust an einem individuellen Antioxidans kann im Serum oder Plasma gemessen werden und als Index für oxidativen Stress gelten. Man sollte aber nicht außer Acht lassen, dass eine Verminderung eines Antioxidans nicht notwendigerweise bedeutet, dass oxidativer Stress vorliegt, es kann einfach bedeuten, dass der Abwehrmechanismus seine normale Funktion erfüllt hat.

6.2. Durch oxidativen Stress geschädigte Biomoleküle

6.2.1. Malondialdehyd (MDA)

Eine der am häufigsten verwendeten Methoden zur Bestimmung der oxidativen Schädigung von Biomolekülen stellt die Messung von Malondialdehyd als Abbauprodukt der Lipidperoxidation dar. Bei dieser Methode wird die biologische Probe mit Thiobarbitursäure inkubiert, welche ein Addukt mit Malondialdehyd bildet und spektrophotometrisch bestimmt werden kann. So einfach diese Methode zu sein scheint, gibt es auch hier erhebliche methodische Schwierigkeiten. So reagiert Thiobarbitursäure nicht nur mit Malondialdehyd, sondern auch mit anderen Molekülen (z.B. Biliverdin, einige Aminosäuren).

6.2.2. Oxidierter LDL-Antikörper (OxLab)

Eine relativ neue Methode ist die Bestimmung von Antikörpern gegen oxidiertes LDL. Diese Antikörper stellen einen körpereigenen Schutz gegen oxidiertes LDL dar und verhindern dessen Permeabilität durch die Gefäßwand. Eine Erhöhung der Antikörper gegen oxidiertes LDL wird als Indikator für oxidativen Stress gewertet. So konnte eine erhöhte Menge an diesen Antikörpern bei Patienten mit akutem Myokardinfarkt, Inflammation sowie Sepsis festgestellt werden. Die Messung erfolgt mittels „enzyme linked immuno assay“ (ELISA).

6.2.3. Totale antioxidative Kapazität

Es stehen verschiedene Assays für die Bestimmung der antioxidativen Kapazität in Körperflüssigkeiten zur Verfügung. Das Grundprinzip all dieser Methoden ist gleich. Die in der biologischen Probe enthaltenen Antioxidantien schützen ein chromogenes Substrat vor dem durch ein Radikal induziertem oxidativen Angriff. Die Zeitspanne und das Ausmaß, mit der die Probe diese Oxidation verhindert, kann bestimmt werden und wird meist mit Trolox (wasserlösliches Vitamin E) oder Vitamin C als Standard verglichen. Je länger es dauert, um ein Chromogen zu oxidieren, desto höher ist die

antioxidative Kapazität. Durch verschiedene Extraktionen kann man die antioxidative Kapazität von lipidlöslichen und wasserlöslichen Substanzen untersuchen.

Die Bestimmung der totalen antioxidativen Kapazität in Körperflüssigkeiten liefert einen pauschalen Eindruck über die relative antioxidative Aktivität der biologischen Probe. Die Resultate sollten aber im Licht der biochemischen Grundlagen dieser Methoden beurteilt werden. Da die antioxidative Kapazität des Plasmas hauptsächlich von der Konzentration an Albumin, Harnsäure und Bilirubin abhängig ist, kann die antioxidative Kapazität auch gemäß folgender Formel berechnet bzw. abgeschätzt werden.

$$\text{Errechnete AO-Kapazität} = (\text{Albumin}) \times 0,63 + (\text{Harnsäure}) \times 1,02 + (\text{Bilirubin}) \times 1,5$$

(Angaben in nmol/l)

Eine erhöhte antioxidative Kapazität des Plasmas oder Serums bedeutet also nicht zwangsläufig einen besseren Schutz. So kann ein hoher Harnsäurewert eine gute antioxidative Kapazität vortäuschen, aber eine Depletion an z.B. exogenen Antioxidantien verschleiern. So fallen bei Patienten mit chronischem Nierenversagen die Werte für die antioxidative Kapazität nach Hämodialyse drastisch ab.

In ähnlicher Weise bedeutet eine geringe totale antioxidative Kapazität nicht unbedingt, dass der Organismus einem erhöhten oxidativen Stress ausgesetzt war. Es kann genauso gut sein, dass die Produktion von reaktiven Sauerstoffspezies vermindert war und daher auch die antioxidativen Schutzmechanismen angepasst wurden.

6.3. Indikation zur Messung des oxidativen Stresses

Da oxidativer Stress offensichtlich in engem Zusammenhang mit dem Lebensstil steht, kann die Messung des oxidativen Stresses ein guter Anstoß für eine Bewusstseinsänderung in Sachen Ernährung, Bewegung und Umgang mit Stress sein. Aus ernährungsmedizinischer Sicht ist eine Kost reich an Obst und Gemüse zu empfehlen.

