

Adjuvante Inhalationstherapie des Asthma bronchiale mit exogenem Superoxid*

Adjuvant inhalation therapy of bronchial asthma with exogenous superoxide

Key words: Superoxide – bronchial asthma – oxidative stress – spirometry – bronchial hyperreactivity

Schlüsselwörter: Superoxid – Bronchialasthma – oxidativer Streß – Spirometrie – bronchiale Hyperreagibilität

Die erhöhte Generierung von aktivierten Sauerstoffspezies, insbesondere des Superoxids $O_2^{\bullet-}$ durch Leukozyten, ist eine obligatorische Komponente jeder Entzündung. Arbeiten der letzten Jahre bekräftigen zunehmend stärker die Hypothese, daß die einseitige Betrachtung des Superoxids als vorwiegend schädigender Faktor nicht der Realität entspricht (McCord 1995). Eine der Krankheiten, bei welcher zur Rolle des endogen entstehenden Superoxids noch viele Fragen offen sind, ist das Bronchialasthma. Es entspricht einer gesicherten Erkenntnis, daß zwischen der Intensität endogener Peroxidationsprozesse und der Schwere des klinischen Bildes des Bronchialasthmas eine positive Korrelation besteht. Eine der Bedingungen, die im Organismus zur Verstärkung der Peroxidationsprozesse führen, ist die Störung des Gleichgewichts zwischen der Generierung freier Radikale und der Leistungsfähigkeit des antioxidativen Schutzes; dabei sind erhöhte Werte der wichtigsten antioxidativen Enzyme des Blutes feststellbar. Das niedrigdosierte inhalierte Superoxid (Goldstein et al. 1992) kann eine Signalwirkung entfalten, die eine Produktion von endogenen Entzündungsmediatoren vermindern kann (Rehberg et al. 1996). Unter diesem Aspekt besteht das therapeutische Ziel darin, das optimale Gleichgewicht (McCord 1995) zwischen der Superoxidbildung und -entfernung (scavenging) wiederherzustellen.

In der vorliegenden Arbeit wurde der Versuch unternommen, die Lungenfunktionen bei Asthmatikern durch systemische Einwirkung mit exogenem gasförmigen Superoxid zu korrigieren.

N. Goldstein¹, G. Rehberg¹, T. Lewin¹, F.-R. Klefisch², L. Korkina³

¹ Goldstein und Lewin technology GmbH, Abteilung für medizinische Forschung, Stahnsdorf, Deutschland

² Universitätsklinikum Rudolf Virchow, Abteilung für innere Medizin, Humboldt-Universität zu Berlin, Berlin, Deutschland

³ Institut für pädiatrische Hämatologie, Moskau, Rußland

Methodik

In die Studie wurden 27 Patienten (davon 20 Frauen) im Alter zwischen 18 und 45 Jahren (Median: 42 [34; 44]) mit atopischem Bronchialasthma eingeschlossen. Die Erkrankungsdauer betrug 120–300 Monate (Median: 130 [120; 180]).

Die spirometrischen Untersuchungen wurden mit einem Gerät vom Typ Pneumoscreen (Jaeger, Deutschland) durchgeführt. Es wurden die Vitalkapazität (VC), die Sekundenkapazität (FEV₁) und die maximalen expiratorischen Flüsse bei 75, 50 und 25% (FEF75%, FEF50% und FEF25%) der VC registriert. Die Reagibilität des Bronchialbaumes (Metacholintest) und der Bronchospasmodolysetest (Salbutamoltest) wurden nach Sekizawa et al. (1986) bzw. nach Fischer et al. (1994) durchgeführt.

