



Biochemisches-Effektmonitoring bei Belastung mit Umweltschadstoffen

Umweltbelastungen können Störungen des Gleichgewichtes zwischen Radikalbildung und Radikalabbau verursachen. Vermehrtes Auftreten von freien Radikalen kann zu äußerst schädigenden Wirkungen auf zellulärer Ebene führen. Man spricht in diesen Fällen von "Oxidativem Stress". Folgende Krankheiten und Prozesse gehen mit erhöhten Radikalkonzentrationen einher: Altern, kardiovaskuläre Erkrankungen, gastrointestinale Erkrankungen, Hautkrankheiten, immunologische Erkrankungen, Infektionskrankheiten, Infertilität, Karzinogenese, Lebererkrankungen, Mutagenese, neurologische Erkrankungen, rheumatische Erkrankungen, Umweltschadstoffe, Ver- und Entgiftungen.

Diagnostische Möglichkeiten bei oxidativem Stress:

1. Belastungsparameter:

Malondialdehyd

Malondialdehyd entsteht bei der Lipidperoxidation und kann als Maß für die Produktion von freien Radikalen und oxidativen Schädigungen des Organismus herangezogen werden. Nach Reaktion mit Thiobarbitursäure und HPLC-Trennung wird Malondialdehyd fluorometrisch bestimmt.

Material: 2,0 ml tiefgefrorenes Heparin- bzw. EDTA-Plasma
Referenzbereich/Entscheidungsgrenze: < 0,7 µMol/l.

8-Hydroxy-2-Desoxyguanosin (wichtig!)

Radikale führen häufig auch zu oxidativen Schäden an der DNA. Dabei wird bevorzugt die Guanin-Base hydroxiliert und ausgetauscht. Das freie 8-Hydroxy-2-Desoxyguanosin wird unverändert im Urin ausgeschieden und ist ein Maß für die DNA-Schädigung und -Reparatur. Bestimmt wird dieses DNA-Abbauprodukt mittels HPLC-MS/MS.

Material: 2,0 ml Urin, frisch oder tiefgefroren, ohne Zusatz
Referenzbereich/Entscheidungsgrenze: 0,1-2,4 µmol/mol Kreatinin

Mercaptursäuren

Mercaptursäuren-Derivate werden als Endprodukte bei der Detoxikation von Xenobiotika (organische Chemikalien, Insektizide, Herbizide, Fungizide) mit dem Urin ausgeschieden. Der Gehalt an Mercaptursäuren im Urin kann als Maß für die Belastung des Organismus mit diesen toxischen Substanzen verwendet werden. Der Gesamtge-

