

Schutz oder Schaden für die Gefäße?

Bei Sauerstoffradikalen kommt es auf das Gleichgewicht an

von **Ralf Brandes**
und **Katrin Schröder**

Sauerstoffradikale werden für Alterung, Krebs und Herz-Kreislauf-Erkrankungen verantwortlich gemacht. Von diesem schlechten Image profitiert der große Markt der Nahrungszusatzstoffe wie Vitamine, die Radikale im Körper einfangen. Doch in klinischen Studien können keine positiven Effekte durch die Einnahme von Vitaminpräparaten nachgewiesen werden. Warum? Weil Sauerstoffradikale nicht nur schädliche Nebenprodukte des Stoffwechsels sind, sondern auch lebensnotwendige Funktionen wie die Abwehr von Krankheitserregern übernehmen. Sie werden daher im Körper in einem eng regulierten Bereich aktiv produziert. Unsere Arbeitsgruppe am Institut für Kardiovaskuläre Physiologie untersucht Mechanismen der Radikalproduktion durch Nox-Enzyme und erforscht ihre physiologische Bedeutung im Herz-Kreislauf-System.

Iss mehr Obst, dann bist du auch nicht ständig krank, wird so mancher als Kind von seiner Mutter gehört haben. Vielen ist auch der Nobelpreisträger für Chemie Linus Pauling (1901 bis 1994) ein Begriff, der täglich große Mengen an Ascorbinsäure zu sich nahm. Er hoffte, dass die antioxidative Wirkung von Vitamin C ihn schützen würde [siehe »Antioxidantien als Radikalfänger«, Seite 15]. In der Tat ist es unstrittig, dass der Mensch im Laufe des Lebens oxidativen Schaden an Proteinen, DNA und Fetten nimmt, und dass dieser Prozess – zumindest in spezifischen Modell-



versuchen – am Altern beteiligt ist. Auch finden sich in Vorstufen der Entwicklung von Krebs und Herz-Kreislauf-Erkrankungen Anzeichen eines erhöhten oxidativen Stresses in den Geweben, was auf einer vermehrten Produktion von Sauerstoffradikalen beruhen könnte oder auf einer verringerten Entgiftung dieser potenziell schädlichen Moleküle.

Vitaminpräparate verhindern keine Erkrankungen

Auf den ersten Blick erscheint es folgerichtig, eine an Antioxidantien reiche Diät zu befolgen, vielleicht sogar Vitamine und pflanzliche Antioxidantien, wie Flavonole, in großen Mengen zu sich zu nehmen. Doch leider tritt die erhoffte schützende Wirkung nicht auf. Zwar konnten große Kohortenstudien zu Ernährungsgewohnheiten nachweisen, dass die Sterblichkeitsrate bei gesunder Ernährung niedriger ist, doch scheint es sich hier um eine Koinzidenz und nicht um einen kausalen Zusammenhang zu handeln: Wer sich gesund ernährt, treibt meist auch mehr Sport, raucht weniger und geht insgesamt pfleglicher mit sich um.

In großen prospektiven Studien, bei denen gezielt antioxidative Substanzen wie Vitamin C oder E appliziert werden, fand sich kein schützender Effekt der Therapie, sondern es wurden teilweise sogar negative Wirkungen (zum Beispiel eine erhöhte Rate von Hirnblutungen und sogar Krebserkrankungen) erkennbar. Die riesigen Summen, die weltweit für Vitaminsupplementierung ausgegeben werden und einen ganzen Industriezweig mit großen Werbeaktivitäten unterhalten, werden letztlich in einen Placeboeffekt investiert.^{11/}

Ein fein austariertes Gleichgewicht

Wie ist das zu erklären? Mit dieser Frage beschäftigen wir uns im Rahmen des Exzellenzclusters »Kardio-Pulmonales System (ECCPS)« und des Sonderforschungsbereichs »Redox-Regulation«. Man könnte einwenden, die Vitamine seien in den Studien nicht in genügend hohen Konzentrationen aufgenommen worden und daher unwirksam. Dagegen sprechen aber die durchaus vorhandenen Nebenwirkungen. Vielmehr scheint es so zu sein, dass es im Körper eine streng kontrollierte Balance zwischen oxidativen und antioxidativen Systemen gibt. Denn: Sauerstoffradikale und die Oxidation von kleinen Molekülen, funktionellen Proteinresten und Enzymen sind notwendige Prozesse im menschlichen Körper, die gezielt von enzymatischen Reaktionen kontrolliert werden.

