

Oxidatieve stress en antioxidanten:

ROL BIJ INTERSTITIËLE LONGAANDOENINGEN

Een opvallende paradox is dat vele interstitiële longaandoeningen (ild) leiden tot een tekort aan zuurstof en dat tegelijkertijd teveel zuurstofradicalen verantwoordelijk zijn voor de weefselschade bij ild. Het is opmerkelijk dat de twee geneesmiddelen, die recent het meest effectief zijn gebleken in de behandeling van longfibrose, antioxidanten zijn: 'stoffen die beschermen tegen de zuurstoftoxiciteit'.

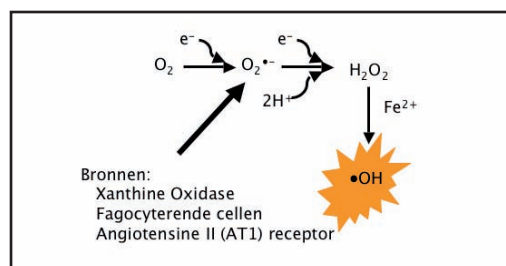
DOOR PROF. DR. AALT BAST

De mens kan niet leven zonder zuurstof en tegelijkertijd kan hij overlijden aan de giftigheid van zuurstof. Dat is de paradox van aerobisch leven. In de longen komt deze ogenschijnlijke tegenstelling heel duidelijk naar voren. Patiënten met ild weten als geen ander hoe belangrijk zuurstof is en hoe het voelt als er te weinig zuurstof ingeademd wordt. Meer en meer realiseren we ons ook dat het juist de reactiviteit is van zuurstof, die een rol speelt in de pathologie van ild. De zuurstofconcentratie in de longen is relatief hoog, waardoor deze giftigheid van zuurstof ook manifest kan worden.

Zuurstoftoxiciteit

Zuurstof kan gemakkelijk een elektron opnemen. Daarbij ontstaat dan het superoxide anion radicaal, aangegeven

als $O_2^{\cdot-}$. Een radicaal is een molecuul met een ongepaard elektron en is meestal reactief. Doordat ook het $O_2^{\cdot-}$ een elektron opneemt, ontstaat (na protonering) waterstofperoxide, aangegeven als H_2O_2 . Onder invloed van ijzerionen (Fe^{2+}) ontstaat het uiterst reactieve hydroxylradicaal, aangegeven als $\cdot OH$ (figuur 1).



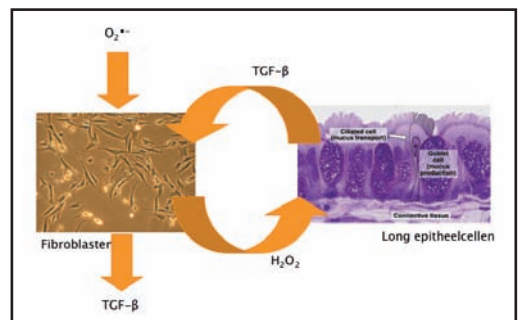
Figuur 1. Zuurstof (O_2) wordt met één elektron omgezet tot het superoxide anion radicaal ($O_2^{\cdot-}$). Er zijn diverse bronnen die deze omzetting mogelijk maken. Onder invloed van ijzer (Fe^{2+}) ionen ontstaat het zeer reactieve (en schadelijke) hydroxylradicaal ($\cdot OH$).



Aalt Bast is als hoogleraar Humane Toxicologie voorzitter van de Vakgroep Farmacologie en Toxicologie van de Universiteit van Maastricht (<http://www.farmaco.unimaas.nl/>). Hij heeft onderzoek gedaan aan de universiteiten van Rotterdam, Utrecht en Amsterdam (VU). Hij is 10 jaar hoogleraar Moleculaire Farmacologie geweest aan de VU. Met zijn collega's bestudeert hij de rol van vrije radicalen in de toxiciteit van farmaca en in de pathologie van de long, lever en van het cardiovasculaire systeem. Therapeutische opties van antioxidanten (uit de voeding of via farmaca) worden nagegaan. Hij heeft meer dan 400 wetenschappelijke publicaties (mede-)geschreven. e-mail: a.bast@farmaco.unimaas.nl.

