



universität  
wien

# DIPLOMARBEIT

Titel der Diplomarbeit

„Der Einfluss von großer Höhe auf den  
plasmatischen Redoxstatus“

Verfasserin

Barbara Hofmann

angestrebter akademischer Grad

Magistra der Naturwissenschaften (Mag.rer.nat.)

Wien, 2012

Studienkennzahl lt. Studienblatt:

A 474

Studienrichtung lt. Studienblatt:

Diplomstudium Ernährungswissenschaften

Betreuerin / Betreuer:

Univ.-Prof. Dr. Jürgen König



# Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis	I
Tabellenverzeichnis	III
Abbildungsverzeichnis	IV
Abkürzungsverzeichnis	V
I. Einleitung und Fragestellung	1
II. Literaturübersicht	4
1. Reaktive Sauerstoffspezies (ROS)	4
1.1 Definition und Herkunft	4
1.2 Arten und Bildung	7
1.3 Toxizität	10
1.4 Abwehrmechanismen	12
2. Antioxidantien	12
2.1 Definition	12
2.2 Arten	13
2.2.1 Enzymatische Antioxidantien	13
2.2.2 Endogene nicht-enzymatische Antioxidantien	14
2.2.3 Exogene nicht-enzymatische Antioxidantien	15
2.2.3.1 Vitamin E	16
2.2.3.2 Vitamin C	17
3. Oxidativer Stress, Reduktiver Stress, Redoxcycling	18
3.1 Oxidativer Stress	18
3.2 Reduktiver Stress	19
3.3 Redoxcycling	19
4. Physiologische und molekulare Adaptationen an große Höhen	20
4.1 Physiologische Adaptationen	20
4.2 Molekulare Adaptationen	23
5. Höhenkrankheiten	23
5.1 Akute Höhenkrankheit (AMS)	24
5.2 Höhenhirnödem (HACE)	28
5.3 Höhenlungenödem (HAPE)	28

6. Der Einfluss der freien Sauerstoffradikale auf die Gewebsschädigung unter Hypoxie und bei physischer Aktivität und der mögliche Nutzen von Antioxidantien	29
6.1.Hypoxie	29
6.2 Körperliche Anstrengung	40
6.3 Hypoxie und körperliche Anstrengung	45
III. Material and Methoden	47
1. Probanden	47
2. Experimentelles Protokoll	49
2.1 Experimentelle Gruppen	49
2.2 Experimentelle Phasen	50
2.3 Supplementation	50
2.4 Trekking	51
2.5 Interviews	52
2.6 Untersuchte Parameter	53
3. Blutprobenentnahme und -vorbereitung	54
4. Analytische Methoden	55
4.1 Ascorbinsäure (Vitamin C)	55
4.2 $\alpha$ -Tocopherol (Vitamin E)	55
5. Statistik	56
IV. Ergebnisse	57
1. Nahrungsmittelaufnahme	57
2. Gesundheitszustand, AMS - Symptome und Medikamenteneinnahme	59
2.1 Gesundheitszustand	60
2.2 Akute Höhenkrankheit (AMS)	60
3. Hämatologische Biochemie	65
V. Diskussion	70
VI. Schlussbetrachtung	76
VII. Zusammenfassung	77
VIII. Summary	79
IX. Literaturverzeichnis	80
X. Danksagung	93
XI. Lebenslauf	95

## Tabellen

Tabelle 1: Individuelle anthropometrische Daten und Maß an gewohnheitsmäßiger körperlicher Betätigung	42
Tabelle 2: Körperliche Merkmale der Gruppen	42
Tabelle 3: Anzahl der Probanden, Zugehörigkeit zur experimentellen Gruppe und Anzahl der Ruhetage auf 3450 m der 4 Trekkinggruppen	44
Tabelle 4: Symptome von AMS und Punktezahl	46
Tabelle 5: Vorwiegend konsumierte Lebensmittel während der letzten Tage des Trekkings	51
Tabelle 6: Gesundheitszustand, Krankheitssymptome und konsumierte Medikamente zur Behandlung der Symptome während des Trekkings	52
Tabelle 7: Trekkinggruppe 1 (5 Trekkingtage, kein Ruhetag auf 3450 m): Symptome, Punktezahl und Behandlung von AMS auf verschiedenen Höhen	53
Tabelle 8: Trekkinggruppe 2 (5 Trekkingtage, 1 Ruhetag auf 3450 m): Symptome, Punktezahl und Behandlung von AMS auf verschiedenen Höhen	54
Tabelle 9: Trekkinggruppe 3 (6 Trekkingtage, 1 Ruhetag auf 3450 m): Symptome, Punktezahl und Behandlung von AMS auf verschiedenen Höhen	55
Tabelle 10: Trekkinggruppe 4 (6 Trekkingtage, 2 Ruhetage auf 3450 m): Symptome, Punktezahl und Behandlung von AMS auf verschiedenen Höhen	56
Tabelle 11: Plasma Vitamin C - Gehalt (mg/dl) der Gruppe 1 (placebo)	58
Tabelle 12: Plasma Vitamin E – Gehalt (mg/dl) der Gruppe 1 (placebo)	58
Tabelle 13: Plasma Vitamin C - Gehalt (mg/dl) der Gruppe 2 (supplementiert)	59
Tabelle 14: Plasma Vitamin E – Gehalt (mg/dl) der Gruppe 2 (supplementiert)	59

## Abbildungen

Abb. 1: Diagramm der Trekkinggruppen 1 und 2: Nummer des Trekkingtages und Höhe, auf welcher die entsprechende Nacht verbracht wurde	45
Abb. 2: Diagramm der Trekkinggruppen 3 und 4: Nummer des Trekkingtages und Höhe, auf welcher die entsprechende Nacht verbracht wurde	45
Abb. 3: Durchschnittlicher Plasmagehalt $\pm$ SD an Vitamin C und Vitamin E auf Meereshöhe und großer Höhe (Gruppe 1, placebo); *P < 0.05	60
Abb. 4: Durchschnittlicher Plasmagehalt $\pm$ SD an Vitamin C und Vitamin E auf Meereshöhe und großer Höhe (Gruppe 2, suppl.); **P < 0.01	61

## Abkürzungsverzeichnis

OFR	“Oxygen-derived Free Radicals”	freie Sauerstoffradikale
ROS	“Reactive Oxygen Species”	reaktive Sauerstoffspezies
SOD	Superoxiddismutase	
GPX	Glutathionperoxidase	
CAT	Katalase	
AMS	“Acute Mountain Sickness”	akute Höhenkrankheit
RNS	“Reactive Nitrogen Species”	reaktive Stickstoffspezies
PUFA	mehrfach ungesättigte Fettsäuren	
DNA	Desoxyribonukleinsäure	
TRX	Thioredoxin	
NADH	Nicotinamidadenindinukleotid	
NADPH	Nicotinamidadenindinukleotidphosphat	
FADH	Flavinadenindinukleotid	
GSH	Glutathion	
NAC	N-acetyl Cystein	
ALA	“ $\alpha$ -Lipoic Acid”	$\alpha$ -Liponsäure
ATP	Adenosintriphosphat	
HACE	“High-Altitude Cerebral Edema”	Höhengehirnödem
HAPE	“High-Altitude Pulmonary Edema”	Höhenlungenödem
GSSG	Glutathiondisulfid	
MDA	Malondialdehyd	
DHA	“serum hydrogen donorability”	Wasserstoffspendefähigkeit
mg/d	"mg/day"	mg/Tag



# I. Einleitung und Fragestellung

Alle Tiere und Pflanzen benötigen Sauerstoff ( $O_2$ ) für die effiziente Energieproduktion (über die Elektronentransportketten), wodurch  $O_2$  als Endelektronenempfänger zu Wasser reduziert wird (ungefähr 98 % des  $O_2$ ).

Der Prozess der einwertigen Reduktion von Sauerstoff (ungefähr 2%) produziert als Zwischenprodukte hoch reaktive freie Sauerstoffradikale (ROS). In gewissen Zellen mag der zielgerichtete Einsatz der ROS, produziert von physiologisch kontrollierten Mechanismen, zu unserem Wohlbefinden beitragen (z.B. durch Zerstörung invasiver Mikroorganismen bei normaler Phagozytose oder z.B. durch induzierte Gene). Um die Produktion und das Auftreten der ROS zu kontrollieren, haben die Zellen ein umfassendes System an antioxidativem Schutz gebildet, welcher enzymatische (wie Superoxiddismutase (SOD), Glutathionperoxidase (GPX), Katalase (CAT) und nicht-enzymatische (wie z.B.  $\alpha$ -Tocopherol, Ascorbinsäure,  $\beta$ -Carotin) Antioxidantien umfasst [SEN, 1995]. Unter physiologischen Bedingungen erhalten diese Schutzmechanismen eine geringe stabile Konzentration an freien Radikalen in der Zelle aufrecht, daher sind deren Aktivitäten in engen Grenzen geregelt [MICHIELS et al., 1994].

Eine Überproduktion an ROS oder eine Verringerung der Antioxidantien kann den zellulären Redoxstatus verändern und so den Zustand des "oxidativen Stresses" erzeugen, welcher sich auf ein Ungleichgewicht von pro- und oxidativem Status zugunsten des ersteren bezieht [HALLIWELL, 1994; SEN, 1995].

