

KEYWORDS:
ANTIOXIDANT
OXYGEN
FREE RADICALS
CUTANEOUS AGING

Oxiderende stress, antioxidantia en huid

Joel Pincemail*

SAMENVATTING

Vrije radicalen, oxidatieve stress en reactieve zuurstofspecies (*Reactive Oxygen Species*, ROS) klinken de gezondheidswerkers almaar vertrouwder in de oren. De artsen worden er zich van bewust dat oxidatieve stress – een verstoring van het evenwicht tussen de productie van geactiveerde toxische zuurstofspecies (*Activated Oxygen Species*, AOS) en de antioxiderende afweermechanismen die de productie van AOS regelen – een rol speelt in het ontstaan van meerdere leeftijdsgebonden aandoeningen (hart- en vaatziekten, neurodegeneratieve aandoeningen, kanker, diabetes...).

Algemene inleiding tot oxidatieve stress

Nieuw is dat evenwel niet. Reeds in het midden van de jaren '50 hebben R. Gerschman en vervolgens D. Hartman gewezen op de toxiciteit van zuurstof en werd de "free radical theory" ontwikkeld om het verouderingsproces uit te leggen. In 1969 isoleren de Amerikanen McCord en Fridovich (1) een antioxiderend enzymstelsel, het superoxidodismutase (SOD), uit humane rode bloedcellen, waarmee ze voor het eerst onrechtstreeks aantonen dat ons lichaam wel degelijk AOS produceert. Die ontdekking heeft het startsein gegeven voor intens wetenschappelijk onderzoek naar oxidatieve stress, onderzoek dat nu pas vruchten begint af te werpen.

AOS zoals de bekende vrije radicalen kunnen vaak onomkeerbare oxidatieve

schade berokkenen aan een groot aantal biologische substraten. Schadelijke effecten van AOS zijn onder meer inactivatie van enzymen, wijziging van de structuur van proteïnen, afwijkingen van de genetische boodschap met verschijnen van mutaties in het DNA, verhoogde permeabiliteit van de membranen door peroxidatie van de vetzuren en glycatie van proteïnen. Die AOS, die continu door het lichaam worden geproduceerd, spelen ook een belangrijke fysiologische rol: ze regelen de expressie van de genen en de apoptose en verdedigen het lichaam tegen bacteriën: dat is de "fysiologische" oxidatieve stress (2). Het lichaam beschikt over moleculen, antioxidantia genaamd, die de productie van AOS regelen en ervoor moeten zorgen dat de schadelijke effecten van de AOS onder controle worden gehouden. Er bestaan twee bronnen van antioxidantia: enerzijds de voeding

met fruit en groenten die veel vitamine C, vitamine E, carotenoïden, ubiquinon, flavonoiden, glutathion... bevatten en anderzijds een interne bron bestaande uit enzymen (SOD, glutathionperoxidase, catalase) en andere proteïnen (ferritine, transferrine), die het ijzer in een moleculaire toestand houden, waarin het niet kan bijdragen tot de vorming van AOS.

We spreken van "pathologische" oxidatieve stress als het evenwicht tussen de productie van AOS en de antioxidantia verbroken wordt in het voordeel van de AOS (3). **Tabel 1** toont dat oxidatieve stress het gevolg kan zijn van meerdere factoren: slechte voeding, ontstekingsverschijnselen, ongezonde leefgewoonten (roken, alcohol) of overmatige blootstelling aan belangrijke producenten van AOS zoals de zon. De laatste tien jaar hebben epidemiologische en klinische studies duidelijk aangetoond dat belangrijke oxidatieve stress de kans op ontwikkeling van hart- en vaatziekten en kanker vergroot (4).

*CHU, Probiox Sart Tilman, Liège, ULg

Tabel 1: Belangrijkste bronnen van productie van geactiveerde zuurstofspecies.

