

SONDERDRUCK

Iodid schützt Hyaluronat vor oxidativem Stress

O. Schmut¹, G. Rieger², R. Winkler², S. Griebenow², C. Wachswender¹ und J. Horwath-Winter¹¹ Universitäts-Augenklinik Graz, Graz, Österreich² Paracelsus-Gesellschaft für Balneologie und Jodforschung, Bad Hall, Österreich

Zusammenfassung. *Hintergrund:* H₂O₂ und daraus gebildete freie Radikale sind für oxidativ bedingte Schäden verantwortlich. Es wurde untersucht, ob Iodid H₂O₂ abbauen kann und somit einen Schutz vor oxidativem Stress darstellt.

Material und Methode: Die Abnahme der Konzentration von H₂O₂ in physiologischen Pufferlösungen nach Iodid-Zusatz wurde durch Titration mit KMnO₄-Lösungen bestimmt. Viskosimetrisch konnte die schützende Wirkung von Iodid auf Hyaluronatlösungen vor dem oxidativen Abbau durch H₂O₂ gemessen werden.

Resultate: Mikromolare Mengen von Iodid können die Konzentration von H₂O₂ in physiologischen Lösungen rasch herabsetzen. Iodid besitzt die Fähigkeit, Hyaluronat vor der Depolymerisation durch H₂O₂ zu schützen.

Schlussfolgerung: Die schützende Wirkung von Iodid vor H₂O₂-induziertem, oxidativem Stress kann unter anderem für die positive Wirkung verantwortlich gemacht werden, die Besprühungen und Iontophorese mit Iodsole, wie sie in Bad Hall (Oberösterreich) durchgeführt werden, am vorderen Augenabschnitt bewirken.

Schlüsselwörter: Iodid, Schutz, oxidativer Stress, Wasserstoffperoxid (H₂O₂).

Iodide protects hyaluronate from oxidative stress

Summary. *Background:* H₂O₂ and free radicals are responsible for damaging reactions by oxidative stress. It was investigated whether iodide can destroy H₂O₂ and a protection against oxidative stress can be obtained by this reaction.

Materials and methods: The decrease of H₂O₂ concentrations in physiological buffer solutions by addition of iodide was determined by titration with KMnO₄. By viscometry the protecting activity of iodide on hyaluronate solutions against oxidative degradation by H₂O₂ was measured.

Results: Micromolar amounts of iodide can decrease the H₂O₂ concentration in physiological solutions within a short time. Iodide has the capability to protect hyaluronate from depolymerization by H₂O₂.

Conclusions: The protecting activity of iodide from H₂O₂-induced oxidative stress may be responsible for the positive effect on the anterior part of the eye by sprays and iontophoresis with iodide brine as performed in Bad Hall (Upper Austria).

Key words: Iodide, protection, oxidative stress, hydrogen peroxide (H₂O₂).

Einleitung

Oxidativer Stress wird immer häufiger als Schlagwort für das Entstehen verschiedener Erkrankungen verwendet. Damit wird eine Situation bezeichnet, die ein Missverhältnis zwischen der Bildung und der Neutralisierung freier Radikale beinhaltet. Freie Radikale wie das Superoxid- und das Hydroxyl-Radikal, die in engem Zusammenhang mit Wasserstoffperoxid (H₂O₂) stehen, spielen eine bedeutende Rolle für Zellschädigung, Apoptose und Zelltod. Diese hochreaktiven, energiereichen Substanzen zerstören Proteine, Lipide und Polysaccharide und rufen Membranveränderungen und DNA-Schäden hervor.

Am Auge werden Träneninhaltsstoffe verändert, wobei es zu einer Verringerung der Tränenfilmstabilität kommt. Dadurch wird die Entstehung des trockenen Auges begünstigt [3, 10].

Freie Radikale, die durch vermehrte UV-Strahlung und Ozonbelastung am Auge entstehen, greifen Zellen der Hornhaut und Bindehaut an, wodurch Entzündungen im vorderen Augenabschnitt hervorgerufen werden [13].

H₂O₂ im Kammerwasser wird für die Entstehung der Linsentrübung verantwortlich gemacht, wobei die H₂O₂-Konzentration im Kammerwasser bei Patienten mit Katarakt gegenüber der Kontrollgruppe erhöht ist [1, 12]. Die Bildung von H₂O₂ wird im Kammerwasser durch einstrahlendes UV-Licht über eine Serie von Reaktionen, die Ascorbat und andere Moleküle einschließen, hervorgerufen [2].