Ein Zuviel an Antioxidantien oder ihr Auftreten an der falschen Stelle im Stoffwechsel ist genauso unerwünscht wie oxidativer Stress. Die Zellen besitzen deshalb spezifische Kontrollsysteme, die Radikalproduktion und antioxidative Abwehr in engen Grenzen halten. So fungiert zum Beispiel das Protein Keap als Messsystem für den oxidativen Stress in der Zelle. Bei einem Zuviel an Radikalen wird über das Keap-System der Transkriptionsfaktor Nrf2 aktiviert, was die Zelle dann zur verstärkten Produktion von antioxidativen Enzymen wie Katalase und Hämoxxygenase I anregt.^{12/} Die gesteigerte Aufnahme von Antioxidantien über Nahrungszusatzstoffe führt daher unter anderem dazu, dass im Körper Antioxidantien in geringerem Maße produziert werden. Dieser Regelkreis ist einer von vielen Gründen, warum eine ungerichtete, antioxidative Therapie mit Vitaminen nicht protektiv wirken kann.

Antioxidantien als Radikalfänger

Radikale sind Atome oder Moleküle mit mindestens einem ungepaarten Elektron. Sie sind besonders reaktionsfreudig. In lebenden Organismen treten vor allem Sauerstoff-Radikale auf, die ihr ungepaartes Elektron an einen Reaktionspartner abgeben möchten (Oxidation). Verbinden sie sich mit Proteinen, DNA oder Fetten, können oxidative Schäden auftreten, die mit Alterungsprozessen, Herz-Kreislauf-Erkrankungen und Krebs in Verbindung gebracht werden. Antioxidantien sind aufgrund ihrer molekularen Struktur, die sie besonders leicht oxidierbar macht, bevorzugte Reaktionspartner für Radikale. Somit kann man mit großen Mengen an Antioxidantien die Oxidation körpereigener Moleküle teilweise reduzieren.

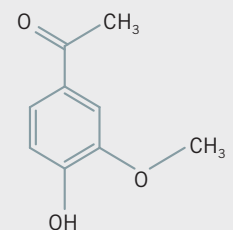
Um Wege zu finden, die Entstehung schädlicher Radikale zu unterbinden, ohne die physiologisch notwendigen zu hemmen, untersuchen wir im Forschungsgebiet »Redox-Regulation und Sauerstoffradikale«, über welche enzymatischen Systeme und mit welchen funktionellen Konsequenzen Sauerstoffradikale im kardio-pulmonalen System produziert werden. Das könnte die Basis einer gerichteten antioxidativen Therapie schaffen, bei nur die schädliche Radikalproduktion gehemmt wird.

Nox-Proteine: Physiologisch wichtige Produzenten von Sauerstoffradikalen

Die wichtigsten Produzenten von Sauerstoffradikalen sind, neben den Mitochondrien, Enzyme der Nox-Familie, die NADPH-Oxidasen. Sie stehen im Mittelpunkt der Forschung unserer Arbeitsgruppe. Anders

Apocynin: Vom indischen Hanf zum Nox-Inhibitor?