A. Inwendige bronnen

- Stoornissen van het elektronentransport in de respiratoire keten in de mitochondriën (ischemie – reperfusie)
- Biosynthese van prostaglandines (inflammatoire prostanoiden en leukotriënen)
- Oxidatie van hemoglobine
- Oxidatie van glucose
- Afgifte van ijzer door de transporteiwitten
- Plaatjesaggregatie
- Activatie van endotheelcellen
- Activatie van witte bloedcellen
- Cytochroom P 450
-

B. Externe bronnen

- Blootstelling aan de zon (UV)
- Blootstelling aan stralen (γ -stralen)
- Asbest
- Luchtvervuiling
- Ozon
- Voeding
- Roken
- Orale anticonceptiva
- Alcoholconsumptie
- Inname van geneesmiddelen
-

De huid: een orgaan dat continu wordt blootgesteld aan AOS

De huid is het orgaan met de grootste oppervlakte, maar ook het kwetsbaarste orgaan van het menselijke lichaam. De huid is immers constant onderhevig aan agressie vanuit de omgeving, die rechtstreeks of onrechtstreeks bijdraagt tot het ontstaan van diverse huid-aandoeningen. Zo stimuleert blootstelling aan de zon het verouderingsproces van de huid en de ontwikkeling van bepaalde vormen van huidkanker. De zon zendt een breed stralenspectrum uit, van zichtbaar licht tot ultraviolette stralen (UV). UV-stralen zijn kankerverwekkend. UV-licht bestaat uit UVA (320-400nm), UVB (290-300nm) en UVC (200-290nm). UVC kunnen oxidantia vormen door fotolyse van water. UVA en UVB kunnen oxidantia vormen door een fotodynamische werking zoals dissociatie van waterstofperoxide (H_2O_2). Alle UV-stralen kunnen ook moleculen

(bijvoorbeeld riboflavines) activeren (fotoactivatie), die na een toestand van excitatie geïnactiveerd worden met productie van grote hoeveelheden AOS.

Van de drie soorten straling zijn UVB en UVA ongetwijfeld het meest kankerverwekkend. Ze veroorzaken huidkanker doordat ze het DNA beschadigen (**Figuur 1**). Er worden echter constant herstelsystemen ingezet om de schade te beperken. Als het genoom te sterk is aangetast, kan het gen p53, waarvan de expressie door UVB wordt geïnduceerd (5), signalen opwekken die leiden tot apoptose van de keratinocyten. Apoptose is niet meer of minder dan zelfmoord van de cel. UVB spelen een belangrijke rol bij het induceren van kanker, maar de UVA hoeven er niet voor onder te doen: ze spelen vooral een rol bij het bevorderen van de kanker. UVA in de doses die door de zon worden uitgezonden, veroorzaken 10-maal meer lipidenperoxidatie dan UVB (6). Bij 14 vrijwilligers hebben Giacomomi et al (7) aangetoond dat blootstelling aan de zon accumulatie van squalenperoxide in het huidoppervlak veroorzaakt: de concentratie is maximaal op het einde van de dag. Recente studies hebben aangetoond dat UVA-stralen de immunologische afweer van de huid verzwakken (8). UVA-stralen, die percentageel 20-maal belangrijker zijn in zonlicht dan UVB-stralen, kunnen ook de dermis bereiken en interacties aangaan met de bloedcellen, wat UVB-stralen

De huid is het kwetsbaarste orgaan van het menselijke lichaam.

niet kunnen: UVB-stralen worden tegengehouden in de epidermis. De veroudering onder invloed van de zon, die zich uit in uitdroging van de huid en het verschijnen van abnormale pigmentatie, is in belangrijke mate toe te schrijven aan UVA. UVA-stralen induceren de expressie van proteasen (familie van de MMP's), die het collageennetwerk van de huid vernietigen en de synthese van procollageen remmen.

De afwijkingen van de matrix – veroorzaakt door de door UVA geproduceerde AOS – verergeren ook door activatie van transcriptiefactoren zoals NK- κ B of AP-1 (9). De AOS vallen de proteïnen en de lipiden van de membraan aan, waardoor de dermis nog meer te lijden heeft. De proteïnen kunnen ook worden beschadigd door glycatie, een reactie tussen glucose en de aminozuren van proteïnen zoals lysine. Geglycateerde proteïnen (*Advanced Glycation Endproducts*, AGEs) of “oude proteïnen” gaan dan een covalente binding aan met andere proteïnen en veroorzaken zo onomkeerbare schade. Zo gewijzigd collageen verliest zijn elasticiteit, draagt bij tot de desorganisatie van het cytoskelet en verhindert een normale adhesie tussen cellen, die noodzakelijk is voor de homeostase van de huid (10). De “oude proteïnen” kunnen ook koper opnemen met vorming van een complex dat lipidenperoxidatie op gang kan brengen of onderhouden.