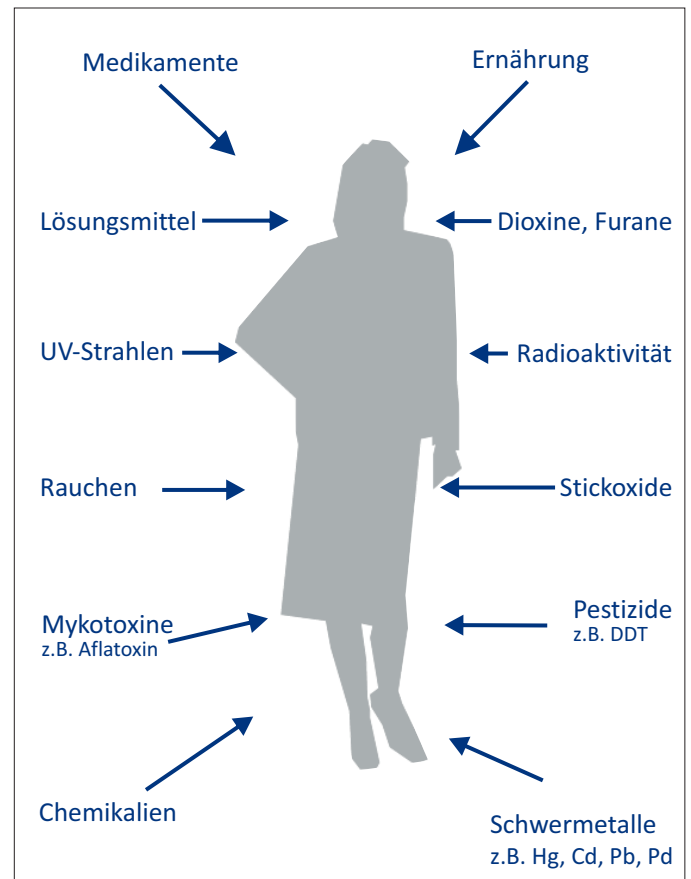


Abb. 1: Ursachen freier Radikaler

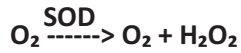
halt an Sulfhydryl-Gruppen wird nach Hydrolyse des Urins und Reaktion mit 5,5'-Dithio-bis-(2-Nitrobenzoesäure) photometrisch bestimmt. (Falsch positive Werte werden bei Cystinurie oder bei Gabe von Medikamenten mit Sulfhydrylgruppen wie Penicillamin, DMPS oder Thioridazin erhalten).

Material: 10 ml Urin
Referenzbereich/Entscheidungsgrenze: 0,054 ± 0,02 mmol SH/mmol Kreatinin

2. Entgiftungskapazität

Superoxid dismutase (SOD)

Das Kupfer- und zinkabhängige Enzym SOD in Erythrozyten ist in der Lage, freie Sauerstoff-Radikale in neutrale Sauerstoffverbindungen umzuwandeln und damit den Körper vor schädigenden Radikalwirkungen zu schützen.



Die Bestimmung der SOD-Konzentration ist somit ein Maß für die Kapazität der körpereigenen Abwehr von Radikalen.

Material: 2 ml EDTA- oder Heparin-Blut

Referenzbereich/Entscheidungsgrenze: 1200-1800 U/g Hb

Glutathion peroxidase (GPx)

Diese cytosolische, selenhaltige Glutathionperoxidase trägt zur Entgiftung von Wasserperoxid bei.



Damit gehört dieses Enzym zu den wichtigsten Schutzsystemen des Menschen von radikaler Gewebeschädigung. Die Bestimmung der GPx-Aktivität ist ein wichtiger Baustein zur Kontrolle des Gleichgewichts zwischen Radikalentstehung und -abbau.

Material: 2 ml EDTA- oder Heparin-Blut

Referenzbereich/Entscheidungsgrenze: 27,5-73,6 U/g Hb

Glutathion

Reduziertes Glutathion stellt einen zellulären Sulfhydryl-Puffer dar, der den reduzierten Status von Zellproteinen sicherstellt. Daneben entgiftet Glutathion Hydrogenperoxide unter katalytischer Beteiligung der Glutathion-Peroxidase.

Das gesamte freie Glutathion (GSH + GSSG) wird im EDTA-Blut photometrisch bestimmt.

Material: 1 ml tiefgefrorenes EDTA- oder Heparin-Blut

Referenzbereich/Entscheidungsgrenze: 200-400 mg/L

Freies 3-Nitrotyrosin

3-Nitrotyrosin ist ein stabiler Marker zur Bestimmung von Oxidationsprodukten, die sich von NO ableiten. In einer Reihe von Erkrankungen wie Magenkrebs[3], Arteriosklerose, Lungenerkrankungen (wie beispielsweise Asthma), Sepsis, Vaskulitis und anderer Entzündungserkrankungen ist der Spiegel von 3-Nitro-L-Tyrosin im Blutserum erhöht. Allgemein ist die Verbindung ein Biomarker für Apoptose (programmierter Zelltod). Das freie 3-Nitrotyrosin wird im EDTA-Plasma mittels LC-MS/MS bestimmt.

Material: 1 ml EDTA-Plasma

Referenzbereich/Entscheidungsgrenze: < 1 µg/L bzw. < 4,4 nmol/L

Asymmetrisches Dimethyl-L-Arginin (ADMA)

ADMA wird im Plasma mittels HPLC nach vorheriger Derivatisierung mit o-Phthaldialdehyd bestimmt und gilt als Risikomarker u. a. für die Arteriosklerose. Die Verbesserung der Endothel-abhängigen Vasodilatation durch Simvastatin führt zu einem Abfall von ADMA.