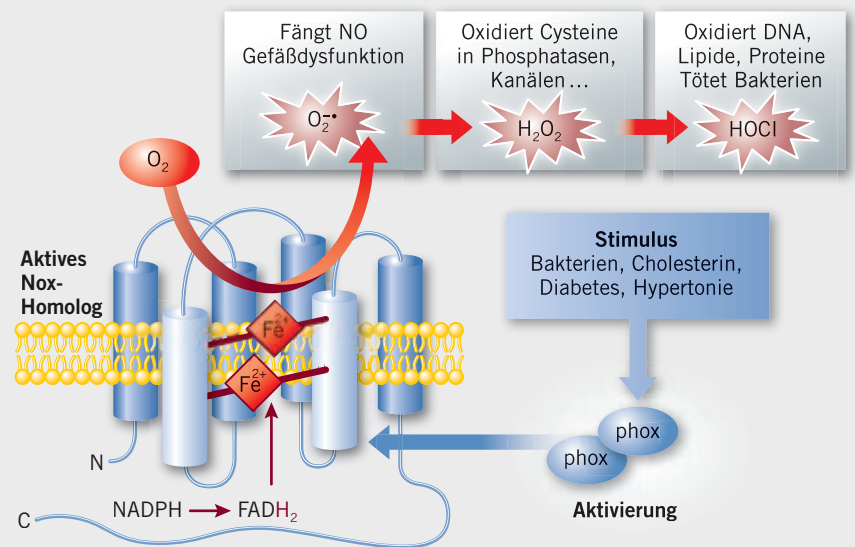
Der indische Hanf enthält das stark nach Vanille duftende 4-Hydroxy-3-methoxyacetophenon, auch Apocynin genannt. Die gut bekömmliche Substanz, die in geringerer Konzentration auch in anderen Pflanzen vorkommt, wird in der Traditionellen Chinesischen Medizin seit Langem als Entzündungshemmer eingesetzt. Neuere Forschung zeigt, dass Apocynin, in niedrigen Konzentrationen, spezifisch Nox2 und damit die Radikalproduktion von Leukozyten hemmt. In hohen Konzentrationen wirkt es als Antioxidant. Im Tierversuch hemmt Apocynin die entzündliche Reaktion beim Rheuma (primär chronische Polyarthrit) oder nach Gabe von Bakterienwandbruchstücken (Endotoxin).



Indischer Hanf wirkt entzündungshemmend.

Enzymatische Funktion der Nox-Homologe:

Nach Stimulation der Zelle zum Beispiel mit Bakterienbestandteilen oder schädlichen Lipoproteinen, wie oxidiertem LDL-Cholesterin, kommt es zur Aktivierung von phox-Untereinheiten im Zytosol. Diese wandern dann an die membrangebundene Nox-Untereinheit und aktivieren sie. Das aktive Nox-Homolog überträgt nun Elektronen auf Sauerstoff, so dass reaktive Radikale entstehen: das Superoxidanion (O_2^-), das im Folgenden zu H_2O_2 und dann zu weiteren reaktiven Sauerstoffspezies (ROS) umgewandelt wird. Unterschiedliche ROS haben unterschiedliche Funktionen: O_2^- neutralisiert NO, H_2O_2 vermittelt Signaltransduktion, während HOCl eher ein allgemeines, häufig auch toxisches Oxidationsmittel ist.



als in Mitochondrien, bei denen die Radikale ein unumgängliches, aber unerwünschtes Nebenprodukt der oxidativen Phosphorylierung sind, scheint die einzige Funktion der Nox-Enzyme die Produktion von Sauerstoffradikalen zu sein [siehe »Enzymatische Funktion der Nox-Homologe«]. Es gibt sieben Homologe der Nox-Familie. Die von ihnen produzierten Sauerstoffradikale übernehmen wichtige physiologische Aufgaben im Körper: Nox2 ist beispielsweise für die Radikalproduktion von Leukozyten verantwortlich – ein lebensnotwendiger Prozess für die körpereigene Abwehr [siehe »Nützliche Sauerstoffradikale: Das Lehrbeispiel Chronische Granulomatose«, S. 17].

Nox3 wird zur Bildung der Otolithe benötigt. Das sind kleine Calciumcarbonatsteine im Gleichgewichtsorgan, die zur Messung von Linearbeschleunigung benötigt werden. Das Homolog Duox1 ist die Quelle von

Wasserstoffperoxid (H_2O_2) in Schilddrüsenepithelzellen. H_2O_2 wird von einem Enzym der Schilddrüse benötigt, um Jodid zu oxidieren. Dieses wird für die Synthese von Schilddrüsenhormon an Tyrosinreste gekoppelt.^{13/}

Faszinierenderweise finden sich in Blutgefäßen eine ganze Reihe von Nox-Homologen (Nox1, Nox2, Nox4 und Nox5). Dort sind sie jedoch weniger an Synthesen, wie im Falle des Schilddrüsenhormons, beteiligt, sondern haben eine zentrale Rolle in der Signaltransduktion innerhalb der Zellen: Nach Stimulation von Endothelzellen, die Blutgefäße auskleiden, oder endothelialen Vorläuferzellen mit schützenden Hormonen wie Erythropoietin (EPO) oder Hepatocyte Growth Factor (HGF) werden in Blutgefäßen kurzfristig Nox-Homologe aktiviert. Die daraufhin produzierten Sauerstoffradikale bewirken eine vorübergehende Inakti-