ROS können praktisch jeden Bestandteil der Zelle schädigen, Proteine, Nukleinsäuren und Fette eingeschlossen. Daraus kann eine Verletzung oder sogar der Tod der Zelle resultieren [WITT et al., 1992; HALLIWELL, 1994].

Dieser Schaden trägt bedeutend zum Altern und zur Entstehung degenerativer Krankheiten wie Krebs, kardiovaskuläre Erkrankungen, Immunsystemverschlechterung, Gehirnfehlfunktionen und Katarakte bei [AMES et al., 1993].

Das bemerkenswerteste Merkmal der Höhe ist, dass der barometrische Druck sinkt, wenn man sich vom Meeresniveau wegbewegt. Diese Druckverminderung impliziert

eine Verminderung des Sauerstoffpartialdruckes ( $PO_2$ ) und der Sauerstoffsättigung des Hämoglobins (Hb), welche vom  $PO_2$  abhängig ist. Weil Hb wichtig für die Verteilung des Sauerstoffs im Körper ist, kann daraus geschlossen werden, dass die letzte Folge der Höhenexposition eine Abnahme der Menge des in den verschiedenen Geweben verteilten Sauerstoffs ist. Diesen Zustand nennt man Hypoxie [SILBERNAGL and DESPOPOULOS, 1991].

Die Biochemie der Zellen und die zellulären Funktionen ändern sich dramatisch unter hypoxischen Bedingungen und deshalb können die Zellen bei niedrigem  $PO_2$  viel empfänglicher für oxidative Schäden sein.

Einer der Faktoren, welcher zur hypoxischen Verletzung beiträgt, könnte ein "reduktiver Stress" sein, bei dem die Konzentration an potentiellen Elektronenspendern erhöht ist (der Mangel an  $O_2$  in seiner Funktion als Elektronenempfänger führt zu einer erhöhten Reduktion aller Elektronenträger der Kette). Die Anhäufung von reduzierenden Äquivalenten kann zu vermehrter Bildung von aktiven Sauerstoffspezies führen, entweder durch direkte Elektronenspende an  $O_2$ , oder durch Redoxcycling (ein Vorgang, bei dem ein niedermolekularer "Mediator" ein Elektron ( $e^-$ ) von einem reduzierten Zellbestandteil annimmt und dieses Elektron überträgt, um  $O_2^-$  (ein freies Radikal) zu bilden) [JONES, 1985].

Es kann angenommen werden, dass die in den verschiedenen Geweben vorhandenen Antioxidantien nicht ausreichen, um mit dem erhöhten Bedarf unter solchen besonderen Bedingungen klarzukommen und den Organismus vor oxidativem Schaden zu schützen.

Die Hypothesen dieser Studie sind folgende:

- auf einer Höhe von 5000 m findet man den Zustand der Gewebe-Hypoxie
- dieser Zustand bedingt ein Herbeiführen und/oder eine Erhöhung des oxidativen Zellstrukturschadens durch Mechanismen von reduktivem und/oder oxidativem Stress
- Die orale Supplementierung mit klassischen Antioxidantien könnten den Organismus vor hypoxischem Schaden schützen
- ROS könnten an der Entwicklung der akuten Höhenkrankheit (AMS) beteiligt sein

Das Ziel der Studie ist es, Marker von antioxidativem Schutz im Plasma von Probanden, welche randomisiert mit oder ohne Antioxidantien supplementiert wurden, vor und nach akuter Exposition an große Höhe zu messen und herauszufinden, ob es einen Zusammenhang zwischen dem Auftreten von AMS und dem Antioxidantienstatus gibt.

## II. Literaturübersicht

### 1. Reaktive Sauerstoffspezies (ROS)

Reaktive Sauerstoffspezies (ROS) und freie Sauerstoffradikale (OFR) sind nicht synonyme Begriffe. ROS präsentieren ein breiteres Spektrum und schließen auch nicht-radikale Sauerstoffderivate wie Hydrogenperoxid ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ), Singulett-Sauerstoff ( $^1\text{O}_2$ ), Hydroperoxide (ROOH), Epoxide, Ozon ( $\text{O}_3$ ) und Hypochlorsäure (HOCl) mit ein [SEN, 1995; HALLIWELL et al., 1992].

#### 1. 1 Definition und Herkunft

Die Elektronen in den Atomen besetzen Raumbereiche, sogenannte Orbitale. In jedem Orbital können sich maximal 2 Elektronen befinden. Ein freies Radikal ist ganz einfach definiert als jede Spezies, welche unabhängig existieren kann (daher der Begriff "frei") und 1 oder 2 ungepaarte Elektronen (das sind Radikale) enthält, wobei ein ungepaartes Elektron als solches anzusehen ist, welches sich alleine in einem Orbital befindet.

Radikale können mit anderen Molekülen auf vielfältige Weise reagieren:

- wenn sich 2 Radikale begegnen, können sich deren ungepaarte Elektronen vereinigen und eine kovalente Bindung bilden ( ein geteiltes Elektronenpaar)
- ein Radikal kann sein ungepaartes Elektron einem anderen Molekül geben
- ein Radikal kann ein Elektron mit gegenläufigem Spin von einem anderen Molekül annehmen, sodass sich ein gepaartes Elektronenpaar bildet
- ein Radikal kann sich mit einem solchen Molekül verbinden.

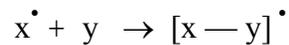
Biologische Moleküle sind normalerweise Nicht-Radikale, welche nur gepaarte Elektronen enthalten, aber wenn ein Radikal sein Elektron einem Molekül abgibt, ein Elektron davon nimmt oder sich einfach einem Nicht-Radikal anfügt, dann wird das Nicht-Radikal zu einem Radikal. Diese Reaktion von freien Radikalen mit Nicht-Radikalen verläuft normalerweise in Form einer Kettenreaktion: ein Radikal erzeugt ein

anderes. Erst wenn zwei Radikale aufeinandertreffen, verschwinden sie. Die meisten freien Radikale sind instabil und äußerst reaktiv [HALLIWELL et al., 1992; FUERST, 1996].

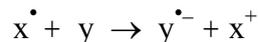
Das ungepaarte Elektron und die radikale Beschaffenheit einer Art werden üblicherweise angezeigt, indem man sie mit einem dicken hochgestellten Punkt darstellt [CHEESEMAN and SLATER, 1993].

Wie Radikale andere Radikale erzeugen: ein elementares Prinzip der chemischen Eigenschaften von freien Radikalen:

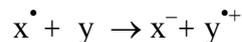
### 1. ADDITION



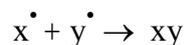
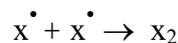
### 2. ELEKTRONENGABE



### 3. ELEKTRONENABGABE



Nur wenn zwei Radikale aufeinandertreffen, können diese Kettenreaktionen beendet werden:



Die Elektronen von Sauerstoff, einem der wichtigsten Moleküle betreffend der Biochemie der freien Radikale, sind so verteilt, dass zwei der Elektronen "ungepaart" sind. Deshalb wird Sauerstoff manchmal als Di-Radikal angesehen, obwohl er kein freies Radikal ist. Die diradikale Beschaffenheit von Sauerstoff ermöglicht es ihm,

schnell mit vielen anderen freien Radikalen zu reagieren, aber grundsätzlich reagiert er relativ langsam mit nicht-radikalen Spezies [CHEESEMAN and SLATER, 1993].

Freie Radikale können auch als Fragmente von Molekülen angesehen werden. Als solche können sie auf drei verschiedene Arten gebildet werden:

- a) durch homolytische Spaltung der kovalenten Bindung eines normalen Moleküls, wobei jedes der Fragmente eines der gepaarten Elektronen behält
- b) von einem normalen Molekül durch Verlust eines einzelnen Elektrons
- c) durch Hinzufügen eines einzelnen Elektrons an ein normales Molekül.

Die Elektronenübertragung ist ein weit häufigerer Prozess in biologischen Systemen als es homolytische Spaltung ist, welche normalerweise hohe Energiezufuhr entweder hohe Temperaturen, UV-Licht oder ionisierende Strahlung benötigt.

Heterolytische Spaltung, bei der die Elektronen der kovalenten Bindung von nur einem Molekülfragment behalten werden, führt nicht zur Bildung von freien Radikalen, sondern von geladenen Ionen.

Freie Radikale können positiv, negativ oder elektrisch neutral geladen sein [CHEESEMAN and SLATER, 1993].

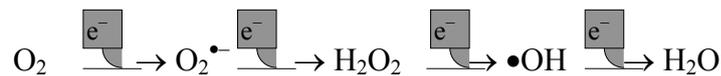
Der Vorgang, durch den freie Radikale und Ionen erzeugt werden, kann folgendermaßen dargestellt werden:

- Radikalbildung durch Elektronenübertragung:  $A + e^- \rightarrow A^{\cdot-}$
- Radikalbildung durch homolytische Spaltung:  $X : Y \rightarrow X^{\cdot} + Y^{\cdot}$
- Ionenbildung durch heterolytische Spaltung:  $X : Y \rightarrow X^- + Y^+$

Freie Radikale und verschiedene reaktive Sauerstoffspezies können entweder von normalen, essentiellen metabolischen Prozessen (endogene Quellen) stammen oder von externen Quellen [FUERST, 1996].

