

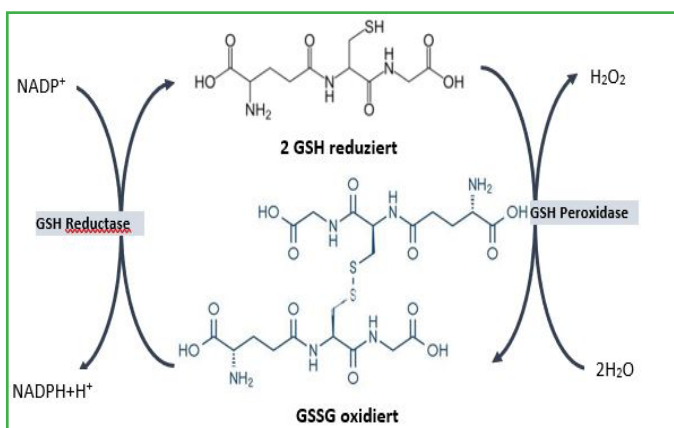
Glutathion

Biomarker für oxidativen Stress, Entgiftungskapazität und Immunfunktion

Dipl.-Biol. Wolfgang Mayer

Glutathion (GSH) ist ein im Organismus ubiquitär verbreitetes schwefelhaltiges Tripeptid aus den Aminosäuren Glycin, Glutamat und Cystein. Es kommt grundsätzlich in allen Zellen im Körper vor und wird dort im Zytosol aus diesen Bausteinen durch Aktivität der Enzyme Glutathionsynthase und Glutamylcysteinylgase unter ATP-Verbrauch gebildet. Dabei wird die größte Menge von Leberzellen synthetisiert. Im Mittelpunkt der biologischen Funktion steht eine freie Thiol-Gruppe, die Sulfhydryl (S-H)-Gruppe des reduzierten Moleküls, welches in der oxidierten Form durch Zusammenschluss von zwei GSH-Molekülen in eine Disulfidbrücke (S-S) übergeht.

Das Molekül spielt eine zentrale Rolle im gesamten zellulären Entgiftungsstoffwechsel hochmolekularer Substanzen (Medikamente, Chemikalien), da es sowohl in Phase 1 über die Neutralisation von Sauerstoffradikalen als auch in Phase 2 über die Konjugation an entstehende toxische Intermediärprodukte durch das Enzym Glutathiontransferase beteiligt ist.



Zusätzlich hat Glutathion eine herausragende Bedeutung bei der direkten Entgiftung von Metallionen und anderen Haptenen aus der Zelle durch kovalente Bindung der Haptene an die Schwefelatome und folgende Ausschleusung des GSH-Hapten-Komplexes. Glutathion stellt deshalb den wich-

tigsten, effizientesten und dominierenden zellulären Schutzmechanismus gegen oxidativen Stress dar. Bei einem Mangel an Glutathion ist die Lebensfähigkeit und Funktion der Zellen - insbesondere auch der Zellen des Immunsystems - beeinträchtigt.

Untersuchungen zeigen eine verminderte zytotoxische Aktivität und Expansionsfähigkeit sowie eine reduzierte Effektorzytokinkapazität, insbesondere der TH1-Achse von Immunzellen bei suboptimalen GSH-Spiegeln. Bei HIV-Patienten wurde eine Korrelation der Überlebenszeit mit der Höhe des GSH-Spiegels in Lymphozyten sowie eine unabhängige prognostische Relevanz dieses Parameters beschrieben.