Die Autoren



Prof. Dr. Ralf Brandes, 42, studierte Medizin an der Medizinischen Hochschule Hannover (MHH) und der Emory University in Atlanta, USA. Nach Promotion und Arzt im Praktikum in der Abteilung Kardiologie der MHH kam er 1997 mit einem Stipendium der Adumed-Stiftung nach Frankfurt, um unter der Leitung von Prof. Rudi Busse

als Postdoc zu den physiologischen Funktionen von Sauerstoffradikalen zu forschen. Seit 2008 leitet Prof. Brandes das Institut für Kardiovaskuläre Physiologie. Er ist der Frankfurter Koordinator des Bereichs »Ischämie – Reperfusion – Sauerstoffradikale« im Exzellenzcluster ECCPS, stellvertretender Sprecher des DFG-Sonderforschungsbereichs 815 »Redox-Regulation: Generatorsysteme und funktionelle Konsequenzen« und Leiter des SFB-integrierten Graduiertenkollegs.



Privatdozentin Dr. Katrin Schröder, 36, studierte in Rostock Biologie und wurde dort promoviert, gefördert durch ein Promotionsstipendium des Landes Mecklenburg-Vorpommern am Institut für Biochemie und in der Klinik für Innere Medizin, Gastroenterologie zur Bedeutung der Proteinkinase R im Zytokinsignalling.

Nach einer ersten Postdoc-Stelle in Jena kam sie 2005 an das Institut für Kardiovaskuläre Physiologie, wo sie sich 2011 zum Thema Nox-Enzyme habilitierte. Im Sonderforschungsbereich 815 leitet sie das Teilprojekt A1, das sich mit der Identifizierung der physiologischen Funktionen der NADPH-Oxidase Nox4 beschäftigt.

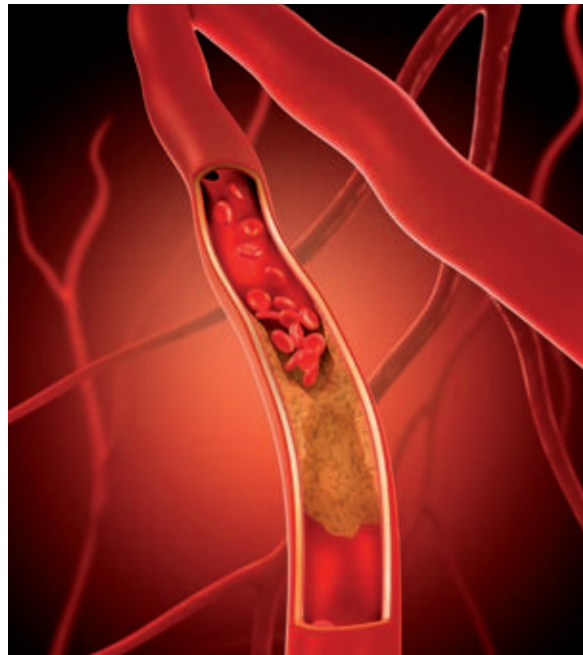


r.brandes@em.uni-frankfurt.de
www.vrc.uni-frankfurt.de

schröder@vrc.uni-frankfurt.de
www.eccps.de

www.redox-sfb.de

Bei der Arteriosklerose verengen sich die Arterien. Diesem Prozess geht eine entzündliche Aktivierung der Gefäßinnenschicht – dem Endothel – voraus. Aktiviertes Endothel produziert über Nox-Enzyme Sauerstoffradikale und ist daher nicht mehr in der Lage, schützendes Stickstoffmonoxid abzugeben. Dieses Ungleichgewicht fördert das Wachstum von Gefäßmuskelzellen und das Einwandern von Schaumzellen, wodurch die Arteriosklerose voran schreitet. Nox-Hemmung könnte daher den arteriosklerotischen Prozess verlangsamen.



vierung von Phosphatasen – eine wichtige Bedingung dafür, dass viele Hormone ihre intrazelluläre, schützende Wirkung entfalten können.^{14/} Denn viele Hormone vermitteln ihre Wirkung in der Zelle über eine Enzym-vermittelte Phosphorylierung von Aminosäuren. Phosphatasen entfernen diese Phosphorylierung gewöhnlich mit hoher Geschwindigkeit wieder. Damit also diese Form der Signalvermittlung in der Zelle funktionieren kann, muss nicht nur die Phosphorylierung aktiviert werden, sondern auch die Phosphatase, die die Phosphatgruppe wieder entfernt, inaktiviert werden. Diese wichtige physiologische Funktion obliegt den Sauerstoffradikalen der Nox-Homologe.