Dit $\cdot\text{OH}$ reageert bijna instantaan met allerlei biomoleculen (eiwitten, vetzuren, DNA). Eigenlijk alles wat in de directe omgeving van het $\cdot\text{OH}$ is te vinden zal reageren met deze zeer reactieve vorm van zuurstof. De levensduur van het $\cdot\text{OH}$ is een nanoseconde. Dit geeft de hoge reactiviteit aan. Er zijn verschillende bronnen voor het $\text{O}_2^{\cdot-}$. Allerlei enzymen kunnen $\text{O}_2^{\cdot-}$ vormen. Zo kan xanthine oxidase ontstaan uit het xanthine dehydrogenase na geringe proteolytische activiteit leiden tot de vorming van $\text{O}_2^{\cdot-}$. In de bronchoalveolaire lavage (BAL) vloeistof van bijvoorbeeld COPD patiënten is een verhoogde xanthine oxidase activiteit waargenomen. Ook dragen de verhoogde niveaus van fagocyterende cellen in het ontstoken longweefsel bij aan de $\text{O}_2^{\cdot-}$ productie. Deze radicalen ontstaan door de werking van het NADPH oxidase en worden gebruikt voor het doden van microbiële binnendringers. Tenslotte zijn Angiotensine II receptoren (de AT-1 receptoren) gekoppeld aan een NADPH oxidase en geven ook $\text{O}_2^{\cdot-}$. Na spontane of enzymatische omzetting wordt het $\text{O}_2^{\cdot-}$ omgezet tot H_2O_2 . Dit is bij verschillende longaandoeningen verhoogd meetbaar in de uitgedemde lucht. Het is zelfs mogelijk gebleken om $\cdot\text{OH}$ te meten in de uitademingslucht van cystic fibrose patiënten.¹ Er is een duidelijk verband tussen de vorming van deze reactieve zuurstofdeeltjes (in het Engels 'reactive oxygen species' of ROS) en ild, zoals sarcoïdose en longfibrose.^{2,3}

Verscheidene cytokines en groeifactoren spelen een rol in the pathogenese van longfibrose. Een heel karakteristieke factor die betrokken is bij fibrose is het transforming growth factor β (TGF- β). Het blijkt dat ROS de TGF- β vorming teweeg brengen in longepitheelcellen.⁴ Eveneens is gevonden dat fibroblasten, die werden geïsoleerd van de longen van patiënten met idiopathische longfibrose (IPF) H_2O_2 produceren na stimulatie met TGF- β . Dit schadelijke samenspel tussen H_2O_2 en TGF- β leidt tot een aantasting van de re-epithelialisering en tot fibrose (figuur 2). Door de vorming van ROS niet te laten escaleren zal het fibroserende proces minder hevig verlopen.



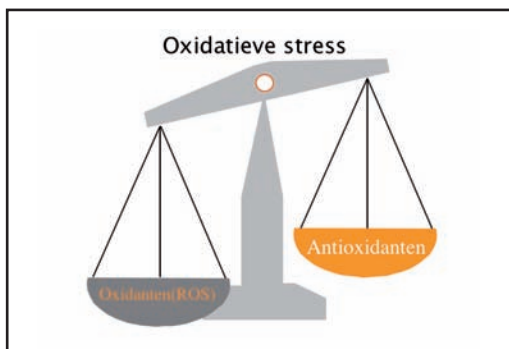
Figuur 2. Het schadelijke samenspel tussen fibroblasten en longepitheelcellen. H_2O_2 uit fibroblasten veroorzaakt TGF- β productie uit longepitheelcellen en TGF- β uit longepitheelcellen geeft H_2O_2 uit fibroblasten. Bovendien veroorzaakt $\text{O}_2^{\cdot-}$ de vorming van TGF- β uit fibroblasten.

Therapie

De longen zijn uitgerust met een uitgebreid antioxidant systeem om te beschermen tegen de schade van ROS. Als deze bescherming niet adequaat is dan spreken we van oxidatieve stress (figuur 3).

De beschermende stoffen zijn:

- kleine antioxidant moleculen als vitamine C, vitamine E, urinezuur en het tripeptide glutathion
- mucines dat zijn geglycosede eiwitten in het slijm, die antioxidant eigenschappen hebben
- metaal bindende eiwitten als transferrine, lactoferrine, metallothioneinen. Omdat overgangsmetalen als ijzer een katalytische rol spelen in de vorming van ROS is sequestratie van deze metalen beschermend tegen ROS.
- verschillende superoxide dismutases (SOD's), enzymen die O_2^* omzetten tot zuurstof en H_2O_2
- ook zijn er verschillende enzymen in de longen die dit gevormde H_2O_2 weer onschadelijk maken en omzetten in water. Verschillende glutathion afhankelijke enzymen en catalase kunnen deze functie uitoefenen
- verschillende thiol bevattende eiwitten spelen een belangrijke rol in de bescherming tegen de effecten van ROS.