Die Funktionen von GSH sind ebenso vielfältig wie essentiell für den Zellmetabolismus:

- Neutralisation von reaktiven Sauerstoffverbindungen wie Wasserstoffperoxid, dadurch wichtigster Gegenspieler von oxidativem Stress in der Zelle.
- Direkte Entgiftung von Haptenen wie z. B. Metallen, die an die S-H Gruppe gebunden werden und damit aus der Zelle ausgeschleust werden können. Eine Belastung mit Schwermetallen wie Quecksilber ist deshalb mit einem hohen GSH Verbrauch in den Zellen verbunden.
- Maßgebliche Rolle im Entgiftungsstoffwechsel durch Glutathion-S-Transferase vermittelte Konjugation von toxischen Intermediärprodukten der Phase 1 an GSH. Die Hepatotoxizität von Paracetamol beruht auf dem hohen GSH-Verbrauch beim Entgiftungsprozess dieser Substanz.
- Herausragend wichtig ist GSH auch in den Erythrozyten, dort ist es für die Bildung von Hämoglobin aus Methämoglobin essentiell.
- In Immunzellen wie T-Zellen oder Monozyten ist ein GSH-Mangel mit einem Funktionsverlust verbunden, insbesondere die TH1-Kapazität wird reduziert, ein Immundefizit resultiert.



Ein verminderter GSH-Spiegel wurde auch bei viralen Infektionen, Malignomen, Xenobiotikabelastung, chron. Medikamenteneinnahme, Autoimmunerkrankungen und neurodegenerativen Erkrankungen beobachtet.

DIAGNOSTIK

Labordiagnostisch sind verschiedene Ansätze zur Beurteilung der Glutathionkompetenz des Patienten sinnvoll und möglich.

Fragestellung Immundefizite

Messung von zellulärem Glutathion in den T-Zellen und Monozyten (GSH zellulär)

Hier wird der Gehalt an reduziertem Glutathion in bestimmten definierten Zelltypen erfasst. Die Messung des zellulären GSH erfolgt in der Regel mittels Durchflusszytometrie. Goldstandard ist hier die Verwendung einer Chemikalie, die spezifisch an reduziertes GSH durch Aktivität der GPX bindet und dann erst Fluoreszenz emittiert. Bei dieser Methode können einzelne Zellpopulationen wie T-Zellen oder Monozyten durchflusszytometrisch exakt differenziert und hinsichtlich des Gehaltes an reduziertem GSH betrachtet werden. Damit hat diese Methode Vorteile speziell bei der Überprüfung der zellulären Immunintegrität, dem Erkennen von Funktionsstörungen oder besonderen Belastungssituationen der T-Zellen oder Monozyten.

GSH zellulär sowohl in den Monozyten als auch in den T-Zellen vermindert ist ein Hinweis auf ein generalisiertes Glutathion-Defizit. Es ist ein länger dauernder bzw. chronisch erhöhter zellulärer GSH- Verbrauch anzunehmen, mögliche Ursachen sind eine gesteigerte oxidative Belastung, z.B. im Rahmen der Entgiftung von Xenobiotika (Chemikalien, Medikamente) oder einer Schwermetallbelastung, z.B. mit Quecksilber. Ebenso können chronische Entzündungsprozesse, z.B. bei chronischen Infektionen oder Autoimmunerkrankungen zu einem intrazellulären GSH-Defizit führen.

Bei einer Verminderung des intrazellulären Glutathion-Spiegels ist von einer funktionellen Beeinträchtigung der betroffenen Zelltypen auszugehen, bei T-Zellen von einer reduzierten TH1-Kapazität, bei Monozyten von einer verminderten Fähigkeit zur Antigenpräsentation und Zytokinproduktion. Der Glutathionspiegel in Zellen kann

deshalb heute als ein grundlegender Basismarker für die funktionelle Integrität insbesondere des lymphozytären Immunsystems angesehen werden.

Fragestellungen Entgiftungskapazität und oxidativer Stress

Messung von reduziertem und oxidiertem Gesamt-Glutathion (GSH ox/red), intra- und extrazellulär

Das Verhältnis von reduziertem zu oxidiertem Glutathion (GSHox/red) kann als Indikator für vermehrten oxidativen Stress in der Zelle verwendet werden. Normalerweise liegen über 90% des Glutathions in der Zelle in reduzierter Form vor, bei entzündlichen Krankheiten wie Krebs, chronischen Infektionen oder neurodegenerativen Erkrankungen wird eine Verminderung der Reserve an reduziertem Glutathion beobachtet, der Anteil an „verbrauchtem“, oxidiertem Glutathion steigt an. Bei diesem Ansatz wird der Gesamtgehalt an reduziertem und oxidiertem Glutathion im peripheren Blut über alle darin enthaltenen Zelltypen mittels High Pressure Liquid Chromatographie (HPLC) erfasst (Erythrozyten, alle Leukozyten, Thrombozyten).