Endogene Quellen von freien Radikalen umfassen jene, welche intrazellulär gebildet werden und auch dort agieren, als auch jene, welche innerhalb der Zelle gebildet und in die unmittelbare Umgebung entlassen werden [MACHLIN and BENDICH, 1987]. Vier endogene Quellen scheinen für die meisten von den Zellen gebildeten Oxidantien verantwortlich zu sein:

- a) als eine Folge der normalen aeroben Atmung verbrauchen die Mitochondrien  $O_2$ , indem sie ihn durch aufeinanderfolgende Schritte reduzieren, um  $H_2O$  zu produzieren. Unvermeidliche Nebenprodukte dieses Vorgangs sind  $O_2^{\bullet-}$  (Superoxid-Radikal),  $H_2O_2$  (Wasserstoffperoxid) und  $OH^{\bullet}$  (Hydroxyl-Radikal). Der Erhalt von teilweise reduzierten Sauerstoffmolekülen ist ungefähr 2%.



- b) phagozytische Zellen zerstören Bakterien oder virusinfizierte Zellen mit einer oxidativen Freisetzung von Stickstoffoxid (NO),  $H_2O_2$  und  $OCl^-$ . Chronische Infektionen mit Viren, Bakterien oder Parasiten führen zu chronischer phagozytischer Aktivität und darausfolgender chronischer Entzündung
- c) Peroxisomen (Organellen, welche Fettsäuren und andere Moleküle abbauen) produzieren  $H_2O_2$  als Nebenprodukt, welches durch Katalase abgebaut wird
- d) Cytochrome P450 in tierischen Lebewesen bilden eines der ersten Verteidigungssysteme gegen toxische Chemikalien in Pflanzen (die Hauptquelle von Nahrungstoxinen). Die Induktion dieser Enzyme verhindert die akute toxische Wirkung fremdartiger Chemikalien, führt aber auch zu oxidativen Nebenprodukten, welche die DNA schädigen [AMES et al., 1993].

Exogene Quellen von freien Radikalen sind Tabakrauch, gewisse Umweltschadstoffe, organische Lösungsmittel, Narkosemittel, Pestizide, Hyperoxid [MACHLIN and BENDICH, 1987], nicht-ionisierende Strahlung (UV und Mikrowelle) und vermutlich hypoxisches Milieu.

## 1. 2 Arten und Bildung

Weil das Sauerstoffmolekül in seiner natürlichen Form zwei ungepaarte, parallel spingerichtete Elektronen besitzt, ist die Reduktion (die Elektronenaufnahme) nicht einfach. Das ist deshalb so, weil nach dem Paul'schen Ausschlussprinzip nicht mehr als zwei Elektronen dasselbe Atomorbital besetzen dürfen, und entgegengerichtete Spins haben müssen. Ein Molekül, welches mit Sauerstoff reagieren möchte, muss ebenfalls

zwei ungepaarte parallel spingerichtete Elektronen haben, mit antiparallelem Spin im Vergleich zu Sauerstoff. Das bedingt eine Einschränkung (die sogenannte *spin restriction*) des Elektronentransfers, welche darauf hindeutet, dass der Sauerstoff seine Elektronen nacheinander aufnimmt [HALLIWELL & GUTTERIDGE, 1990].

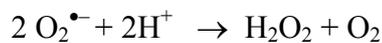
Die Übertragung eines Elektrons auf Sauerstoff bringt das erste Zwischenprodukt hervor, das Superoxid-Radikal ( $O_2^{\bullet-}$ ) [JAESCHKE, 1995]. Es wird von phagozytischen Zellen (Neutrophile, Monozyten, Makrophagen, Eosinophile) produziert und hilft diesen Zellen, Viren und Bakterien zu inaktivieren [HALLIWELL, 1994].

Weiters wird es produziert durch Autoxidation kleiner Moleküle (Thiole, Hydrochinone, Katecholamine, Flavine, Tetrahydropterine) und reduzierter Übergangsmetalle (wie  $Fe^{2+}$ ) [FREEMAN and CRAPO, 1982].

Eine Zweielektronenreduktion von Sauerstoff würde Hydrogenperoxid ( $H_2O_2$ ) ergeben, ein Nicht-Radikal:



Die Dismutation von  $O_2^{\bullet-}$  führt auch zu  $H_2O_2$ :



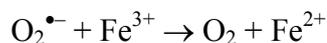
Diese Reaktion erfolgt entweder spontan oder wird katalysiert von SOD [DREHER and JUNOD, 1996; AMES et.al., 1993].

$H_2O_2$  ähnelt in seiner molekularen Struktur dem Wasser ( $H_2O$ ) und ist sehr diffusionsfähig sowohl innerhalb als auch zwischen den Zellen. Sowie aus  $O_2^{\bullet-}$  wird  $H_2O_2$  auch durch die Wirkung mehrerer Oxidasen (wie z. B. Aminosäureoxidasen, Xanthinoxidase) in vivo produziert [HALLIWELL, 1994].

Die hohe Reaktivität von  $H_2O_2$  wird weitgehend durch die Fenton Reaktion erklärt, bei der  $H_2O_2$  mit teilweise reduzierten Metallionen wie  $Fe^{2+}$  oder  $Cu^+$  reagiert, um das Hydroxyl- Radikal  $OH^{\bullet}$  zu bilden:



Diese Reaktion kann durch das Vorhandensein leicht reduzierender Wirkstoffe wie z. B.  $O_2^{\bullet-}$  oder Ascorbinsäure, welche die oxidierten Metallionen recyceln, aufrechterhalten werden [DREHER and JUNOD, 1996]:



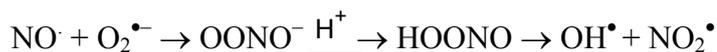
$OH^{\bullet}$  ist eines der reaktivsten freien Radikale. Wegen des großen Energiegewinns, der durch die Reduktion zu Wasser entsteht, wird das Hydroxyl-Radikal unmittelbar mit jedem biologischen Molekül seiner direkten Umgebung durch Entwendung eines Wasserstoffatoms reagieren [JAESCHKE, 1995]:



$OH^{\bullet}$  kann durch Spaltung der OH-Bindungen im Wasser durch Einwirkung ionisierender Strahlung auf lebende Organismen entstehen [HALLIWELL, 1994]:



Es gibt noch einen anderen metallunabhängigen Weg, um Hydroxyl-Radikale zu bilden: Stickstoffmonoxid  $NO^{\bullet}$ , welches durch die enzymatische Umwandlung von L-Arginin zu L-Citrullin mit  $N^{\omega}$ -Hydroxy-L-Arginin als Zwischenprodukt und NADPH als Redox-Cofaktor entsteht [STUEHR et al., 1991], kann mit dem Superoxid-Radikal reagieren und Peroxynitrit ( $OONO^-$ ) bilden, welches nach der Protonierung instabil ist, unmittelbar zerfällt und dadurch das Hydroxyl-Radikal und Stickstoffdioxid bildet [JAESCHKE, 1995]:



Stickstoffmonoxid und die daraus gewonnenen Nebenprodukte werden als reaktive Stickstoffspezies (RNS) bezeichnet [CASTRO and FREEMAN, 2001].

Andere reaktive Sauerstoffspezies, welche von biologischer Relevanz sein können, sind Hypochlorsäure (HOCl) und Singulett-Sauerstoff ( $^1O_2$ ).

Hypochlorsäure wird enzymatisch durch Neutrophile erzeugt und ist ein starkes Oxidationsmittel.

Singulett-Sauerstoff ist eine elektronisch angeregte Form von molekularem Sauerstoff und kann durch die Reaktion von Hypochlorsäure mit Hydrogenperoxid entstehen [JAESCHKE, 1995].

### 1.3 Toxizität

Reaktive Sauerstoffspezies, insbesondere das Hydroxyl Radikal, können mit allen zellulären Makromolekülen reagieren (Fetten, Proteinen, Nukleinsäuren und Kohlenhydraten). Die Anfangsreaktion generiert ein zweites Radikal, welches wiederum mit anderen Molekülen reagieren und so die Kettenreaktion fortsetzen kann. Der Energiegewinn, der durch die neue molekulare Verbindung entsteht, muss größer sein als die Dissoziationsenergie der alten Bindung, das neu geformte Radikal muß stabiler sein als das alte. Eine Konsequenz davon ist, dass sich der Verlauf dieser Kettenreaktion auf gewisse "anfällige" Ziele fokussiert, bei denen es geringe Energie benötigt, die Bindungen aufzubrechen (deshalb haben reaktive Sauerstoffspezies bevorzugte Moleküle, die sie schädigen) [JAESCHKE, 1995].

Sehr anfällige Ziele dafür sind die ungesättigten Bindungen der mehrfach ungesättigten Fettsäuren (PUFA). Der Vorgang der Lipidperoxidation wird gestartet, wenn eine reaktive Sauerstoffspezies genügend Energie besitzt, um ein einzelnes H-Atom aus einer Methylengruppe (-CH<sub>2</sub>) abzuspalten. Das entstandene Fettradikal (Peroxyl-Radikal) ist sehr gefährlich, weil es dazu fähig ist, die Kettenreaktion auszubreiten, indem es mit molekularem Sauerstoff reagiert. Durch Abspaltung eines weiteren H-Atoms entsteht Hydroperoxid, welches zu einer Hydroxyfettsäure reduziert oder in einer Fenton-Reaktion (Fe<sup>2+</sup> wird zu Fe<sup>3+</sup> oxidiert) reaktiv gespalten wird. Dies lässt Aldehyde (z.B. Malondialdehyd, 4-Hydroxynonenal) oder Alkane (wie Ethanol oder n-Pentan) entstehen, welche eine toxische Wirkung auf Zellen haben können [FREEMAN and CRAPO, 1982; SEN, 1995; JAESCHKE, 1995].