Aber auch im Glaskörper und in der Retina wurde H₂O₂ nachgewiesen und mit verschiedenen pathologischen Prozessen wie zum Beispiel der altersbedingten Makuladegeneration in Zusammenhang gebracht [4, 14].

Freie Radikale entstehen auch bei der Phakoemulsifikation [9] und können ebenso als Kontaktlinsen-Spülflüssigkeiten, die mit H₂O₂ konserviert sind, an das Auge gelangen [16]. Iatrogen bedingt wurden an Hornhaut und Bindehaut von Patienten Schäden beobachtet, nachdem mit H₂O₂ desinfizierte Köpfe des Goldmann Applanations-Tonometers sowie Kontaktgläser zur Fundusuntersuchung und Laserbehandlung der Netzhaut zur Anwendung kamen [5].

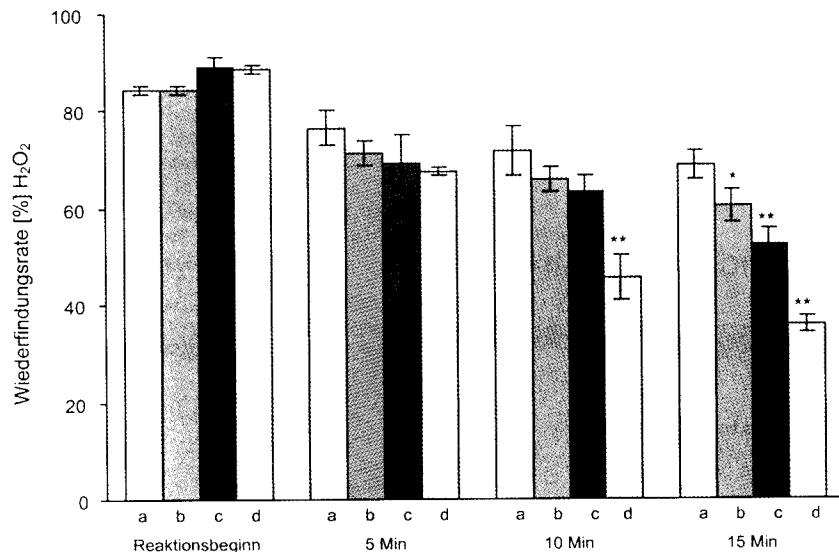


Abb. 1. Die Reduktion der H₂O₂-Konzentration in physiologischem Medium durch Iodid. Die H₂O₂-Konzentration (3%) zu Reaktionsbeginn verringert sich in Abhängigkeit von der Reaktionsdauer (5 Min, 10 Min und 15 Min) nach Zugabe von Iodid in verschiedenen Konzentrationen (a = 0 μM L, b = 3 μM L, c = 6 μM L und d = 27,5 μM L). Die Werte der Wiederfindungsrate in % der H₂O₂-Ausgangskonzentration sind Mittelwerte aus drei Messungen ± Standardabweichungen. Als signifikant galt * p < 0,05

In der Evolution des Menschen war die Ausbildung von Schutzmechanismen vor oxidativem Stress notwendig. Dazu dienen als Radikalfänger bezeichnete Substanzen, wobei neben den Enzymen Katalase, Peroxidase und Superoxid-dismutase auch eine Reihe nicht-enzymatischer Schutzstoffe große Aktivität besitzen. Dazu zählen die Vitamine A, C und E, Harnsäure und Glutathion sowie eine Anzahl anderer Substanzen, die gegen freie Radikale wirksam sind.

Da Iodid seit einiger Zeit als starkes Antioxidans bekannt ist, versuchten wir in dieser Studie die Aktivität von Iodid als Radikalfänger und den schützenden Einfluss von Iodid gegenüber H₂O₂ nachzuweisen. Dazu wurde einerseits der rasche Abbau von H₂O₂ in physiologischen Medien nach Iodidzusatz untersucht. Weiters wurde viskosimetrisch gemessen, ob das in Geweben und Flüssigkeiten des Auges vorkommende Hyaluronat durch Iodid vor der Depolymerisation durch H₂O₂ geschützt werden kann.

Material und Methoden

Die Chemikalien H₂O₂ (30%), Na-Iodid und KMnO₄ stammten von Merck, Darmstadt, Deutschland.

Als Puffer wurde phosphatgepufferte Saline (pH 7,4) der Firma Randox Laboratories Ltd., Crumlin, U. K. verwendet.