Ein Vorteil ist die Summenaussage über die GSH-Situation im Blut, damit bietet sich diese Messung primär für die Beurteilung der allgemeinen Entgiftungskapazität, einer Belastungssituation mit toxischen Substanzen oder der Einschätzung von oxidativem Stress an. Trotz eines unauffälligen Gesamt-GSH-Gehalts im Blut ist allerdings ein Defizit in einzelnen Zelltypen, die durchaus unterschiedliche GSH-Konzentrationen aufweisen können, damit nicht zwingend ausgeschlossen. Der Parameter Glutathion oxidiert/reduziert idealerweise ergänzt die bewährte Bestimmung des Glutathions in verschiedenen Zelltypen, hier T-Zellen und Monozyten, und erlaubt vor allem bei normalem Gesamt-Glutathion eine erweiterte Beurteilung des Glutathion-Stoffwechsels.

Fragestellungen oxidativer Stress, Quecksilberentgiftung und Selenmangel

Messung der Glutathionperoxidase (GPX)

Das Enzym Glutathionperoxidase (GPX) katalysiert die Glutathion-abhängige Reduktion von Sauerstoffradikalen, die in Phase 1 des Entgiftungsstoffwechsels entstehen.

Ein wesentliches Zentralatom des katalytischen Zentrums der GPX ist Selen (L-Selenocystein), bei Selenmangel wird die Funktion dieses zentralen Enzyms im Glutathion-Stoffwechsel beeinträchtigt. Schwermetalle wie Quecksilber haben eine stärkere Bindungsaffinität an die Enzymstruktur als Selen und verdrängen Selen aus dem katalytischen Zentrum mit resultierender Blockade der GPX.

Messung Glutathionstatus

- **Profil GSH** Inhalt: GSH intrazellulär, Glutathion oxidiert/reduziert, Glutathionperoxidase, Selen
Material: 3xEDTA, 1xMetall spez. 24h
- **GSH intrazellulär** Material: 1x EDTA 24h
- **Glutathion ox./red.** Material: 1xEDTA 24h
- **GPX (Glutathionperoxidase)** Material: 1xEDTA
- **Selen (VB) im Vollblut** Material: 1xMetall spez.

Therapieempfehlungen

Verminderte GSH-Spiegel erfordern therapeutische Maßnahmen zur Regeneration des Glutathions.

So zum Beispiel die Zufuhr von der in der Glutathionsynthese geschwindigkeitsbestimmenden Aminosäurevorstufe L-Cystein/L-Cystin bzw. N-Acetyl-Cystein (600 mg/die) zusammen mit Alpha-Liponsäure und als weiterer Schwefeldonor S-Adenosylmethionin (SAME) oder aber Glutathion i.v. bzw. oral als liposomale Formulierung. Bei der Gabe von S-Adenosylmethionin sollte gleichzeitig auf eine ausreichende Versorgung mit Vitamin B6 geachtet werden. Dies ist die Grundlage für eine adäquate Immunfunktion und essentielle Voraussetzung für immunstimulative Maßnahmen mit exogenen Immunboostern (Immunpilzen, Mistelpräparaten, Bakterienlysaten o.a.).

Aufgrund des möglichen Nebeneffektes einer Resistenzsteigerung von Tumorzellen gegenüber Chemotherapeutika sollte eine GSH-Substitution bei Tumorpatienten allerdings nicht vor oder während einer Chemotherapie durchgeführt werden. Gerade nach einer Chemotherapie kann jedoch eine Substitutionstherapie mit Glutathion oder dessen Vorstufen die Regenerationsphase der Immunzellen und damit die Wiederherstellung der Immunkompetenz wesentlich beschleunigen.