Die Zählung der Leukozyten (WBC) und Erythrozyten (RBC) wurde mit einer Standard-Count-Methode vorgenommen. Die Bestimmung des Kortisolspiegels im Serum erfolgte mit einer radioimmunologischen Methode (ICN Biomedicalis GmbH, Eschwege). Es wurden auch die Parameter des oxidativen Status des Blutes (des Glutathionmetabolismus, der Superoxiddismutase- und Katalaseaktivität, die Chemilumineszenz der Leukozyten) untersucht. Die Parameter des Glutathionmetabolismus wie reduziertes Glutathion (GSH), Glutathionperoxidase (GSH-px) und Glutathionreduktase (GR) der Erythrozyten wurden nach Anderson (1985), Carlberg u. Mannervik (1985) sowie Günzler u. Flohé (1987) bestimmt. Die Superoxiddismutaseaktivität der Erythrozyten (SOD), die extrazelluläre SOD des Plasmas (EC-SOD) sowie die Katalaseaktivität der Erythrozyten sind nach Marklund (1990) bzw. Aebi (1984) gemessen worden. Die Fähigkeit zur Generierung von aktivierten Sauerstoffspezies insbesondere des Wasserstoffperoxids durch die aktivierten Leukozyten wurde mit Hilfe der Chemilumineszenz (LUM-CL) (Luminometer Modell LKB-1251, Schweden) untersucht.

Für die kontrollierte Herstellung des gasförmigen Superoxids $O_2^{\bullet-}$ kam ein speziell entwickeltes Inhalationsgerät zum Einsatz, welches medizinischen Sauerstoff (100 ml/min) durch eine Koronarentladung transportierte, wo das Superoxid gebildet wurde. Die Bildungsgeschwindigkeit vom Superoxid wurde in einer Entfernung von 10 mm von der Elektrode

indirekt gemessen (Goldstein et al. 1992). Der ermittelte Wert lag bei 0,25 µmol/min. Eine Nebenproduktbildung (Ozon) war mit 1–3 ppb/min kaum feststellbar (Ozonnachweis nach Dräger).

Die nasale Inhalation des Superoxids wurde in zwei Behandlungszyklen zu je 4 Wochen zwei bis dreimal pro Woche über jeweils 15 Minuten durchgeführt. Die medikamentöse Behandlung wurde fortgeführt. Die Untersuchungen wurden vor Beginn der Inhalationstherapie (U1), am Ende der Behandlung (U2) und 8 Wochen nach Behandlungsende (U3, ohne Metacholintest) durchgeführt.

Ergebnisse

Die Behandlung verbesserte die spirometrischen Parameter signifikant. Von besonderer Bedeutung sind die Zunahme von FEF25% der VC (Tab. 1) und die Verminderung der bronchialen Hyperreagibilität (Tab. 2), da beide Parameter für die Pathogenese der Asthmasymptomatik wesentlich sind. Der Salbutamoltest war nach der Behandlung bei 8 von 27 (29,6%) Patienten aufgrund der Normalisierung von FEV₁ negativ, d. h. klinisch günstig. Die Besserung ihres Befindens veranlaßte 9 Patienten (33,3%), um eine Reduzierung ihrer antiasthmatischen Therapie zu bitten. Die Verbesserung von FEV₁ bei den Patienten mit unveränderter Medikation betrug 18% ($p < 0,01$), während sie bei den Patienten mit Reduzierung der Medikation nur 9% ($p < 0,05$) erreichte. Insgesamt wurde eine objektive Verbesserung der spirometrischen Befunde bei 23 von 27 Patienten (85,2%) beobachtet. Unabhängig von den Laborwerten gaben 9 Patienten (33,3%) spontan an, daß sich die Reaktionsstärke ihrer Atemwege auf bestimmte Noxen des täglichen Lebens deutlich vermindert habe.

Tab. 1 Therapie des Asthma bronchiale mit exogenem Superoxid. Ergebnisse aus Spirometrie, Salbutamol- und Provokationstest.

	U1	U2	U3
Salbutamoltest			
FEV ₁ (vorher)	72** (68; 77)	83 (69; 89)	82 (70; 91)
FEV ₁ (nachher)	92** (87; 99)	97## (89; 105)	100,5 (94; 110)
Spirometrie			
FEV ₁ /VC%	89* (85; 98)	92 (86; 100)	93 (85; 102)
FEF75% der VC	65* (55; 72)	68 (59; 79)	69,5 (59; 80)
FEF50% der VC	52* (34; 67)	59 (38; 74)	57 (44; 70)
FEF25% der VC	48** (31; 64)	53 (44; 79)	53,5 (41; 76)
Metacholintest			
PC20 mc	0,25 (0,1; 0,3)	0,5 (0,4; 4)	n. v.