Die Konzentrationsmessung von H₂O₂ im entsprechenden Puffer erfolgte mittels Manganometrie. Als Ausgangskonzentration wurde 3% H₂O₂ verwendet. Die Messungen wurden dreifach durchgeführt und die Mittelwerte ± Standardabweichung berechnet.

Hyaluronat aus *Streptococcus equi* (Novoselect GmbH, Berlin, Deutschland) wurde in physiologischer Kochsalzlösung gelöst (0,5 mg/ml). Die kinematische Viskosität (cSt) der Hyaluronatlösungen nach Zugabe entsprechender Mengen H₂O₂ bzw. Iodid wurde mit einem KPG-Ubbelohde Viskosimeter (Schott u. Gen, Mainz, Deutschland) gemessen. Um die H₂O₂-Reaktion zu katalysieren, wurden diesen Reaktionsgemischen 1,5 μM FeSO₄ zugesetzt. Die Messungen wurden fünffach durchgeführt und die Mittelwerte ± Standardabweichung berechnet.

Zur Berechnung der Signifikanzen wurde der t-Test für gepaarte Stichproben verwendet. Als signifikant galt * p < 0,05.

Ergebnisse

Wirkung von Iodid auf die H₂O₂-Konzentration

Zusatz von Iodid zu H₂O₂-Lösungen (3%) in physiologischen Medien führt zu einer Abnahme der H₂O₂-Konzentration (Abb. 1). Bereits nach 5 Minuten wird durch Iodideinfluss die Wiederfindungsrate der H₂O₂-Konzentration gesenkt und führt nach 10 Minuten bzw. 15 Minuten zu einer weiteren Abnahme.

Diese Reaktion ist neben der Zeit auch abhängig von der Iodidkonzentration. Mit zunehmenden Konzentrationen (3 μM/L, 6 μM/L und 27,5 μM/L) kann die Reduktion des H₂O₂-Gehalts signifikant gesteigert werden.

Schutz durch Iodid vor der Depolymerisation von Hyaluronat durch H₂O₂

Hyaluronat kann mit Iodid vor der Depolymerisation durch H₂O₂ geschützt werden (Abb. 2). Die Viskosität des intakten Hyaluronats in physiologischer Kochsalzlösung (Kontrolle) wird durch 70 μM H₂O₂ innerhalb weniger Minuten signifikant gesenkt. Diese Viskositätsverringering ist ein Hinweis dafür, dass das Hyaluronatmolekül durch H₂O₂ depolymerisiert wird. Durch Zugabe von 6 μM L, 9 μM L bzw. 12 μM/L Iodid vor dem H₂O₂-Zusatz kann die Viskositätsverringering signifikant verhindert werden. Es konnte auch festgestellt werden, dass die depolymerisierende Reaktion mit zunehmender H₂O₂-Konzentration zunimmt und mit steigenden Iodidmengen signifikant verhindert werden kann (keine Abb.).

Diskussion

Freie Radikale schädigen dann, wenn ihre Aktivität nicht durch so genannte Radikalfänger neutralisiert werden kann.

Ist der Körper bei der Inaktivierung der freien Radikale durch Mangel oder Inaktivität der Radikalfänger überfordert, können auf Grund der hohen Reaktivität die im Überschuss vorhandenen freien Radikale biologische Strukturen schädigen. Dabei kommt es zu Veränderungen von Zellen und Oberflächenstrukturen durch Reaktionen mit Makromolekülen (z. B. Hyaluronat, Kollagen, Nukleinsäuren) sowie zur Lipid-Oxidation von Membranen.