Wenn diese Reaktionsketten nicht durch eine Reaktion zweier Radikale miteinander unterbrochen werden, schreiten sie parallel voran und zerstören alle Lipidphasen, vor allem Lipidmembranen, welche viele essentielle ungesättigte Fettsäuren enthalten [JONES, 1985].

Folgen der Lipidperoxidation können reichen von Auswirkungen auf die Membranfluidität und die Aktivität der Membranproteine (Carrier, Rezeptoren) bis hin zur Zerstörung der Zellmembranen mit einem totalen Verlust der Ionenhomöostase [JAESCHKE, 1995].

Proteine sind eine weitere Zielscheibe für reaktiven Sauerstoff und oxidative Schädigung. Es wurden verschiedene Mechanismen identifiziert, durch welche die Struktur und die Funktion der Proteine verändert werden kann. ROS können metallkatalysierte Proteinoxidationen (durch Einbringen der Carbonylgruppen in das Molekül) verursachen. Produkte der Lipidperoxidation (insbesondere Aldehyde) können mit Sulfhydryl- oder Aminogruppen reagieren und sich kovalent mit diesen Aminosäuren verbinden [JAESCHKE, 1995]. Diese Schädigung von schwefelhaltigen Enzymen und anderen Proteinen kann zu einer Inaktivierung des Enzyms, Proteinvernetzungen und Denaturierung führen [MACHLIN and BENDICH, 1987].

Auch Nukleinsäuren können von ROS angegriffen werden. Darauffolgende Schäden der DNA (Addukte der Modifikationen von Basen- und Zuckergruppen, Quervernetzungen zwischen der DNA und anderen Molekülen, Einzel- und Doppelstrangbrüche des DNA "Rückgrats" können Mutationen hervorrufen, die kanzerogen sein können. An die 20 bedeutende DNA-Addukte sind charakterisiert worden. Beweise für eine oxidative Schädigung im Laufe der experimentellen Karzinogenese häufen sich (unter anderen bei Magenkrebs, Lungenkrebs und Leukämie).

Provokativ gesagt besteht eine starke Korrelation zwischen einer hohen Zufuhr von Obst und Gemüse (der Hauptquelle für Nahrungsantioxidantien) und einer sehr starken Reduktion des Krebsrisikos [JAESCHKE, 1995; MACHLIN and BENDICH, 1987; CASTRO and FREEMAN, 2001].

Oxidativer Schaden an Kohlenhydraten kann jede der zellulären Rezeptorfunktionen, einschließlich jener, welche mit den hormonellen und Neurotransmitter-Antworten verknüpft sind, beeinträchtigen [MACHLIN and BENDICH, 1987].

## **1. 4 Abwehrmechanismen**

Wegen des schwerwiegenden schädigenden Potentials der ROS, sind Zellen auf ausgefeilte Abwehrmechanismen angewiesen, um diese toxischen Zwischenprodukte schnell metabolisieren und eine Verletzung durch freie Radikale bedeutsam verhindern zu können. Diese Abwehrmechanismen sind bekannt als antioxidatives Abwehrsystem, welches die Bildung freier Radikale verhindert (primäres Abwehrsystem), alle gebildeten Radikale abfängt (sekundäres Abwehrsystem) oder den durch freie Radikale entstandenen Schaden repariert (tertiäres Abwehrsystem) [CHEESEMAN and SLATER, 1993; RAUTALAHTI and HUTTUNEN, 1994]. Unter physiologischen Bedingungen erhalten diese Abwehrmechanismen eine niedrige stabile Konzentration an freien Radikalen in der Zelle und ihre Aktivitäten sind sehr genau geregelt [MICHIELIS et al., 1994].

## **2. Antioxidantien**

### **2. 1 Definition**

Ein Antioxidans kann definiert werden als "jede Substanz, die, wenn sie in geringen Konzentrationen, verglichen mit denen eines oxidierbaren Substrats, vorliegt, die Oxidation dieses Substrats signifikant verzögert oder verhindert" [HALLIWELL and GUTTERIDGE, 1990].

Eine andere mögliche Definition von Antioxidantien ist die folgende: "Verbindungen, welche die biologischen Systeme vor den potenziell schädlichen Auswirkungen von Prozessen oder Reaktionen, welche exzessive Oxidationen verursachen können, schützen" [KRINSKY, 1992].

Kurz gesagt können Antioxidantien als Substanzen betrachtet werden, die radikale Prozesse blockieren; und als solche sind sie blind für den Unterschied zwischen

Radikalen, welche eine physiologische Rolle spielen und jenen, die Schaden verursachen [RAUTALAHTI and HUTTUNEN, 1994].

## 2. 2 Arten

Es gibt verschiedene Möglichkeiten, Antioxidantien zu klassifizieren. Sie können unterteilt werden in intra- und extrazellulär, enzymatisch und nichtenzymatisch, exo- und endogen und fett- und wasserlöslich [RAUTALAHTI and HUTTUNEN, 1994].

### 2.2.1 Enzymatische Antioxidantien

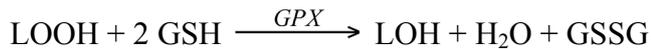
Die enzymatische Verteidigung inkludiert Superoxiddismutase (SOD), Glutathionperoxidase (GPX), Katalase (CAT), Thioredoxin (TRX) [NAKAMURA et al., 1997] und zelluläre Enzymsysteme, welche eine NADH-, NADPH- und FADH - abhängige reduzierende Umgebung aufrechterhalten (wie Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase) [CASTRO and FREEMAN, 2001].

Sie sind charakterisiert durch einen Gehalt an hoher zellulärer Aktivität, durch spezifische Organ- und Subzellularlokalisierungen und durch eine spezifische Form des Metalleinschlusses bei der Katalyse mit Kupfer, Zink, Mangan, und Eisen (häm) [SIES, 1985].

Superoxiddismutasen (SOD) sind eine Familie von antioxidative Enzymen, welche den Abbau von  $O_2^{\bullet-}$  zu  $H_2O_2$  und  $O_2$  katalysieren:



Glutathionperoxidasen (GPX) enthalten Selen (Se) und reduzieren Hydroperoxide, welche bei der Lipidoxidation entstehen, und  $H_2O_2$ , mit reduziertem Glutathion (GHS) als Elektronenspender:



Katalase katalysiert insbesondere die Zersetzung von  $\text{H}_2\text{O}_2$ ; in ihrem aktiven Zentrum enthält es ein Häm, welches für die katalytische Aktivität verantwortlich ist:



Thioredoxin (TRX) ist ein multifunktionelles Selenoprotein mit einem redox-aktiven Disulfid, Dithiol im aktiven Zentrum; es wirkt gemeinsam mit NADPH und Thioreoxin-Reduktase als ein allgemeines Protein-Disulfid-Reduktionssystem. TRX spielt eine wichtige Rolle in der Erhaltung des Redox-Milieus der Zelle [NAKAMURA et al., 1997; TAMURA and STADTMAN, 1996].

Das Thioredoxin-System katalysiert die Reduktion von Selenverbindungen und kann als Wasserstoffspendersystem für die Selenoprotein-Plasma-GPX oder als eine Lipidhydroperoxid-Reduktase fungieren [ARNÉR and HOLMGREN, 2000; ZHONG et al., 2000].

### 2. 2. 2 Endogene nicht-enzymatische Antioxidantien

Nicht-enzymatische Antioxidantien bieten die primäre Verteidigung vor extra- und intrazellulären OFR. Sie umschließen eine Vielzahl von lipophilen (Bilirubin und Coenzym Q10) und hydrophilen Molekülen (GSH, Harnsäure) [CASTRO and FREEMAN, 2001] oder Proteinbestandteilen (Sylfhydrylgruppen an Cystein, wie N-Acetylcystein NAC, oder Sulfhydrylgruppen an Lysin, wie  $\alpha$ -Liponsäure ALA), die als freie Radikalfänger fungieren.

Coenzym Q10 spielt in den Mitochondrien eine wichtige Rolle als Elektronen- und Protonenüberträger. Q10 kommt dabei sowohl in der oxidierten als auch in der

reduzierten Form vor, Ubichinon und Ubichinol. Deshalb spielt Q10 auch als fettlösliches Antioxidans eine Rolle. Der andere Antioxidantien schonende wie auch der direkt antioxidative Effekt von Vitamin E werden von [OVERVAD et al., 1999] beschrieben.

GSH reagiert auf verschiedenen Ebenen der antioxidativen Verteidigung: (1) als ein Radikalfänger von freien Radikalen, (2) als Substrat für das antioxidative Enzym GPX und (3) bei der direkten Reparatur oxidativer DNA-Schäden.

Die Harnsäure, eine Purinbase, wirkt zweifach: (1) sie ist Substrat und Radikalfänger der OFR (Hydroxylradikale und Peroxonitrite) und (2) verhindert bei der Fenton Reaktion die Bildung von OFR durch Komplexbildung der Eisenionen [DREHER und JUNOD, 1996; HOOPER et al., 1998].

NAC und ALA können ROS einfangen, die Glutathion-Level erhöhen, sich einer Autooxidation unterziehen (und dabei  $H_2O_2$  produzieren), als ein Reduktionsmittel dienen und molekulare Reaktionen, welche an der Entwicklung pathogener Erkrankungen beteiligt sind, vorteilhaft modulieren [SEN et al., 1997; ROY and PACKER, 1997; SEN 1998; ZAFARULLAH et al., 2003; LIU et al., 2010].