Untersuchung	Benötigtes Material	Normalbereiche	Methode	Anmerkung
Antioxidative Kapazität lipidlöslicher Substanzen	Serum	55 bis 137 $\mu\text{mol/l}$	photometrisch	Bei Verminderung Bestimmung von Vitamin E evtl. β -Karotin, Ubichinon.
Antioxidative Kapazität wasserlöslicher Substanzen	Serum	M: 534 bis 915 mmol/l F: 213 bis 629 mmol/l	photometrisch	Bei Verminderung Bestimmung von Vitamin C.
Vitamin E	Serum lichtgeschützt	4 bis 16 mg/l	HPLC	

Untersuchung	Benötigtes Material	Normalbereiche	Methode	Anmerkung
Vitamin C	Serum lichtgeschützt	5 bis 15 mg/l	HPLC	
β -Karotin	Serum lichtgeschützt	150 bis 1.100 μ g/l	HPLC	
Selen	Serum	60 bis 140 μ g/l	AAS	Bestimmung der GSH-Pxd
Zink	Serum ohne Trenngel	M: 11,1 bis 17,5 μ mol/l F: 10,7 bis 17,5 μ mol/l	AAS	
Malondialde- hyd (MDA)	EDTA-Blut	< 1 μ mol/l	HPLC, spektro- photometrisch	
oxLAB	Serum	< 900 U/l	ELISA	
Glutathion- Peroxidase (GSH-Pxd)	EDTA-Blut	27,5 bis 73,6 U/l	photometrisch	Bestimmung bei Selenmangel
Superoxiddis- mutase (SOD)	EDTA-Blut	700 bis 1.100 U/g Hb	photometrisch	

Tabelle 2: Diagnostische Methoden

7. Zusammenfassung

Insgesamt zeichnet sich ab, dass die Aufnahme von Obst- und Gemüseprodukten, die auch reichlich Antioxidantien enthalten, ein beträchtliches biologisches Potential in der Krankheitsprävention und auch in der Therapie bietet.

Vorsicht ist geboten bei der Aufnahme von antioxidativ wirkenden Supplementen. Obwohl viele Krankheiten mit einer Erhöhung des oxidativen Stresses korrelieren, gibt es keine evidenzbasierten Hinweise, dass die Supplementation mit Antioxidantien Krankheiten verhindern oder heilen kann.

Die Gründe dafür sind:

- Antioxidantien können in höheren Mengen oder durch veränderte Umgebungsbedingungen (Vorhandensein von Übergangselementen, freies Eisen, Kupfer, ...) auch prooxidative Wirkungen entfalten.
- Große Interventionsstudien (20.000 bis 30.000 Studienteilnehmer!) über die chronische Supplementierung mit β -Karotin und α -Tocopherol zeigen wenig Erfolg bzw. sogar negative Ergebnisse.

- Für den Großteil an antioxidativ wirkenden Nährstoffen liegen keine vergleichbaren Studien vor.
- Die von niedergelassenen Ärzten durchgeführten Therapien mit Antioxidantien haben leider nur anekdotischen Wert, da keine wissenschaftlichen Publikationen über diese Behandlungen vorliegen und sie sich damit einer evidenzbasierten Beurteilung entziehen.
- Die kurzfristige klinische Gabe von Antioxidantien, v.a. Vitamin C und Vitamin E, zeigte bei einigen Krankheitsbildern positive Effekte. Allerdings stehen auch hier größere systematische Studien aus.

Eines der größten Probleme im diagnostischen und interventionellen Bereich ist, dass wir bis heute nicht wissen, wie die Antioxidantien untereinander vernetzt sind. In den meisten Fällen wissen wir noch nicht einmal, wo sie wirken bzw. in welcher Konzentration sie in welchen Geweben zu finden sind.

Literatur

1. Alabanes D., Heinonen O.P., Taylor P.R. et al.: Alpha-Tocopherol and beta-carotene supplements and lung cancer incidence in the alpha-tocopherol, beta-carotene cancer prevention study : effects of baseline characteristics and study compliance, in: J Natl Cancer Inst 88, 1996, 1560-1570
2. Biesalski H.K.: The role of antioxidants in nutritional support, in: Nutrition 16, 2000, 593-596
3. Cook N.R., Le I.M., Manson J.E. et al.: Effects of beta-carotene supplementation on cancer incidence by baseline characteristics in the Physicians' Health Study (United States), in: Cancer Causes Control 11, 2000, 617-626
4. GISSI Prevenzione Investigators: Dietary supplementation with n-3 polyunsaturated fatty acids and vitamin E after myocardial infarction: results of the GISSI-Prevenzione trial, in: Lancet 354, 1999, 447-455
5. Halliwell B., Gutteridge J.M.C.: Free radicals in biology and medicine. Oxford 1999
6. Leppälä J.M., Virtamo J., Fogelholm R. et al.: Controlled trial of a-Tocopherol and b-carotene supplements on stroke incidence and mortality in male smokers, in: Arterioscler Thromb Vasc Biol 20, 2000, 230-235
7. Omenn G.S., Goodman G.E., Thornquist M.D. et al.: Effects of a combination of beta carotene and vitamin A on lung cancer and cardiovascular disease, in: N Engl J Med 334, 1996, 1150-1155
8. Sies H.: Strategies of antioxidant defense, in: Eur J Biochem 215, 1993, 213-219
9. Stephens N.G., Parsons A., Schofield P.M. et al.: Randomised controlled trial of vitamin E in patients with coronary disease: Cambridge Heart Antioxidant Study (CHAOS), in: Lancet 347, 1996, 781-786
10. The Heart Outcome Prevention Evaluation study investigators. Vitamin E supplementation and cardiovascular events in high-risk patients, in: N Engl J Med 343, 2000, 154-360