Material: 0,5 ml Serum/ Plasma

Referenzbereich/Entscheidungsgrenze: 50-110 µg/L

Genetische Entgiftung

- Glutathion-S-Transferase i. Erythrozyten (GST)

Die GST konjugiert halogenierte C1-Verbindungen mit Glutathion und macht sie damit ausscheidungsfähig. Damit diese Noxen vollständig ausgeschieden werden können, ist eine ausreichende Enzymaktivität notwendig. Diese wird nach der gaschromatographischen Analyse in Prozent eines gesunden Normalkollektivs angegeben.

Material: 10 ml EDTA-Blut

Referenzbereich/Entscheidungsgrenze: > 60%

Anmerkung: Bei verminderter oder grenzwertiger GST-Aktivität sollte die Genotypisierung des Enzyms durchgeführt werden um mögliche Gendefekte zu erkennen.

Material: 3 ml EDTA-/ Citrat-Blut

- P 450-Cytochromoxidase (Coffein-Speichel-Test)

Dieser Test beschreibt die Rate, mit der die leberspezifische P 450-Cytochromoxidase das aufgenommene Coffein demethylieren kann. Die berechnete Coffein-Clearance ist damit ein Indikator für die erste Phase der enzymatischen Entgiftungsfähigkeit, bei der auch hochreaktive Zwischenprodukte z. B. Radikale entstehen.

Näheres entnehmen Sie bitte der [Testanleitung \(Seite 4\)](#).

- N-Acetyl-Transferase

Bei einer Exposition mit aromatischen Aminen wie z. B. Benzidin und 4,4'-Methylen-bis-(2-chloranilin) (MOCA) empfiehlt sich die Genotypisierung der N-Acetyltransferase. Langsame Acetylierer entwickeln häufiger Harnblasentumore, da acetylierte aromatische Amine schlechter hydroxyliert, d.h. zu toxischen Hydroxylaminen umgewandelt werden.

Material: 2 ml EDTA- oder Heparin-Blut

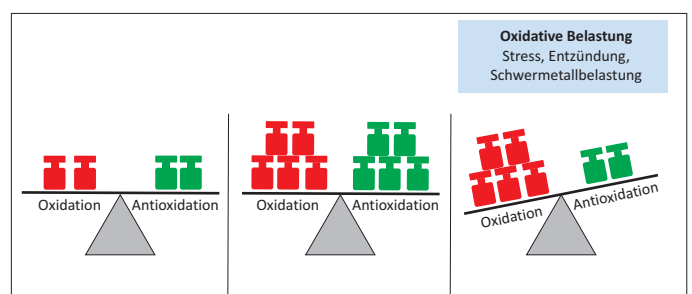


Abb. 2: Oxidativer Stress, eine Verschiebung im Oxidans-Antioxidans-Gleichgewicht zugunsten der Oxidantien

3. Antioxidative Versorgung

Vitamin E

Vitamin E fungiert als Radikalfänger und schützt ungesättigte Fettsäuren vor Oxidation. Bestimmt wird α -Tocopherol mittels HPLC und UV-Detektion.

Material: 1 ml Serum oder Plasma

Referenzbereich/Entscheidungsgrenze: 5,0- 16,0 mg/L

Vitamin C

Vitamin C schützt vor reaktiven Oxidantien durch Abfang von Hydroxy-Radikalen und Superoxid-Anionen. Es ist beteiligt am Cytochrom P 450 Enzymsystem, bei der Entgiftung durch Hydroxylierung und bei der Aktivierung der Superoxid-Dismutase. Vitamin C und E wirken synergistisch beim Schutz vor Lipidperoxidation, indem Tocopherol-Radikale durch Ascorbinsäure wieder zu Vitamin E reduziert werden.

Vitamin C wird mittels HPLC und elektrochemischer Detektion bestimmt.

Material: 4 ml tiefgefrorenes, lichtgeschütztes Serum

Referenzbereich/Entscheidungsgrenze: 5,0- 15,0 mg/L

β -Carotin

Carotinoide haben eine Schutzwirkung gegen Photosensibilisierung durch Abfangen von besonders reaktivem Singulett-Sauerstoff. β -Carotin wird nach Extraktion und HPLC-Trennung bei 460 nm bestimmt.