Antioxidantia om de huid te beschermen

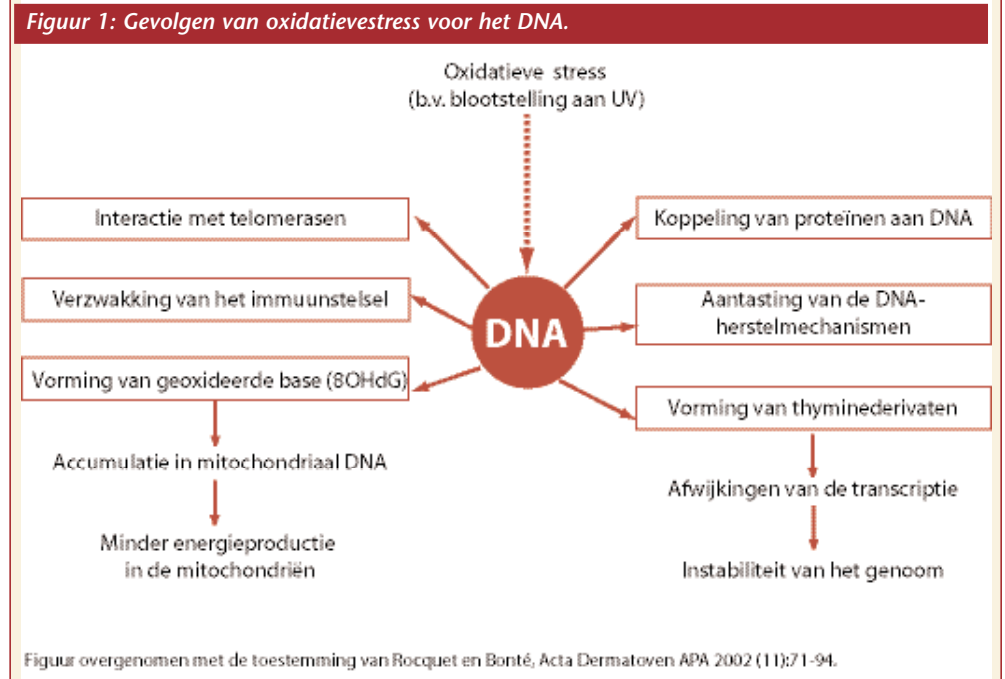
AOS spelen een belangrijke rol bij het verouderen van de huid en het ontstaan van huidkanker. Het is dan ook logisch te veronderstellen dat bescherming door antioxidantia die schadelijke effecten kan vertragen. Die hypothese wordt bijgetreden door observaties die aantonen dat patiënten met actinische keratose of een basaal carcinoom sterk verminderde bloedspiegels van vitamine C, vitamine E en glutathion hebben (11). Men kan de hoeveelheid antioxidantia in de huid op verschillende manieren verhogen: via de voeding, door toediening van voedingssupplementen of door topische applicatie. De onderstaande studies zijn een samenvatting van het uitstekende overzichts-artikel van Pinnell (12) over de rol van antioxidantia bij het beschermen van de huid.

Als vitamine C op de huid wordt aangebracht in de vorm van een geprotoneerde oplossing (pH < 3,5), is de vitamine-C-concentratie in de huid maximaal 3 dagen na applicatie van een initiële concentratie van 15%. De halfwaardetijd bedraagt 4 dagen. Vitamine C heeft verschillende effecten die beschermen tegen UVA en UVB: minder

immunosuppressie en hogere concentratie van boodschapper-RNA dat codeert voor procollageen type I en III. De stabiliteit in de tijd is echter een belangrijke factor die de doeltreffendheid van de werking van vitamine C beperkt. Eenzelfde probleem zien we met vitamine E. α -tocoferol is de biologisch actiefste vorm van vitamine E. Zeer veel dierstudies tonen aan dat vitamine E de huid goed beschermt tegen de schade die wordt veroorzaakt door UV: lipidenperoxidatie, erytheem, veroudering door de zon en immunosuppressie. Om redenen van stabiliteit moet vitamine E topisch worden aangebracht in de vorm van tocoferolacetaat. Dat heeft echter een dubbel nadeel: het acetaat is minder doeltreffend dan de vrije vorm en bovendien wordt het in de huid zeer moeilijk omgezet in de vrije vorm.