Werte als Median, in Klammern untere und obere Quartile. * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$ (U1 versus U2 und U3). ## $p < 0,01$ (U2 versus U3) = alle nach Wilcoxon. Der Bronchospasmodietest wurde bei Zunahme der FEV₁ um $\geq 15\%$ als positiv bewertet. Metacholintest: PC20 mc in mg/ml = erforderliche Metacholinkonzentration zur Provokation einer FEV₁-Reduktion von über 20% des Ausgangswertes. n. v. = nicht verfügbar.

Unter der Inhalationsbehandlung nahmen SOD um 33,8% ($p < 0,001$), EC-SOD um 27,3% ($p < 0,01$), GSH-px um 17,3% ($p < 0,001$) und GSH tendenziell (um 8,4%, n.s.) ab. Gleichzeitig stiegen die GR sowie die LUM-CL um 20% ($p < 0,001$) bzw. 54,3% ($p < 0,001$) an. Die blutchemischen Untersuchun-

PC20 mc	U1	U2
$\leq 0,25$	21	5
$> 0,25$	4	20
Σ	25	25

PC20 mc in mg/ml = erforderliche Metacholinkonzentration zur Provokation einer FEV₁-Reduktion von über 20% des Ausgangswertes. U1 = vor Behandlungsbeginn; U2 = nach Behandlungsende. Mit Yatescher Korrektur = 20,5; $\chi^2_{Tafel} p < 0,001 = 10,8$.

Tab. 2 Veränderung der Häufigkeit von Patienten mit starker bronchialer Hyperreagibilität unter der Behandlung mit gasförmigem Superoxid ($\leq 0,25$ vs. $> 0,25$ mg/ml Metacholin).

gen ergaben auch eine Steigerung des Kortisolspiegels um 14,5% ($p < 0,01$).

Das Blutbild zeigte eine geringe, aber signifikante Abnahme der WBC um 2,65% ($p < 0,05$) und eine Vermehrung der RBC (um 4,8%, $p < 0,001$). Am stärksten ausgeprägt war die Zunahme der Thrombozyten (um 23,9%, $p < 0,001$), ohne den physiologischen Bereich zu übersteigen.

Schlußfolgerungen

Die eingangs aufgestellte Hypothese, daß die Inhalation von exogenem Superoxid beim Asthmatiker über die Beeinflussung des oxidativen Status zu einer Verbesserung der Lungenfunktion führen kann, hat eine deutliche Bestätigung erfahren. Die induzierte Dynamik des oxidativen Status der Asthmatiker spiegelt sich in der Normalisierung der Werte antioxidativer Stellglieder wider. Für das Verständnis der Wirksamkeit von GSH ist die Betrachtung der Aktivität von GSH-px und GR erforderlich. Während es unter der Inhalationsbehandlung zu einer Steigerung der GR gekommen ist und der GSH-Pool damit an Effektivität gewonnen hat, hat gleichzeitig die GSH-px abgenommen und damit ihr Potential zur Beseitigung der Hydroperoxide. Zusammen mit einer deutlichen Abnahme von SOD-Aktivität können diese Befunde eine Verminderung des Bedarfs an antioxidativer Funktion widerspiegeln, d. h. die Verminderung des endogenen oxidativen Stresses.

Die Inhalation von exogenem Superoxid führt zu einer Verminderung der bronchialen Hyperreagibilität und zu einer Verbesserung der spirometrischen Werte. Die Verbesserung der spirometrischen Befunde und die Verminderung der bronchialen Hyperreagibilität stehen in guter Übereinstimmung mit der signifikanten Zunahme des körpereigenen Kortisolspiegels. Patienten, bei denen unter der Behandlung das Niveau des antientzündlichen Hormons Kortisol ansteigt, zeigen häufiger eine Zunahme der FEV₁. Unter der Inhalationsbehandlung mit exogenem Superoxid zeigt sich, daß die Erfolge der Behandlung um so deutlicher ausfallen, je schlechter die spirometrischen Ausgangsbefunde sind. Eine Verbesserung der spirometrischen Parameter und der Laborbefunde kann vor allem bei Patienten mit einer anfänglichen FEV₁ unter 80% der VC erreicht werden.