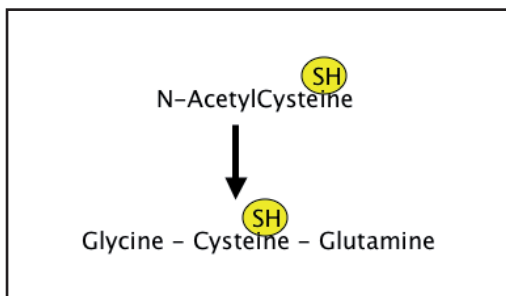
Figuur 3. Indien de vorming van oxidanten (ROS) uit balans is met de bescherming, doordat de bescherming met antioxidanten ontoereikend is, spreken we van oxidatieve stress. Met name glutathion speelt een belangrijke rol in de antioxidantbescherming.

Veel van deze antioxidanten vormen samen een netwerk. Het vrije elektron van zuurstofradicalen wordt via dit netwerk uiteindelijk naar glutathion (GSH) gebracht dat daardoor oxideert tot het glutathiondisulfide (GSSG). Daarmee wordt verklaard dat bij fibrose verbruik van het GSH wordt waargenomen. Omdat glutathion zo'n belangrijke factor is in zowel het niet-enzymatische als het enzymatische antioxidantnetwerk is het van belang om de concentratie van dit antioxidant hoog te houden en daarmee bescherming te bieden tegen de oxidatieve schade door ROS.⁵

Het is zeer opvallend dat allerlei factoren, die kunnen leiden tot ild, oxidant (ROS) vorming veroorzaken, waardoor oxidatieve stress ontstaat. Asbestose en silicose gaan gepaard met een ontstekingsproces waardoor radicaal schade ontstaat. Ook verschillende geneesmiddelen kunnen ild geven. De meest beruchte geneesmiddelen in dit opzicht zijn radicaal generatoren in het longweefsel. Het cytostaticum bleomycine bijvoorbeeld complexeert ijzerionen, neemt vervolgens een elektron op en geeft dit door aan O_2 waardoor het O_2^* ontstaat. Dit proces wordt 'redox cycling' genoemd. Ook het longtoxische geneesmiddel nitrofurantoin ondergaat dit redox cycling proces. Het inmiddels verboden en voor de long extreem toxische herbicide paraquat is eveneens schadelijk via redox cycling. Het anti-arrhythmicum amiodarone kan longschade geven via de overdracht van elektronen aan zuurstof. Het wordt te weinig gerealiseerd dat er ook een relatie lijkt te bestaan tussen gastro-oesofagale reflux (GER) en het optreden van fibrose.⁶ Interessant is dat vrije radicalen een rol spelen in de reflux geïnduceerde schade en dat niet alleen protonpomp remmers maar ook antioxidanten de schade sterk kunnen beperken. De aanmaak van antioxidant enzymen wordt gereguleerd door de transcriptiefactor Nrf2. Muizen die deze transcriptiefactor niet hebben zijn veel gevoeliger voor fibrose uitlokkende stoffen zoals bleomycine.⁷

N-acetylcysteïne en Pirfenidon

Behandeling van patiënten met IPF met N-acetylcysteïne (600 mg driemaal daags gedurende 12 weken) gaf een vermindering van de oxidatieve schade te zien en een verbetering van de glutathion spiegels in de 'epithelial lining fluid', het dunne vloeistoflaagje dat de longepitheelcellen bedekt. Dat is niet verwonderlijk, omdat N-acetylcysteïne als een precursor voor glutathion kan werken (figuur 4).



Figuur 4. N-Acetylcysteïne (NAC) werkt als precursor voor het tripeptide glutathion (GSH). Merk op dat cysteïne een SH-groep bevat.

In een groot multicentrumonderzoek (de zogenaamde IFIGENIA trial) is het effect van 1800 mg/dag N-acetylcysteïne in IPF patiënten onderzocht. Na twaalf maanden behandeling met N-acetylcysteïne van 155 patiënten was de longfunctie verbeterd ten opzichte van de placebo groep die alleen prednisolon en azathioprine kreeg toegediend. N-acetylcysteïne heeft dus een gunstig effect in IPF patiënten.⁸

Een andere stof die enige hoop geeft in de behandeling van IPF is Pirfenidone.^{9,10} Dit geneesmiddel remt de collageensynthese door fibroblasten, onderdrukt de profibrotische cytokineproductie en blokkeert de fibroblastproliferatie. Interessant is dat ook deze stof goede antioxidant eigenschappen bezit.¹¹ Opvallend is dat de stoffen die het meest veel belovend zijn, beide antioxidanten zijn.