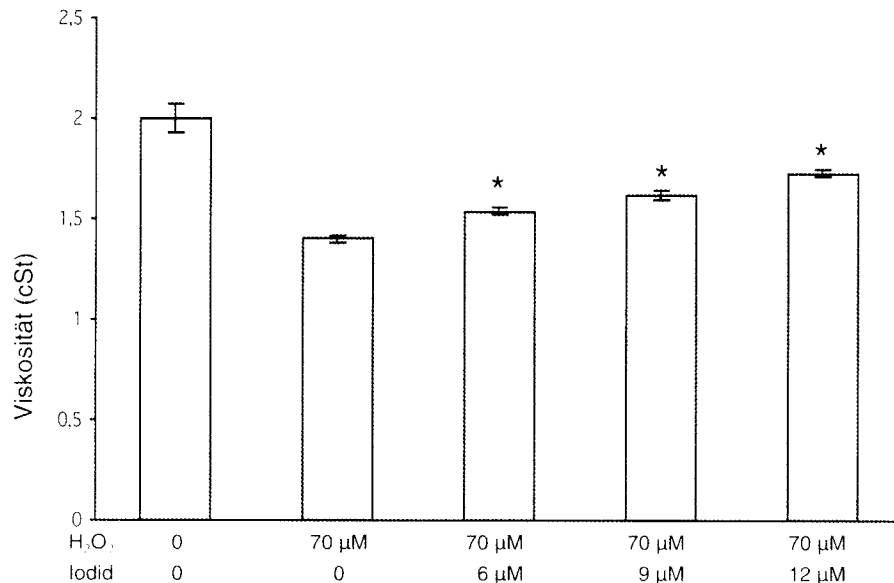


Abb. 2. Die kinematische Viskosität (cSt) von Hyaluronatlösungen (0,5 mg Hyaluronat/ml 0,9% NaCl) kann durch H₂O₂ (70 µM/L) verringert werden. Zusatz von Iodid in verschiedenen Konzentrationen (6 µM/L, 9 µM/L und 12 µM/L) schützt das Hyaluronat signifikant vor der Depolymerisation durch H₂O₂, ersichtlich aus der geringeren Abnahme der kinematischen Viskosität im Vergleich zu den Proben ohne Iodidzusatz. Die Werte sind Mittelwerte aus fünf Messungen ± Standardabweichungen. Als signifikant galt * p < 0,05

Oxidativer Stress kann langfristig chronische Erkrankungen und Alterungsprozesse hervorrufen oder pathologische Entwicklungen beschleunigen. Dazu zählen Tumorerkrankungen, arteriosklerotische Prozesse, Typ II Diabetes, Erkrankungen des Zentralnervensystems (Parkinson oder Alzheimer), sowie chronisch degenerative Veränderungen der Lunge, des Darms und der Gelenke. Die Veränderungen am Auge wurden bereits in der Einleitung beschrieben.

Freie Radikale können endogen bei Infektionen und Entzündungen gebildet werden. Seit kurzer Zeit weiß man, dass Ozon und freie Radikale durch Leukozyten und Antikörper innerhalb der Blutgefäße entstehen und diese Reaktion zur Ausbildung arteriosklerotischer Plaques führen kann [15].

Exogene Einflüsse, die zur Belastung des Menschen mit freien Radikalen führen, sind UV-Licht, Ozon, ionisierende Strahlung, Medikamente wie Chemotherapeutika und Umweltgifte.

Ein Mangel an Enzymen und nicht-enzymatischen Substanzen, die als Radikalfänger bekannt sind, kann zu oxidativem Stress führen. Dies kann unter anderem durch verminderte Vitaminzufuhr oder durch lang andauernde Mangelernährung hervorgerufen werden. Zum Schutz vor freien Radikalen ist daher eine optimale Versorgung mit Antioxidantien empfehlenswert, die durch eine Zufuhr von Vitaminen und Nahrungssupplementen, die als Radikalfänger wirken, erreicht werden kann.

Es ist bekannt, dass Iodid als Antioxidans und Sauerstoffradikalfänger wirkt [17] und das antioxidative Potential im Serum [18] und in der Tränenflüssigkeit [8] erhöhen kann.

Unsere Ergebnisse zeigen, dass Iodid in mikromolarer Konzentration in physiologischer Lösung sehr rasch H₂O₂ abbaut.

Iodid verhindert auch, dass Hyaluronat, das in Geweben und Flüssigkeiten des Auges vorhanden ist, durch H₂O₂ depolymerisiert wird.

Die Wirkung von Iodid als Radikalfänger wurde vor kurzer Zeit auch dadurch nachgewiesen, dass Träneninhaltsstoffe [10] und auch Bindehautzellen [11] durch Iodid vor dem Angriff durch UV-Licht bzw. Ozon geschützt werden konnten.

Iodid wird in der Augenabteilung des Paracelsus-Instituts in Bad Hall (Oberösterreich) zur Therapie von Erkrankungen des vorderen Augenabschnitts insbesondere des trockenen Auges eingesetzt, wobei Besprühungen und die Iontophorese mit Jodsole zur Anwendung kommen [6, 7]. Durch Trinkkuren wird zusätzlich eine Anreicherung von Iodid im Körper erreicht.

Die Fähigkeit von Iodid als Radikalfänger zu wirken, kann als ein Grund für die positive Wirkung der Kurbehandlung mit Jodsole angesehen werden.