De beste resultaten in termen van bescherming werden behaald bij toediening van de twee vitamines samen. Vitamine C en vitamine E werken immers synergistisch in de strijd tegen AOS. Vitamine C zorgt ervoor dat de radicalaire vorm van vitamine E (die ontstaat door reactie van vitamine E met lipideradicalen) weer wordt omgezet in zijn initiële actieve vorm. Eberlien-Konig et al (13) hebben bij de mens aangetoond dat niet-fysiologische perorale doses van die twee vitamines het erytheem verminderen dat door UV wordt veroorzaakt. Lin J et al (14) hebben aangetoond dat applicatie van een combinatie van 15% L-ascorbinezuur en 1% α -tocoferol op de huid van varkens de vorming van erytheem en thyminedimeren in de huid significant vermindert, terwijl geen enkel resultaat werd gezien bij toediening van vitamine C of vitamine E alleen. Quevedo et al (15) hebben bij de mens en bij dieren vastgesteld dat gelijktijdige topische applicatie van de twee vitamines het immunosuppressieve effect van blootstelling van de huid aan UV-stralen tegengaat.

Sinds kort besteden de vorsers ook aandacht aan andere antioxidantia zoals die afkomstig van planten: de familie van de flavonoiden met onder meer silymarine, de isoflavonen van soja en de polyfenolen van thee (16). Flavonoiden zijn zeer krachtige antioxidantia die de AOS rechtstreeks kun-



nen strikken en de lipidenperoxidatie onder invloed van metalen zoals ijzer of koper remmen. Silymarine is een mengsel van drie flavonoiden: silydianine, silychristine en silybine. Bij muizen beschermt silybine het best tegen de vorming van tumoren onder invloed van UV (daling met 92% in vergelijking met onbehandelde muizen). Met een niet-invasieve techniek gebaseerd

Patiënten met actinische keratose of een basaal carcinoom hebben sterk verminderde bloedspiegels van vitamine C, vitamine E en glutathion.

op spontane meting van de luminescentie (*Ultraweak Photon Emission, UPE*) die door de huid wordt uitgezonden, hebben Sauermaann et al (17) aangetoond dat de huid van bejaarden (60-72 jaar) meer oxidatieve stress vertoonde dan die van jonge personen (18-25 jaar). Dezelfde auteurs hebben ook aangetoond dat topische applicatie van een flavonoïd, in casu alfa-glucosylrutine, de oxidatieve stress met een factor 3 verminderde.

Isoflavonen van soja zijn genisteïne en daïdzeïne, die bijvoorbeeld in vitro de vorming

van geoxideerd DNA bij blootstelling aan UV verminderen en de vorming van erytheem van de huid van muizen bij contact met een combinatie van psoralen en UV verminderen. Thee bevat de polyfenolen cafeïne en gallaat-3-epigallocatechine, die de vorming van huidtumoren en de productie van geoxideerd DNA of pyrimidine-dimeren in de epidermis en de dermis bij blootstelling aan UV verminderen. Die flavonoiden hebben ook ontstekingsremmende eigenschappen. Ze kunnen ook apoptose uitlokken in verschillende tumorcellen en de immunosuppressie in verschillende modellen van blootstelling van de huid aan UV bij de mens en bij proefdieren voorkomen.

Interessant in de preventie van huidziekten zijn ook oligo-elementen zoals selenium en zink. Dat zijn eigenlijk geen antioxidantia, maar wel co-factoren die noodzakelijk zijn voor de antioxidantische werking van enzymen zoals glutathionperoxidase, thioredoxinereductase en superoxidisedismutase. 20% van de totale hoeveelheid zink in het menselijke lichaam zit in de huid. Zink heeft meerdere antioxidantische eigenschappen: co-factor van GPx, rol in de synthese van metallothioneïnen die de AOS kunnen neutraliseren, en inhibitie van radicalaire reacties die worden geïnduceerd door ijzer en koper. Orale toediening van zink aan muizen vermindert de immunosuppressie die wordt veroorzaakt door UV. Bij topische applicatie verhindert zink beschadiging van

het genoom bij blootstelling van huidcellen aan UVA en UVB (18). Bij blootstelling van cellen aan UV is aangetoond dat selenium in de vorm van L-selenomethionine de lipidenperoxidatie, oxidatie en mutaties van het DNA en de cytotoxiciteit vermindert (12). Bij muizen die werden blootgesteld aan UV-stralen hebben Overvad et al (19) aangetoond dat toediening van selenium huidkanker verminderde, maar dat kon niet worden bevestigd bij de mens.