Voeding

Omdat de geneesmiddelen met een goede antioxidantwerking het fibroserende proces gunstig beïnvloeden, komt de vraag op of er ook andere manieren zijn om antioxidanten toe te dienen. De belangrijkste bron voor antioxidanten vormen groenten en fruit. Een grote variatie aan antioxidanten nemen we via de voeding tot ons. Het is merkwaardig dat de rol van voeding bij ild nog nauwelijks is onderzocht. Het biochemisch mechanisme van oxidatieve stress dat ten grondslag ligt aan de etiologie van ild rechtvaardigt op zich zelf het advies om antioxidanten in te nemen. Het zou daarom goed zijn om op grond van de bevindingen tot nu toe een dieet rijk aan antioxidanten voor te stellen aan de patiënt met een ild (Figuur 5).

Voor de praktijk

Er zijn vele vormen van ild. Longfibrose is daar een belangrijk voorbeeld van. Deze aandoeningen kunnen veroorzaakt worden door contact met allerlei schadelijke stoffen, die door inhalatie of via de bloedbaan (bijvoorbeeld geneesmiddelen) de long bereiken. Bij de schade, die hierdoor ontstaat, speelt oxidatieve stress een belangrijke rol. Als er eenmaal sprake is van fibrose, is er medicamenteus weinig winst te behalen. Aangezien de prevalentie van de verschillende vormen van ild relatief laag is, zullen er geen uitgebreide onderzoeken kunnen worden gedaan naar het mogelijk effect van bepaalde medicijnen.

Mechanistisch denken vanuit de pathofysiologie rechtvaardigt dat we met bepaalde maatregelen er in ieder geval naar kunnen streven dat het inflammatoire proces wordt afgeremd of gestabiliseerd. Voorzorgen kunnen zijn adequaat reflux behandelen, en goede voeding. Antioxidanten, ze vormen beslist geen panacee, maar ze zullen kunnen bijdragen aan een remming van het fibroserende proces!



Figuur 5. Groenten en fruit om het antioxidantnetwerk in de longen aan te vullen!

Referenties

1. Rosias PP, et al. Free radicals in exhaled breath condensate in cystic fibrosis and healthy subjects. *Free Radic Res* 2006; 40: 901-09.
2. Boots AW, et al. Antioxidant status associated with inflammation in sarcoidosis: A potential role for antioxidants. *Respir Med* 2009; 103: 364-72.
3. Kinnula VL, et al. Oxidative stress in pulmonary fibrosis. A possible role for redox modulatory therapy. *Am J Respir Crit Care Med* 2005; 172: 417-22.
4. Bellocq A, et al. Reactive oxygen and nitrogen intermediates increase transforming growth factor- β 1 release from human epithelial alveolar cells through two different mechanisms. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1999; 21: 128-36.
5. Behr J, et al. Antioxidative and clinical effects of high-dose N-acetylcysteine in fibrosing alveolitis. Adjunctive therapy to maintenance immunosuppression. *Am J Respir Crit Care Med* 1997; 156: 1897-01.
6. Tobin RW, et al. Increased prevalence of gastroesophageal reflux in patients with idiopathic pulmonary fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med* 1998; 158: 1804-08.
7. Cho H-Y, et al. The transcription factor NRF2 protects against pulmonary fibrosis. *FASEB J* 2004; 18: 1258-60.
8. Demedts M, et al. IFIGENIA Study Group. High-dose acetylcysteine in idiopathic pulmonary fibrosis. *N Engl J Med* 2005; 353: 2229-42.
9. Anonymous. First drug for idiopathic pulmonary fibrosis approved in Japan. *Nature Reviews Drug Discovery* 2008; 7: 966-67.
10. Salazar-Montes A, et al. Potent antioxidant role of Pirfenidone in experimental cirrhosis. *Eur J Pharmacol* 2008; 595: 69-77.
11. Mitani Y, et al. Superoxide scavenging activity of pirfenidone-iron complex. *Biochem Biophys Res Commun* 2008; 372: 19-23.