### **2. 2. 3 Exogene nicht-enzymatische Antioxidantien**

Die exogenen nicht-enzymatischen Antioxidantien beinhalten  $\alpha$ -Tocopherol (Vitamin E), Carotinoide (z. B.  $\beta$ -Carotin), Ascorbinsäure (Vitamin C) [DREHER und JUNOD, 1996] und Polyphenole (wie chlorierte Säuren, Kaffeesäure, p-Cumarinsäure, Ferulasäure und Flavonoide (Isorhamnetin, Quercetin, Myricetin, Kampferol and deren glycosidische Derivate) [DHAR et al., 2012].

Carotinoide sind natürliche Pigmente, die von Pflanzen und Mikroorganismen synthetisiert werden, jedoch nicht von Tieren.

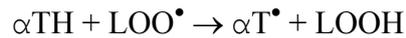
Die antioxidativen Wirkungen der Carotinoide basieren auf deren Eigenschaften, Singulett-Sauerstoff zu inaktivieren und ihrer Fähigkeit, Peroxyl Radikale zu fangen. Die bestdokumentierte Aktion der Carotinoide ist ihre Fähigkeit, Singulett-Sauerstoff zu inaktivieren. Dies resultiert in einem angeregten Carotinoid, das die Fähigkeit hat, die neuerworbene Energie durch eine Serie von Dreh- und Schwingungsinteraktionen mit dem Lösungsmittel zu verbrauchen und so das ursprüngliche nicht angeregte Carotinoid zu regenerieren, das wieder verwendet werden kann für weitere Zyklen von Singulett-Sauerstoff-Inaktivierung.

$\beta$ -Carotin ist ein Peroxyl-Radikal-Fänger, besonders bei niedrigem Sauerstoffdruck. Die Wechselwirkung von Carotinoiden mit Peroxyl-Radikalen kann über ein instabiles  $\beta$ -Carotin-Radikal-Addukt vor sich gehen, welches als relativ unreaktiv gilt. Weiters können sie zerfallen, um nicht-radikale Produkte zu generieren und Radikalreaktionen durch Bindung an die angreifenden freien Radikale zu beenden [PAIVA and RUSSELL, 1999].

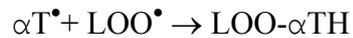
Quercetin ist ein aktiver Bestandteil von Sanddorn und ein Hauptbestandteil des Nahrungsergänzungsmittels Ginkgo Biloba. Es hat einen protektiven Effekt auf die Lipoprotein-Oxidation, kann freie Radikale abfangen und dem Verbrauch von lipophilem  $\alpha$ -Tocopherol vorbeugen [MORAND et al., 1998; ZHOU et al., 2012].

### **2. 2. 3. 1 Vitamin E**

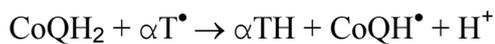
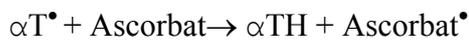
Der Begriff Vitamin E ist ein kombinierter Name für verschiedene Tocopherole und Tocotrienole, die eine ähnliche biologische Aktivität haben.  $\alpha$ -Tocopherol, das Haupt-Antioxidans in Zellmembranen, ist ein sogenanntes kettenbrechendes Antioxidans und befindet sich in biologischen Membranen und in Lipoproteinpartikeln. Gebunden an die hydrophobische Struktur von  $\alpha$ -Tocopherol ist eine OH-Gruppe, deren Wasserstoff (H) sehr einfach zu entfernen ist. Peroxyl-Radikale, die während der Lipidperoxidation entstehen, entziehen dem Tocopherolmolekül den Wasserstoff (H):



Das Tocopherol- Radikal ist wenig reaktiv und daher fähig, benachbarte Fettsäureketten anzugreifen, so dass die Kettenreaktion beendet wird:



Es wird allgemein angenommen, dass das Tocopherol-Radikal zur Membranoberfläche wandern und wieder zu  $\alpha$ -Tocopherol zurückgewandelt werden kann durch die Reaktion mit Ascorbinsäure und/oder mit Ubiquinol (reduziertes Coenzym Q) [FÜRST, 1995; HALLIWELL, 1994; GHISELLI et al., 2000]:



Durch seine stabilisierende Wirkung auf verschiedene Komponenten der Atmungskette, trägt Vitamin E zur Produktion von aerober Energie bei [SIMON-SCHNASS, 1992].

### 2. 2. 3. 2 Vitamin C

Ascorbinsäure, das wasserlösliche Vitamin C, ist das wichtigste Antioxidans in extrazellulären Flüssigkeiten. Seine Rolle als Antioxidans basiert auf der Reaktion mit wässrigen Peroxyl-Radikalen und anderen Sauerstoffradikalen, wodurch Ascorbyl-Radikale entstehen. Somit ist Vitamin C selbst ein Antioxidans, kann aber auch als ein Co-Antioxidans durch Interaktion mit Vitamin E agieren [FÜRST, 1995; HALLIWELL, 1994], indem es die oxidierte Form von Vitamin E (Tocopherol-Radikal) wieder zur Originalform zurückreduziert [BAILEY 2004].

Die oxidierte Form des Vitamins (Dehydroascorbinsäure) kann leicht durch reduziertes Glutathion, durch NADPH, oder durch beides zur reduzierten Form zurückverwandelt werden [JACOB and BURRI, 1996; GHISELLI et al., 2000].

Die antioxidative Verteidigungsmaschinerie ist organisiert als ein Netzwerk und operiert in einer ganzheitlichen Form. Daher kann der Ausfall von irgendeiner Komponente des Netzwerks die Funktion eines anderen Teils beeinflussen. Vitamin C-Mangel kann die antioxidative Aktivität von Vitamin E, des Hauptfängers von freien Radikalen im Lipidmilieu (wie in den Lipidmembranen der Erythrozyten), beeinflussen [VIJ et al., 2005].

### **3. Oxidativer Stress, Reduktiver Stress, Redoxcycling**

#### **3. 1 Oxidativer Stress**

Oxidativer Stress kann definiert werden als ein Zustand des Ungleichgewichtes zwischen Pro-oxidantien and Antioxidantien [FÜRST, 1995] zugunsten der ersteren oder als Zustand oxidativer Schädigung, resultierend aus diesem Ungleichgewicht [ROCK et al., 1996]. Pro-oxidantien umfassen alle Faktoren, die eine aktive Rolle in der verstärkten Bildung von freien Radikalen oder anderen reaktiven Sauerstoffspezies spielen. In dieser Hinsicht können sowohl zelluläre Mechanismen (Defekte in der mitochondrialen Atmung, spezifische Enzyme) als auch exogene Mechanismen (Rauchen, mehrfach ungesättigte Fettsäuren, Luftverschmutzung, Medikamente etc.) beitragen [FÜRST, 1995].

Oxidativer Stress führt zu schädlichen biochemischen Reaktionen und ist ein wichtiger beitragender Faktor für verschiedene chronische Krankheiten, wie Atherosklerose und damit zusammenhängende vaskuläre Erkrankungen, Mutagenese und Krebs, Neurodegeneration, immunologische Funktionsstörungen und sogar dem Alterungsprozess [CASTRO and FREEMAN, 2001].

### 3. 2 Reduktiver Stress

„Reduktiver Stress“ tritt auf, wenn die Konzentration potentieller Elektronendonatoren erhöht ist. Dies kann die Folge von hypoxischen Zuständen sein: im Normalfall wird Sauerstoff ( $O_2$ ) reduziert, wenn jedoch ein Mangel an  $O_2$  besteht, kommt es statt dessen zu einer erhöhten Reduktion aller Elektronen-Carrier in der elektronenübertragenden Kette und zu einer Anhäufung von Reduktionsäquivalenten. Diese Anhäufung kann zu einer vermehrten Bildung von reaktiven Sauerstoffspezies führen.

Chemische Verbindungen, die durch Reduktion aktiviert werden, wie etwa Halothan oder Tetrachlorkohlenstoff, erhalten aufgrund der vermehrten metabolischen Aktivierung eine erhöhte Toxizität [JONES, 1985].

### 3. 3 Redoxcycling

Redoxcycling kann bei Verbindungen auftreten, welche dazu fähig sind, ein einzelnes Elektron reversibel von einem physiologischen Bestandteil der Elektronentransportkette auf Sauerstoff ( $O_2$ ) zu übertragen und dabei Superoxid zu bilden. Die Bildung dieser Elektronendonator-Spezies kann durch eine Ein-Elektronen-Reduktion oder eine Ein-Elektronen-Oxidation von Fremdstoffen (Xenobiotika) erfolgen.

Die Bildung von  $O_2^{\bullet-}$  durch Redoxcycling folgt einem anderen Mechanismus als die direkte Ein-Elektronen-Reduktion von  $O_2$  durch Oxidasen und Dehydrogenasen, denn für das Redoxcycling ist die Bildung einer leicht autooxidierbaren Verbindung, welche mit  $O_2$  reagiert, um  $O_2^{\bullet}$  zu bilden, erforderlich. Die Bildung oxidierbarer Verbindungen kann durch Hypoxie und die damit verbundene vermehrte Reduktion von Bestandteilen der Elektronentransportkette stimuliert werden.