Conclusies

De huid is een orgaan dat voortdurend onderhevig is aan oxidatieve stress door luchtvervuiling of blootstelling aan de ultraviolette stralen van de zon. Er bestaan beschermingsystemen van antioxidandia om de schadelijke effecten van AOS – die lipidenperoxidatie kunnen veroorzaken en het DNA kunnen beschadigen – te beperken. Al die oxidatieve mechanismen kunnen een rol spelen in de pathogenese van huidziekten zoals kanker. Vaak dient men dan ook exogene beschermingsystemen aan te wenden om de verdediging van

de huid tegen agressie door AOS te versterken. De beste resultaten worden behaald met vitamine C, vitamine E en zink. Ook wordt onderzocht of andere antioxidandia zoals ubiquinon de huid beschermen tegen oxidatieve stress.

Gezien de beperkte biologische beschikbaarheid van antioxidandia is het echter

Vitamine C en vitamine E werken synergistisch in de strijd tegen AOS.

allesbehalve eenvoudig de concentratie van antioxidandia in de huid te verhogen. Voorts is het zo dat sommige flavonoïden (bijvoorbeeld in zeealgen) wel zeer goed beschermen tegen UV, maar sterk gekleurd zijn, wat esthetisch toch een probleem is. De scheikundige structuur die verantwoordelijk is voor de kleur, is ook die welke gerelateerd is aan de antioxiderende eigenschappen van de flavonoïden. Momenteel

wordt in tal van studies onderzocht of men die stoffen “bleker” kan maken zonder dat ze hun beschermende effect tegen oxidatieve stress verliezen.

Referenties

1. Isolation and characterisation of superoxide dismutase: a personal history and tribute to Joe McCord and Irwin Fridovich. *Free Rad Biol Med* 1988(5):371-6.
2. Evans and Halliwell. Micronutrients: oxidant/antioxidant status. *Br J Nutr* 2001;85:S67-S74.
3. Sies H. Oxidative stress: introduction. In: *Oxidative stress, oxidants and antioxidants*. H. Sies Ed. London: London Academic Press 1991, pp XV-XXII.
4. Bourgeois J.C. Antioxidant vitamins and health. HBN Publishing, NY, USA, 2003.
5. Goukassian, et al. Thymidine dinucleotides mimics the effect of solar stimulated irradiation of p53 and p53-regulated proteins. *J Invest Dermatol* 1999;112:25-31.
6. Morliere, et al. Action spectrum for UV-induced lipid peroxidation in cultured human skin fibroblasts. *Free Rad Biol Med* 1995;19:365-71.
7. Giacomoni, et al. Aging of human skin: review of a mechanistic model and first experimental data. *Life* 2000;259-63.
8. Streilein, et al. Immune surveillance and sunlight-induced skin cancer. *Immunol Today* 1994;15:174-9.
9. Djavaheri-Mergny, et al. Ultraviolet-A induces activation of AP-1 in cultured human keratinocytes. *FEBS Letters* 1996;384:92-6.
10. Rocquet and Bonté. Molecular aspects of skin ageing: recent data. *Acta Dermatoven APA* 2002;11:71-94.
11. Vural, et al. Plasma antioxidants defense in actinic keratoses and basal cell carcinoma. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 113:96-101, 1999.
12. Pinnell. Cutaneous photodamage, oxidative stress and topical antioxidant protection. *J Am Acad Dermatol* 48:1-9, 2003.
13. Eberlein – Konig, et al. Protective effect against sunburn of combined systemic ascorbic acid and d-alpha tocopherol. *J Am Acad Dermatol* 38:45-48, 1998.
14. Lin, et al. UV photoprotection by combination topical antioxidants vitamins C et E. *J Am Acad Dermatol* sous presse.
15. Quevedo, et al. Inhibition of UVR-induced tanning and immunosuppression by topical applications of vitamins C and E in the skin of hairless mice. *Pigment Cell Res* 13:89-98, 2000.
16. Nijveldt, et al. Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications. *Am J Clin Nutr* 74:418-425, 2001.
17. Sauermann, et al. Oxidative stress of young and elderly human skin by detecting ultraweak photon emission (UPE) in vivo. *Methods in Enzymology* 1999;300:419-28.
18. Record, et al. Protection by zinc against UVA- and UVB-induced cellular and genomic damage in vivo and in vitro. *Biol Trace Elem Res* 1996;53:19-25.
19. Overvad, et al. Selenium inhibits UV-light-induced skin carcinogenesis in hairless mice. *Cancer Lett* 1985;27:163-70.