Literatur

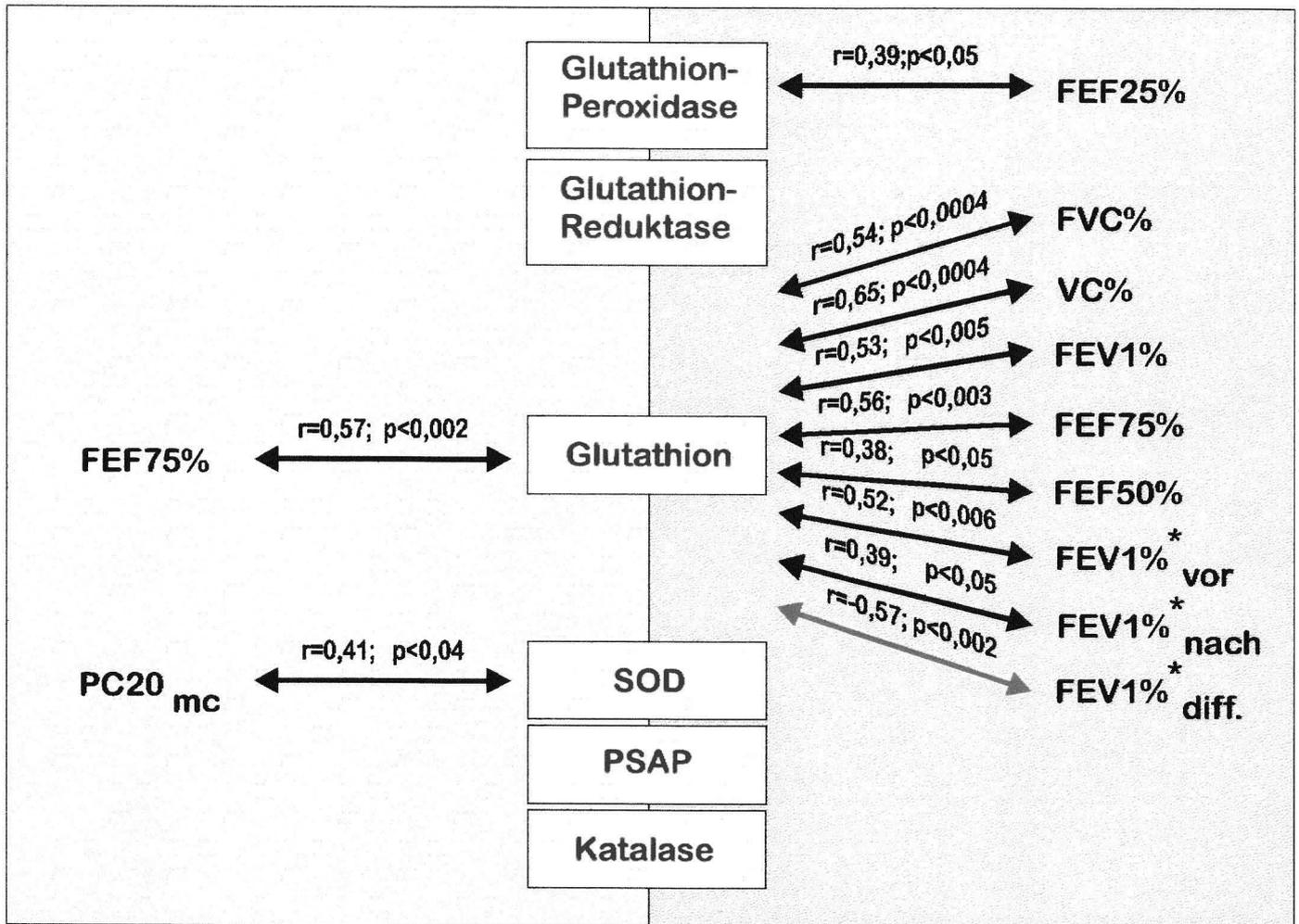
- Aebi, H.: Catalase in vitro. In: Packer, L. (ed.): Meth. Enzymol., Academic Press, Orlando 105 (1984) 121 - 126
- Anderson, M. E.: Determination of glutathione disulfide in biological samples. In: Meister, A. (ed.): Meth. Enzymol., Academic Press, Orlando 113 (1985) 548 - 555
- Carlberg, J., B. Mannervik: Glutathione reductase. In: Meister, A. (ed.): Meth. Enzymol., Academic Press, Orlando 113 (1985) 484 - 490
- Goldstein, N. I., R. N. Goldstein, M. N. Merzlyak: Negative air ions as a source of superoxide. Int. J. Biometeorol. 36 (1992) 118 - 122
- Günzler, W. A., L. Flohé: Glutathione peroxidase. In: Greenwald, R. A. (ed.): CRC Handbook of methods for oxygen radical research. CRC Press, Boca Raton (1987) 285 - 290
- Marklund, S. L.: Analysis of extracellular superoxide dismutase in tissue homogenates and extracellular fluids. In: Packer, L., A. N. Glaser (eds.): Meth. Enzymol., Academic Press, San Diego 186(B) (1990) 260 - 265
- McCord, J. M.: Superoxide radical: Controversies, contradictions, and paradoxes. P. S. E. B. M. 209 (1995) 112 - 117
- Rehberg, G., N. Goldstein, T. Lewin, F.-R. Klefisch: Die nasale Inhalation von gasförmigem Superoxid verbessert eingeschränkte spirometrische Werte und Befinden asthmakranker Kinder. Atemw.-Lungenkrkh. 11 (1996) 589