Literatur

1. Cornish KM, Williamson G, Sanderson J (2002) Quercetin metabolism in the lens: Role in inhibition of hydrogen peroxide induced cataract. *Free Rad Biol Med* 33: 63-70
2. Goswami S, Sheets NL, Zavadil J, Chauhan BK, Bottinger EP, Reddy VN, Kantorow M, Cvekl A (2003) Spectrum and range of oxidative stress responses of human lens epithelial cells to H₂O₂ insult. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 44: 2084-2093
3. Horwath J, Schmut O (2000) The influence of environmental factors on the development of dry eye. *Contactologia* 22: 21-29
4. LeDay AM, Ganguly S, Kulkarni KH, Dash A, Opere CA, Ohia SE (2003) Effect of hydrogen peroxide on amino acid concentrations in bovine retina and vitreous humor, ex vivo. *Methods Find Exp Clin Pharmacol* 25: 695-701
5. Pandit RT, Farjo AA, Sutphin JE (2003) Iatrogenic corneal and conjunctival toxic reaction from hydrogen peroxide disinfection. *Arch Ophthalmol* 121: 904-906
6. Rieger G, Winkler R, Stoiser E, Landerl J (1997) Zur subjektiven Befindlichkeit von Patienten mit Beschwerden des „trockenen Auges“ vor und nach Absolvierung von Jodkurbbehandlungen in Bad Hall. *Spektrum Augenheilkd* 11: 66-71
7. Rieger G, Winkler R, Stoiser E (1997) Zur Wirkungsdauer balneotherapeutischer Maßnahmen bei Patienten mit Beschwerden des „trockenen Auges“. *Spektrum Augenheilkd* 11: 255-257
8. Rieger G, Griebenow S, Winkler R, Stoiser E (2000) Der antioxidative Status (TAS) der Tränenflüssigkeit vor und nach kombinierten Kurbbehandlungen in Bad Hall. *Spektrum Augenheilkd* 14: 319-324
9. Rubowitz A, Assia EI, Rosner M, Topaz M (2003) Antioxidant protection against corneal damage by free radicals during phacoemulsification. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 44: 1866-1870
10. Schmut O, Rieger G, Faulborn J, Winkler R, Horwath J (1998) Iodid schützt Tränen vor der Zerstörung durch Ozon und UV-Licht. *Spektrum Augenheilkd* 12: 190-192

11. Schmut O, Rieger G, Faulborn J, Winkler R, Spitzenberger H, Trummer G (2000) Iodid schützt Bindehautzellen vor der Schädigung durch UV-Licht. *Spektrum Augenheilkd* 14: 214–217
12. Spector A, Garner WH (1981) Hydrogen peroxide and human cataract. *Exp Eye Res* 33: 673–681
13. Stolze HH, Becker J (1993) Die Hornhaut – bradytroph und abwehrschwach? Entgiftung UV-induzierter toxischer Sauerstoffradikale. *Contactologia* 15 D: 143–145
14. Takanashi T, Ogura Y, Taguchi H, Hashizoe M, Honda Y (1997) Fluorophotometric quantitation of oxidative stress in the retina in vivo. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 38: 2721–2728
15. Wentworth Jr P, Nieva J, Takeuchi C, Galve R, Wentworth AD, Dilley RB, DeLaria GA, Saven A, Babior BM, Janda KD, Eschenmoser A, Lerner RA (2003) Evidence for ozone formation in human atherosclerotic arteries. *Science* 302: 1053–1056
16. Wilson GS, Chalmers RL (1990) Effect of H₂O₂ concentration and exposure time on stromal swelling: an epithelial perfusion model. *Optom Vis Sci* 67: 252–255
17. Winkler R, Moser M (1992) Jodid. Ein potentiell Antioxidans und Sauerstoffradikalfänger und seine Rolle bei Peroxidase-Reaktionen. *Vitaminspur* 7: 124–134
18. Winkler R, Griebenow S, Wonisch W (2000) Effect of iodide on total antioxidant status of human serum. *Cell Biochem Funct* 18: 143–146

Korrespondenz: Dr. Otto Schmut, Universitätsklinikum Graz, Augenklinik, Auenbruggerplatz 4, 8036 Graz, Österreich.

SONDERDRUCK FÜR

PARACELSUS

G E S E L L S C H A F T
FÜR BALNEOLOGIE UND JODFORSCHUNG
IN BAD HALL / OBERÖSTERREICH

MIT FREUNDLICHER UNTERSTÜTZUNG VON

 **NOVARTIS**
OPHTHALMICS