Der Vorgang des Redoxcyclings kann durch Bedingungen, unter welchen sowohl eine verhältnismäßig hohe Konzentration an Reduktionsmitteln als auch eine ausreichende  $O_2$ -Konzentration vorliegen, optimiert werden [JONES, 1985].

## **4. Physiologische und molekulare Adaptationen an große Höhe**

Wenn die Meereshöhe ansteigt, fällt der Luftdruck. Dieser Luftdruckabfall verursacht einen korrespondierenden Abfall im Sauerstoffpartialdruck (21% des Luftdrucks), was zu hypobarischer Hypoxie führt [IMRAY et al., 2010].

Um eine normale Sauerstoffversorgung der verschiedenen Gewebe während der Höhenexposition (ein Modell für Hypoxie bei Menschen) aufrecht zu erhalten, agieren viele kurz- und langfristige Kompensationsmechanismen im Körper [ROCHE and ROMERO-ALVIRA, 1994].

Die normalen physiologischen Sauerstoffkonzentrationen in den Geweben sind im Bereich von 20-120  $\mu\text{M}$   $\text{O}_2$  (die mittleren  $\text{O}_2$ -Konzentrationen für die verschiedenen Gewebe liegen bei 28-42  $\mu\text{M}$ ). Kein einzelner Wert kann die  $\text{O}_2$ -Konzentration ausdrücken, denn der  $\text{O}_2$ -Verbrauch des Gewebes führt zu einer Abnahme als Funktion des Abstands von den Kapillaren. Während der Hypoxie sind die  $\text{O}_2$ -Konzentrationen niedriger, aber da in allen Geweben eine  $\text{O}_2$ -Konzentrationsverteilung vorliegt, kann kein Wert ausreichend dazu dienen, eine hypoxische Zelle von einer normoxischen Zelle zu unterscheiden [JONES, 1985].

### **4.1 Physiologische Adaptationen**

Das Atmungssystem ist die erste Linie der Verteidigung gegen Hypoxie [COGO et al., 1997] und der wichtigste adaptive Parameter während des Aufstiegs in große Höhe [MONGE and LEÓN-VELARDE, 1991]:

- Anstieg der pulmonalen Hypertonie: der niedrige Sauerstoffpartikeldruck ( $\text{PO}_2$ ) verursacht eine Verengung der Pulmonararterien und erhöht dadurch den pulmonaren arteriellen Druck. Die Stimulation der peripheren Chemorezeptoren verursacht einen autonomen Anstieg der Atemfrequenz (Atemminutenvolumen), um die richtige alveoläre Ventilation zu erreichen [ROCHE and ROMERO-ALVIRA, 1994;

SCHOENE, 2001]. Die Hyperventilation in großer Höhe ist nicht nur bedingt durch den Anstieg der Atemfrequenz, sondern auch durch den Anstieg des Atemzugvolumens [BASU et al., 1996].

- Blutalkalose: Die Hyperventilation bedingt einen Ausstoß großer Mengen an  $\text{CO}_2$ , was den arteriellen Kohlendioxid-Partialdruck ( $\text{PaCO}_2$ ) im Blut (Hypocapnie) reduziert und den arteriellen pH-Wert erhöht (respiratorische Alkalose). Anschließend tendiert der pH-Wert, als eine Folge des  $\text{HCO}_3^-$ -Verlustes durch die Niere, zu den Normalwerten zurückzukehren, wohingegen die Antwort der Chemorezeptoren unverändert bleibt [SAMAJA, 1997].

Kreislaufreaktionen bei Hypoxie:

- Anstieg der Herzleistung: die Stimulation der  $\text{O}_2$ -Chemorezeptoren führt zu einem Anstieg der Herzfrequenz und des Herzschlagvolumens, um das Defizit an Sauerstoff zu kompensieren [SILBERNAGL and DESPOPOULOS, 1991]
- Anstieg der Gewebekapillarität [SAMAJA, 1997].

Hämatologische Anpassungen an die Hypoxie:

- Vermehrte Produktion des Hormons Erythropoietin und eine anschließende Stimulierung der Produktion von Erythrozyten, was die Menge an zirkulierenden Erythrozyten und den Anteil der jungen (weniger dichten) Erythrozyten vermehrt. Dies vergrößert die Sauerstofftransportkapazität und wirkt dem Abfall des arteriellen Sauerstoffgehaltes entgegen, und zwar durch die reduzierte arterielle  $\text{O}_2$ -Sättigung des Hämoglobins ( $\text{SaO}_2$ ) [MAIRBAEURL et al., 1990; MAIRBAEURL, 1994]
- Anstieg der Konzentration von 2,3-Diphosphoglyzerat (DPG) in den Erythrozyten, einem Bestandteil, der an das Hämoglobin (Hb) bindet und so die Hb- $\text{O}_2$ -Affinität senkt, was in weiterer Folge die Sauerstoffabgabe vom Blut an das Gewebe erleichtert [SAMAJA, 1997].
- Daten berichten sehr oft von deutlich angestiegenen Hb- und Hämatokrit (Ht)-Werten im Blut, um die Sauerstofftransportkapazität zu erhöhen, aber bei einer kurzfristigen Höhenexposition (von bis zu ungefähr einer Woche) sind die angestiegenen Werte eine Folge des reduzierten Plasmavolumens. Außerdem könnte

ein zu hoher Anstieg des Hämatokrits schädlich für die O<sub>2</sub>-Versorgung des Gewebes sein, weil es die Plasmaviskosität vergrößert und dadurch die Mikrozirkulation vermindert [MAIRBAEURL, 1994].

Metabolische Veränderungen:

- Anstieg des Glukosestoffwechsels: Anstieg der Plasmakonzentrationen an Glukose und Insulin während der Höhenexposition treten als eine Folge einer vorübergehenden peripheren Insulinresistenz auf [LARSEN et al., 1997].
- Anstieg des Myoglobingehalts (kurzzeitige Speicherung von Sauerstoff im Muskel), um die Verteilung von Sauerstoff im Gewebe zu erleichtern [ROCHE und ROMERO-ALVIRA, 1994].
- Reduktion der Muskelmasse: der in der Höhe beobachtete Muskelverlust scheint aus einer Abnahme der Muskelfasergröße zu resultieren, was eine nützliche Anpassung an die Höhe sein könnte, da es die Sauerstoffdiffusions-Distanz von den Kapillaren zu den Mitochondrien senkt [KAYSER, 1992].
- spontaner Wechsel zu einer kohlenhydratreichen Ernährung: dies könnte günstig sein, da es den metabolischen Respirationsquotienten und daher die Energieausbeute pro Mol konsumierten Sauerstoffs erhöht [KAYSER, 1992].
- negative Flüssigkeitsbilanz durch Diurese und Natriurese, bedingt durch die Stimulation der peripheren Chemorezeptoren [WESTERTERP et al., 1996; SWENSON et al., 1995; HILDEBRANDT et al., 2000; LOEPPKY et al., 2005; VALLI et al., 2008]. Eine andere mögliche Erklärung für die negative Flüssigkeitsbilanz ist der Anstieg des respiratorischen Wasserverlustes durch die erhöhte Lungenventilation und geringere Luftfeuchtigkeit in großer Höhe [WESTERTERP et al., 1996].
- Plasmaverlust, der mit vaskulärem Proteinverlust einhergeht [SAWKA et al., 1996]

## 4.2 Molekulare Adaptationen

Trotz der gut dokumentierten physiologischen Veränderungen, die bei der Adaptation an große Höhe vor sich gehen, ist auf molekularer Ebene verhältnismäßig wenig bekannt.

Auf der zellulären Ebene vergrößert die Hypoxie die Anaerobiose, begleitet von einer schnellen Hydrolyse von intrazellulären Energiequellen (Kreatinphosphat und ATP). Die Hydrolyse von ATP produziert Stoffe wie inorganische Phosphate, Adenosin, Inosin, Xanthin und Hypoxanthin, die fähig sind, die Zellmembran zu passieren und im Blut zu erscheinen. Deshalb sind Inosin, Xanthin und Hypoxanthin als frühe Marker von hypoxischen Bedingungen in Blut und Herz anzusehen [ROCHE and ROMERO-ALVIRA, 1994].

Hypoxie erhöht die Plasmakonzentrationen an vasoaktiven Eikosanoiden (Prostaglandin, Thromboxan, Leukotriene), welche an den hypoxischen pulmonaren Gefäßverengungen beteiligt sind und die Kapillardurchlässigkeit erhöhen (was das Ausströmen in den interstitiellen Raum begünstigt) [RICHALET et al., 1991].

Ein längerer Aufenthalt in extremer Höhe führt zu einem Aktivitätsverlust von Succinaten und Lactatdehydrogenase, welche indirekt an der Energieproduktion beteiligt sind [SIMON-SCHNASS und PABST, 1988].

## 5. Höhenkrankheit

Der Begriff Höhenkrankheit umfasst drei einzigartige zerebrale und pulmonare Krankheiten, welche innerhalb von Stunden bis Tagen in großer Höhe als eine Folge der akuten Exposition an hypobarische Hypoxie auftreten: akute Höhenkrankheit (AMS, von engl. Acute Mountain Sickness), Höhenhirnödem (HACE, von engl. High Altitude

Pulmonar Edema) und Höhenlungenödem (HAPE, engl. High Altitude Pulmonary Edema) [GALLAGHER und HACKETT, 2004].