Material: 1 ml lichtgeschütztes Serum/Plasma
(Röhrchen i. Aluminiumfolie verpackt)

Referenzbereich/Entscheidungsgrenze: 150- 1250 μ g/L

Coenzym Q10

Coenzym Q10 besitzt neben seiner Funktion bei der zellulären Energieversorgung auch Schutzfunktion bei der Lipid-Peroxidation. Die Bestimmung erfolgt nach Extraktion und HPLC-Trennung mittels UV-Detektion.

Material: 1 ml lichtgeschütztes Serum
(Röhrchen i. Aluminiumfolie verpackt)

Referenzbereich/Entscheidungsgrenze: 0,40-1,20 mg/L

Siehe auch gesonderte Laborinformation.

Spurenelemente

Selen, Zink und Kupfer sind essentielle Metalle die an vielen antioxidativen Reaktionen des Körpers beteiligt sind. Da die therapeutische Breite diese Metalle relativ gering ist, wird eine regelmäßige Kontrolle der Serumspiegel empfohlen, vor allem unter Substitutionstherapie.

Material: Für Selen und Zink jeweils 0,5 ml Serum,
für Kupfer 1 ml Serum/ Plasma

Referenzbereich/Entscheidungsgrenze: Siehe Befund

Literatur:

1. Winnefeld K. Antioxydantien und Radikale: Analytik und klinische Bedeutung J. Lab. Med. 1996; 20(4): 199-204.
2. Frenkel K, Klein CB. Methods used for analysis of environmentally damaged nucleic acids J. Chromatogr. 1993; 618: 289-314.
3. Dalle-Done I, Rossi R, Colombo R, Giustarini D, Milzani A. Biomarkers of oxidative damage in human disease. Clin Chem 2006; 52: 601-23.
4. Moshage H. Simple and reliable measurement of nitric oxide metabolites in plasma. Clin Chem 2009; 55: 1881-2.



P450-Cytochromoxidase Phänotypisierung

Coffein-Speichel-Test

Coffein dient als Modellsubstanz für die Fähigkeit der Leber, Fremdstoffe oxidativ bzw. durch Acetylierung zu entgiften und aus dem Organismus zu entfernen. Damit wird die Aktivität der Cytochromoxidase quantifiziert und ein weiterer Entgiftungsweg beschrieben.

(1) Wichtige Voraussetzungen für den Test:

12 Std. vor und während des Coffein-Tests dürfen keine coffeinhaltigen Getränke (z. B. Kaffee, Tee, Coca-Cola o. ä.) oder Nahrungsmittel (z. B. Schokolade) aufgenommen werden. Durch die Aufnahme von zusätzlichem Coffein wird der Test unmöglich gemacht.

(2) Testablauf:

1. Speichelabgabe unmittelbar vor Tabletteneinnahme als Vorwert in Röhrchen "VW"
2. Direkt im Anschluss:
Einnahme einer 200 mg Coffein-Tablette (z. B. "Coffeinum 0,2 g"); **genaue Uhrzeit notieren**
3. ca. 2 Std. nach Tabletteneinnahme: Speichelabgabe Röhrchen "2 h"; **genaue Uhrzeit notieren**
4. ca. 5 Std. nach Tabletteneinnahme: Speichelabgabe Röhrchen "5 h"; **genaue Uhrzeit notieren**
5. ca. 8 Std. nach Tabletteneinnahme: Speichelabgabe Röhrchen "8 h"; **genaue Uhrzeit notieren**
6. **Körpergewicht** des/der Patienten/in notieren

(3) Technik der Speichelabgabe:

Jeweils ca. 15-20 Min. vor einer Speichelabgabe keine feste Nahrung und Getränke mehr zu sich nehmen; Mundhöhle durch Schluckbewegungen weitgehend von festen Nahrungsbestandteilen befreien; zum vorgeschriebenen Zeitpunkt der Speichelabnahme (s. Zeitplan oben) wird mit der Speichelsammlung in der Mundhöhle begonnen und der über 1-2 Min. gesammelte Speichel in das entsprechende Röhrchen entleert; für die Coffein-Bestimmung wird ein Volumen von mindestens 0,5 ml je Röhrchen benötigt.

Die gefüllten Röhrchen mit dem Auftragschein zur Analyse an das "Medizinische Labor Bremen" schicken.