Nützliche Sauerstoffradikale: Das Lehrbeispiel Chronische Granulomatose

Weiße Blutkörperchen, besonders neutrophile Granulozyten, besitzen große Mengen Nox2, mit denen sie das Sauerstoffradikal Superoxidation (O_2^-) produzieren. In mehreren Reaktionsschritten entsteht daraus in Anwesenheit von Chlor hypochlorige Säure oder Chlorbleiche – ein stark desinfizierendes Oxidationsmittel. Fehlt den Leukozyten aktives Nox2, beispielsweise aufgrund einer Mutation, können sie hypochlorige Säure nicht bilden, so dass sie nicht in der Lage sind, in den Körper eindringende Bakterien und Pilze abzutöten. Die Folge ist, dass sich diese Schädlinge in den Leukozyten weiter vermehren und es zu häufig tödlichen Abszessen, besonders in der Lunge, aber auch in

Haut und Darm kommt. Die Erkrankung ist glücklicherweise sehr selten. Trotz Antibiotikaprophylaxe sterben die Betroffenen häufig bereits im Kindesalter. Da Granulozyten im Knochenmark gebildet werden, ist die Knochenmarkstransplantation eine kurative Therapie, die heute angewendet wird.

Leukozyten töten Bakterien mit Chlorbleiche, die sie mithilfe von Nox2 produzieren



Nox-Hemmer: Therapeutika für Gefäßerkrankungen?

Man weiß aber, dass es beim Auftreten von Risikofaktoren für Herz-Kreislauf-Erkrankungen wie erhöhte Blutfettwerte, Bluthochdruck und Diabetes zu einer systemischen entzündlichen Aktivierung des Gefäßsystems kommt. Diese geht einher mit einer gesteigerten Expression und Aktivität der Nox-Enzyme. Die Folge ist, dass besonders Makrophagen, die Fresszellen, aber auch das Endothel große Mengen an Sauerstoffradikalen produzieren. Blockiert man diese überschüssige Radikalproduktion durch Nox-Hemmer [siehe »Apocynin: Vom indischen Hanf zum Nox-Inhibitor«, Seite 15], oder fehlen aufgrund genetischer Mutationen einzelne Nox-Enzyme, bleibt die Funktion von Blutgefäßen trotz der Risikofaktoren normal, während sich ohne Hemmung zum Beispiel Arteriosklerose oder Bluthochdruck entwickeln. Das haben Untersuchungen ergeben, die unter anderem im ECCPS durchgeführt wurden.

Vor diesem Hintergrund erscheint die Entwicklung von Nox-Hemmstoffen konsequent und therapeutisch sinnvoll, so dass mehrere Firmen derzeit solche Substanzen entwickeln. Man ist sich dabei der Gratwanderung

der Therapie durchaus bewusst; denn Nox2 vermittelt, wie bereits erwähnt, nicht nur vaskuläre Entzündungen und damit wahrscheinlich Arteriosklerose und Herzinfarkt –, es wird auch zur Signaltransduktion und vor allem zur Infektabwehr benötigt. Somit wird auch keine komplette, sondern nur eine graduelle Hemmung der Nox-Enzyme angestrebt: genug, um die überschüssige Radikalproduktion in der Pathologie zu reduzieren, aber nicht so viel, dass die Produktion der physiologisch wichtigen Radikale verhindert wird. ◆

Literatur

^{1/1} Spiegel 03/12: Die Vitamin-Lüge.	Med 2009; 147:1304–9.	^{14/} Brandes RP, Weissmann N, Schröder K <i>NADPH oxidases in cardiovascular disease</i> Free Radic Biol Med 2010; 49:687–706.
^{12/} Kaspar JW, Niture SK, Jaiswal AK <i>Nrf2:Inrf2 (Keap1) signaling in oxidative stress</i> Free Radic Biol	^{13/} Bedard K, Krause KH <i>The Nox family of ROS-generating NADPH oxidases: physiology and pathophysiology</i> Physiol Rev 2007; 87:245–313.	