Die Pathophysiologie dieser Syndrome wird nicht vollständig verstanden, obwohl Studien grundlegend zum derzeitigen Verständnis verschiedener Bereiche beigetragen haben [BASNYAT und MURDOCH, 2003].

## **5. 1 Akute Höhenkrankheit (AMS)**

Trotz adaptiver Veränderungen können Menschen in großer Höhe Gewebsschäden und funktionelle Störungen, bekannt als Höhenkrankheit, erleben. Diese ist charakterisiert durch Kopfschmerzen (das primäre Symptom von AMS), Übelkeit, Anorexie, Erbrechen, Schwindelgefühl, Erschöpfung, Atemnot, Schlafstörungen, Sehstörungen, schnellen Herzschlag und in akuterer Fällen durch den Verlust des Bewusstseins [ROCHE und ROMERO-ALVIRA, 1994; BASU et al., 1996].

Ein gemeinsames Merkmal von akuter Höhenkrankheit ist ein rascher Aufstieg eigentlich gesunder Menschen auf über 3000 m Meereshöhe ohne genügend Zeit zur Akklimatisierung [HACKETT und ROACH, 2001].

Die Inzidenz und die Schwere der AMS hängen von der Geschwindigkeit und Art des Aufstiegs und von der erreichten Höhe ab, der Verweildauer in der Höhe, dem Ausmaß der physischen Anstrengung, der individuellen Anfälligkeit und der Schlafdauer in großer Höhe (wegen der Schlafdesaturierung) [BURGESS et al., 2004; IMRAY et al., 2010].

Bei Frauen, übergewichtigen Personen, älteren Menschen und solchen mit Lungenkrankheiten kommt AMS etwas häufiger vor [IMRAY et al., 2010; BASNYAT et al., 2000; RI-LI et al., 2003; LANFRANCHI et al.2005].

Körperliche Fitness schützt nicht vor der Höhenkrankheit [HACKETT and ROACH, 2001; IMRAY et al., 2010].

Körperliche Aktivität in den ersten Stunden der Höhenexposition resultiert in einem deutlichen Anstieg der Inzidenz und Schwere der AMS [ROACH et al., 2000].

Ein Anstieg der Kapillarpermeabilität, was das Ergebnis einer entzündlichen Reaktion und/oder einer durch freie Radikale vermittelte Schädigung der Lunge sein könnte, scheint ein möglicher pathogener Cofaktor für die Entwicklung der AMS zu sein, aber die Daten konnten diese Ansicht nicht bestätigen. Eine veränderte pulmonare Hämodynamik ist der primäre Faktor, der an der Pathogenese von AMS beteiligt ist [KLEGER et al., 1996].

Menschen, die AMS entwickeln, reduzieren die Energie- und Wasseraufnahme (eng miteinander verbunden), weil Übelkeit und Anorexie klinische Symptome von AMS sind. Der Anstieg von totalem Körperwasser (TBW engl. total body water) ist begleitet von einer Reduktion des totalen Wasserverlusts (diese Menschen zeigen keine größere Urinausscheidung, was ja ein Anpassungsmechanismus in großer Höhe ist, sie behalten Flüssigkeit zurück, der fäkale Wasserverlust und der Wasserverlust durch Verdunstung sind ebenfalls vermindert). Menschen, die an AMS leiden, zeigen eine Flüssigkeitsverschiebung von mindestens 1 Liter vom intrazellulären zum extrazellulären oder vom extrazellulären zum intrazellulären Kompartiment mit einem relativem Gewinn oder Verlust von extrazellulärem Wasser (EZW) [WESTERTERP et al., 1996].

Es ist möglich, dass eine erhöhte sympathoadrenale Reaktion auf die Hypoxie bei der Pathogenese von AMS beteiligt ist (sowohl arterielles als auch venöses Epinephrin und Norepinephrin korrelierten positiv mit den AMS-Wertepunkten). Die angestiegene Sympathikusaktivität kann den mittleren arteriellen Druck, den zentralen Perfusionsdruck, den renalen sympathischen Tonus und deshalb auch die Antinatriurese erhöhen, welche allesamt zu einem zerebralen Ödem beitragen, von dem angenommen wird, dass es eine Ursache für AMS ist [KAMIMORI et al., 2009].

Es ist klar, dass das Gehirnvolumen beim Menschen zunimmt, wenn er Hypoxie ausgesetzt ist. Es ist aber weniger sicher, ob dieser Anstieg des Gehirnvolumens eine Rolle bei der AMS spielt [IMRAY et al., 2010; ROACH und HACKETT, 2001].

Da es die wichtigste Wirkung eines Medikaments (wie z.B. Acetazolamid) zur Bekämpfung der Auswirkungen der AMS ist, den arteriellen pH-Wert zu senken (durch Hemmung des Enzyms Carboanhydrase), kann angenommen werden, dass mit der Höhe in Verbindung stehende Krankheiten sich aus der Alkalose ergeben. Die Tatsache, dass die respiratorische Alkalose bei Menschen, die AMS entwickeln, fast unkompensiert ist, unterstützt diese Annahme [SAMAJA, 1997].

Einige der klassischen Therapien, die bei der Behandlung von AMS angewendet werden, wie die Verabreichung von Antioxidantien, Corticosteroiden und Mannitol, legen nahe, dass freie Sauerstoffradikale an dieser Pathologie beteiligt sein könnten [ROCHE und ROMERO-ALVIRA, 1994].

Es gibt widersprüchliche Aussagen über die Wirksamkeit von *Gingko biloba* (was überschüssige freie Radikale abfangen kann) in der Vorbeugung von AMS mit einigen Studien, die einen Nutzen zeigen [RONCIN et al., 1996; GERTSCH et al., 2002; LEADBETTER et al., 2009] und andere Versuche, die zeigen, dass es nicht wirksam war im Vergleich zu Acetazolamid und Placebo [CHOW et al., 2005; GERTSCH et al., 2004]. Diese verschiedenen Resultate könnten bedingt sein durch die komplexe Natur und Variabilität von *Gingko biloba* und die unterschiedlich lange Dauer der Vorbehandlung vor dem Aufstieg auf die große Höhe [TISSOT VAN PATOT et al., 2009].

Supplementierung mit Antioxidantien (1000 mg l-Ascorbinsäure, 400 IU dl- $\alpha$ -Tocopherolacetat und 600 mg  $\alpha$ -Liponsäure in einem randomisierten doppel-blind placebo-kontrollierten Versuch mit 18 Teilnehmern) senkte die Schwere von AMS in einer Studie [BAILEY und DAVIES, 2001], während eine andere Studie (mit derselben Kombination von Antioxidantien in einem randomisierten doppel-blind placebo-kontrolliertem Versuch mit 103 Teilnehmern) keinen Unterschied in der AMS-Inzidenz

oder Schwere zwischen der Behandlungs- und Placebogruppe zu irgendeiner Zeit in großer Höhe zeigte [BAILLIE et al., 2009]. Diese Diskrepanz könnte bedingt sein durch den unterschiedlichen Behandlungsbeginn, die unterschiedliche Aufstiegszeit und die unterschiedliche körperliche Anstrengung.

Da der Anstieg von antioxidativen Systemen ein adaptiver Mechanismus unter hypoxischen Bedingungen ist, kann vermutet werden, dass beobachtete Probleme bei ungenügender Anpassung an große Höhe (Höhenkrankheit) teilweise mit einem unzulänglichen Gehalt an antioxidativen Systemen und mit der Beteiligung von reaktiven Sauerstoffspezies bei der Entstehung dieser Pathologie zusammenhängen [ROCHE und ROMERO-ALVIRA, 1994; BAILEY et al., 2000]. Jedoch bleibt zu klären, ob freie Radikale die Ursache oder lediglich eine Folge der Krankheitspathologie sind. Nach [BAILEY et al., 2004] gab es keine molekulare Evidenz für Lipidperoxidation oder neuronale Schädigung bei der AMS. Diese Befunde sind die ersten, die OFR-vermittelte neuronale Schädigung und Entzündung als auslösende Ereignisse, entscheidend für die Entwicklung von AMS, ausschließen. Jedoch ist ein direkterer und speziellerer analytischer Ansatz gerechtfertigt, bevor ORF-vermittelte zerebrovaskuläre Schädigung als ein wichtiger pathophysiologischer Mechanismus eindeutig ausgeschlossen werden kann.

Die Verhütung der Höhenkrankheit durch langsamen Aufstieg ist der beste Ansatz, aber das ist nicht immer praktikabel [HACKETT and ROACH, 2001].

Beim populären Everest-Trekking sind die Empfehlungen, beim Aufstieg von ca. 3000 m (Start- und Landebahn in Lukla) auf 4300 m (medizinische Hilfsstation in Pheriche) mindestens 4 Nächte zu verbringen nicht mehr als 300 oder 400 m oberhalb der letzten Schlafplatzhöhe zu schlafen. Es wurde berechnet, dass für jede Nacht, die zwischen 3000 m und 4300 m verbracht wird, das Risiko der AMS um 19% sinkt [BASNYAT et al., 2000].

Abstieg und zusätzlicher Sauerstoff sind die Behandlungen der Wahl, und für eine schwere Erkrankung ermöglicht diese Kombination die optimale Therapie. Ein Abstieg von nur 500 bis 1000 m führt meist zur Beseitigung der akuten Höhenkrankheit [HACKETT and ROACH, 2001].