Dr. rer. nat. N. Goldstein

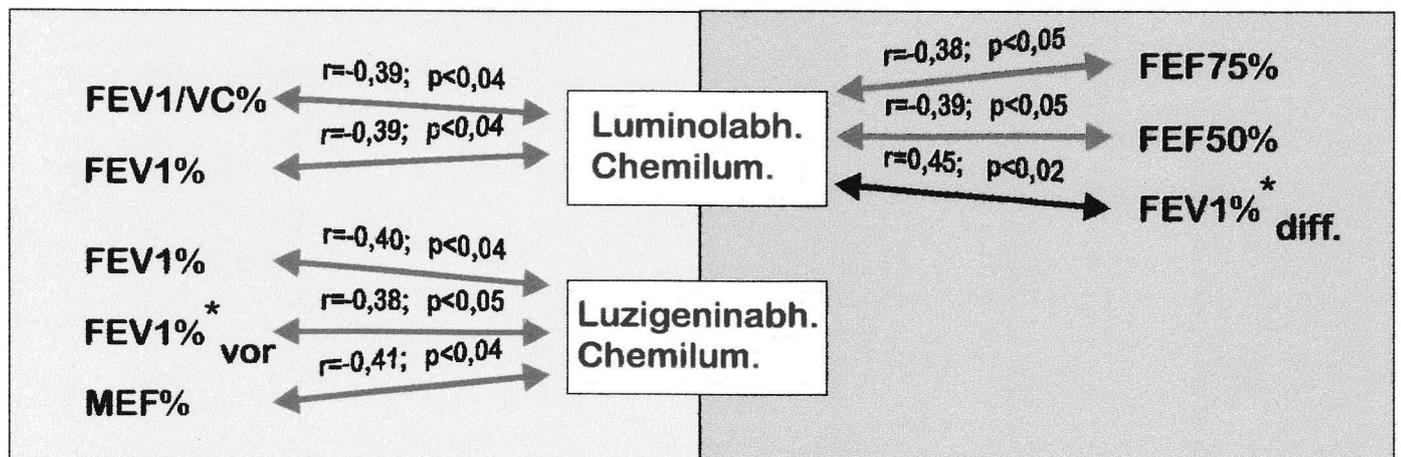
Goldstein und Lewin technology GmbH
Abteilung für medizinische Forschung
Kastanienweg 23
D-14532 Stahnsdorf

Oxidativer Status und Lungenfunktion

a) Antioxidative Parameter der Erythrozyten und des Plasmas:



b) Oxidative Parameter der Leukozyten:



Voruntersuchung

Behandlungsende

* = Salbutamol-Test

Metacholin-Provokationstest