GLUTATHIONSTOFFWECHSEL					GLUTATHIONSTOFFWECHSEL				
Profil GSH					Profil GSH				
GSH zellulär (T-Zellen)	15563		> 10800	fimean	GSH zellulär (T-Zellen)	↓ 7131		> 10800	fimean
<i>Therapeutischer Zielbereich: 15 000 - 25 000</i>					<i>Therapeutischer Zielbereich: 15 000 - 25 000</i>				
GSH zellulär (Monozyten)	36916		> 21000	fimean	GSH zellulär (Monozyten)	↓ 20527		> 21000	fimean
<i>Therapeutischer Zielbereich: 25 000 - 40 000</i>					<i>Therapeutischer Zielbereich: 25 000 - 40 000</i>				
GPX/Glutathion-Peroxidase (VB)	↓ 24,9		27,5 - 73,6	U/gHb	GPX/Glutathion-Peroxidase (VB)	39,1		27,5 - 73,6	U/gHb
Selen (VB)	↓ 71,3		100 - 160	µg/l	Selen (VB)	108,4		100 - 160	µg/l
<i>Therapeutischer Bereich: 160 - 240 µg/l</i>					<i>Therapeutischer Bereich: 160 - 240 µg/l</i>				
Glutathion gesamt	636		550 - 1800	µmol/l	Glutathion gesamt	1143		550 - 1800	µmol/l
Glutathion reduziert	↓ 428		500 - 1500	µmol/l	Glutathion reduziert	1038		500 - 1500	µmol/l
Glutathion oxidiert	104		25 - 150	µmol/l	Glutathion oxidiert	53		25 - 150	µmol/l
Ratio Glutathion red/gesamt	↓ 0,67		> 0,8	Ratio	Ratio Glutathion red/gesamt	0,91		> 0,8	Ratio

Befundbeispiel 1: *oxidatives Ungleichgewicht zwischen reduziertem und oxidiertem Gesamtglutathion, reduziertes Glutathion war sowohl mengenmäßig aus auch im Vergleich zum oxidierten und Gesamtglutathion niedrig. Hier wird der oxidierte und reduzierte Gesamt-Glutathionspiegel in Plasma und allen Blutzellen erfasst. Gleichzeitig waren Selen und die selenabhängige Glutathionperoxidase erniedrigt, was eine verringerte antioxidative Kapazität bestätigt. Zudem ist in einzelnen Zellpopulationen wie den T-Zellen und den Monozyten noch genügend Glutathion vorhanden, eine Auswirkung auf die Immunfunktion ist noch nicht erkennbar. Der Befund ist vereinbar z.B. mit einer erhöhten Beanspruchung des Entgiftungsstoffwechsels durch Schadstoff-/Xenobiotika-Belastung, z.B. bei Medikamenteneinnahme. Therapeutisch wurde eine Selensubstitution, die Gabe von N-Acetylcystein und Alpha-Liponsäure oder reduziertem Glutathion und gegebenenfalls die Versorgung mit weiteren Antioxidantien empfohlen.*

Befundbeispiel 2: *Speziell in einzelnen Zellpopulationen der T-Zellen und der Monozyten war ungenügend Glutathion vorhanden, trotz (noch) unauffälliger Gesamtsituation im Blut. Dies deutet auf eine eingeschränkte zelluläre Immunfunktion hin, z.B. nach verstärkter Beanspruchung des zellulären Immunsystems bei chronischer Entzündung, chronischer Infektion oder Rekonvaleszenzphase. Trotz unauffälliger selenabhängiger Glutathionperoxidase war auch der Selenspiegel im Vollblut grenzwertig niedrig. Der Therapieschwerpunkt lag auf der Zufuhr von den Glutathionvorstufen N-Acetyl-Cystein und Alpha-Liponsäure und einer verbesserten Mikronährstoffversorgung (Selen, Zink etc.).*