## **5.2 Höhenhirnödem (HACE)**

Ein Höhenhirnödem (HACE) tritt bei Personen auf, welche innerhalb kurzer Zeit in große Höhen vorgestoßen sind, üblicherweise in Kombination mit akuter Höhenkrankheit oder einem Höhenlungenödem. Es ist durch Bewusstseinstörungen bis hin zu Koma, psychiatrische Symptome unterschiedlichen Schweregrades, Verwirrtheit und Bewegungsstörungen (Gangataxie) gekennzeichnet.

Die meisten Experten betrachten das Höhenhirnödem als eine Weiterentwicklung der akuten Höhenkrankheit, die Unterscheidung zwischen einem Höhenhirnödem und einer fortgeschrittenen akuten Höhenkrankheit ist daher nicht eindeutig. Klinisch gesehen ist das Höhenhirnödem – im Unterschied zur akuten Höhenkrankheit – eine Enzephalopathie. Das Höhenhirnödem ist ein vasogenes Ödem (Störung der Blut-Hirn-Schranke). Ursache eines vasogenen Ödems kann eine kapilläre Hypertonie im Gehirn sein. Diese reversiblen Zustände hängen mit einer beeinträchtigten zerebralen Autoregulation zusammen. Die zerebrale Autoregulation ermöglicht die Aufrechterhaltung der Durchblutung des Gehirns auch bei verändertem Blutdruck. Eine zerebrale kapilläre Hypertonie kann auch durch jede Störung des venösen Rückstroms im Gehirn, vor allem während einer Hypoxie-induzierten zerebralen Vasodilatation, verursacht werden [HACKETT and ROACH, 2004; IMRAY et al., 2010].

Das Höhenhirnödem wird ähnlich wie andere höheninduzierte Erkrankungen behandelt, im Vordergrund stehen die Sauerstoffzufuhr und der Abstieg in geringere Höhen. Ein vorgetäuschter Abstieg mittels Überdrucksack kann, wie bei allen höheninduzierten Erkrankungen, ebenfalls hilfreich sein [AUSTIN, 1998; ZAFREN, 1998].

## **5.3 Höhenlungenödem (HAPE)**

Das Höhenlungenödem (HAPE) ist ein lebensbedrohliches nicht kardiogenes Lungenödem in Verbindung mit pulmonaler Hypertonie (verstärkte hypoxische pulmonale Vasokonstriktion) und kann bei Personen auftreten, welche sich akut großer

Höhe aussetzen. Dennoch sind die genauen Entstehungsmechanismen des Höhenlungenödems unklar [NAKANISHI et al., 1996; MAGGIORINI et al., 2001; SCHERRER et al., 1996, DROMA et al., 2002].

Untersuchungsergebnisse weisen darauf hin, dass eine veränderte pulmonale Hämodynamik wahrscheinlich der wichtigste kausale Faktor in der Pathogenese der akuten Höhenkrankheit und des Höhenlungenödems ist [KLEGER et al., 1996].

Als wahrscheinliches Szenario gilt, dass ein deutlich erhöhter kapillärer Druck zu sekundären entzündlichen Veränderungen führt [MAGGIORINI et al., 2001].

Die beobachtete erhöhte Ansammlung von Flüssigkeit und Proteinen im Alveolarraum (Erhöhung der kapillären Durchlässigkeit) und die Entzündungsreaktion könnten eher eine Folge als die Ursache des Höhenlungenödems sein [KLEGER et al., 1996].

Die Gabe von gefäßerweiternden Mitteln (wie Stickstoffmonoxid, Nifedipin, Hydralazin und Phentolamin) hat vorteilhafte Effekte in der Prävention und Behandlung des Höhenlungenödems [SCHERRER et al., 1996].

## **6. Der Einfluss der freien Sauerstoffradikale auf die Gewebsschädigung unter Hypoxie und bei physischer Aktivität und der mögliche Nutzen von Antioxidantien**

### **6.1 Hypoxie**

Eine Hypoxie-Exposition, einschließlich dem höheninduzierten Sauerstoffmangel, ist ein gutes Modell für anhaltenden oxidativen Stress [LUNDBY et al., 2003].

Die metabolische Oxidation ist eine bedeutende Quelle freier Sauerstoffradikale (OFR) unter Bedingungen oxidativen Stresses. Nach einem längeren Zeitraum unter hypoxischen Bedingungen oder bei Höhenexposition kann in Blut, Skelettmuskel, Leber, Herz, Nieren, Darmmukosa und Lunge ein Anstieg der Konzentration oxidierter

Verbindungen sowie ein Anstieg der Konzentration und der Aktivität oxidativ wirksamer Enzyme wie Katalase, Diaminoxidase, Cytochromoxidase, Succinyloxidase und Xanthinoxidase gemessen werden [ROCHE and ROMERO-ALVIRA, 1994]. Es wurde nachgewiesen, dass die Häufigkeit der Lipidperoxidation unter Bedingungen des Sauerstoffmangels zunimmt [YOSHIKAWA et al, 1982; JONES, 1985; BAILEY et al., 2000] und es ist anzunehmen, dass Hypoxie allgemein eine Bedingung für eine verstärkte Anfälligkeit gegenüber oxidativer Schädigung darstellen kann [JONES, 1985; MAGALHÃES et al., 2005].

Die Operation-Everest-3-Studie zeigte, dass das Ausmaß der Lipidperoxidation auf 6000 m um 23% und auf 8848 m um 79% anstieg, dass also das Ausmaß des oxidativen Stresses proportional zum Anstieg der Höhe ist [JOANNY et al., 2001].

Ein akuter Sauerstoffmangel erhöht die Menge an Strangbrüchen und oxidativer Schädigung der DNA [MØLLER et al., 2001]. Es kann jedoch nicht ausgeschlossen werden, dass der in großer Höhe beobachtete Anstieg der oxidativen Schädigung in stärkerem Ausmaß mit Umweltfaktoren (saisonale Unterschiede mit unterschiedlicher Temperatur, Hintergrundstrahlung) zusammenhängt als mit dem Sauerstoffmangel an sich [LUNDBY et al., 2003].

Es wurde bereits seit einiger Zeit angenommen, dass die Anhäufung reduzierender Äquivalente, welche bei einem Mangel an Sauerstoff auftritt, zum so genannten „reduktiven Stress“ führen kann, bei welchem die Reduktion von zellulären Bestandteilen und von Chemikalien verstärkt ist. Der Mangel an Sauerstoff und die damit einhergehende mitochondriale Fehlfunktion hemmen die Oxidation von NADH und bewirken einen zellulären Redoxstatus eher in Richtung reduziert [KHAN and O'BRIEN, 1995].

Die Anfälligkeit der Zellen gegenüber hypoxischer Zytotoxizität nimmt zu, wenn der mitochondriale oder zytoplasmatische Redoxstatus eher in Richtung reduziert geht (erhöhtes Verhältnis  $\text{NADH}/\text{NAD}^+$  im Zytosol). Zellen sind widerstandsfähiger gegenüber hypoxischer Schädigung wenn der zelluläre Redoxstatus eher in Richtung oxidiert geht. Dies zeigt, dass anhaltender reduktiver Stress, welcher zu einer Sauerstoffaktivierung führt, für hypoxische Schädigung verantwortlich ist. Die

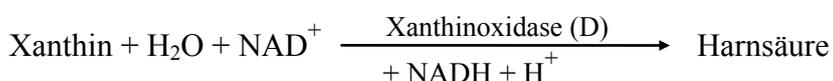
Anhäufung reduzierender Äquivalente kann die Bildung von aktivem  $O_2$  entweder durch direkte Elektronengabe an das  $O_2$  oder durch Redoxcycling steigern [KHAN and O'BRIEN, 1995; JONES, 1985]. Verbindungen des Intermediärstoffwechsels wie Oxalacetat oder Acetoacetat, welche dem Hypoxie-induzierten reduktiven Stress vorbeugen, indem sie mitochondriales oder zytosolisches NADH oxidieren, schützen vor hypoxischen Schädigungen. Die Aufrechterhaltung der Redox-Homöostase könnte eine Möglichkeit sein, um Zellen vor hypoxischer Schädigung zu schützen [KHAN and O'BRIEN, 1995].

Die Inaktivierung der oxidativen Phosphorylierung in der Elektronentransportkette durch Hypoxie kann zu verschiedenen biochemischen Änderungen führen, welche einer Zellschädigung vorausgehen. Dazu gehören ATP-Depletion, eine erhöhte Konzentration von Calcium und Natrium im Zytosol, Aktivierung der Phospholipase A2 und Abbau der Membranphospholipide [KHAN and O'BRIEN, 1995].

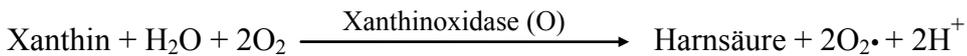
Der Wirkungsgrad der Phosphorylierung (P/O) in den Mitochondrien ist bei hypoxischen Sauerstoffkonzentrationen geringer, vermutlich durch die Bildung von mehr  $O_2^-$  durch den erhöhten direkten Elektronenfluss vom Zytochrom-bc<sub>1</sub>-Komplex zum Sauerstoff.

Die Produkte der verstärkten ATP-Hydrolyse (anorganisches Phosphat, Adenosin, Inosin, Xanthin, Hypoxanthin) tauchen im Blut auf. Hypoxanthin und Xanthin werden durch die Wirkung des Enzyms Xanthinoxidase beseitigt. Dieses Enzym kommt in zwei Isoformen (D und O) und in verschiedenen Geweben vor. Die D-Isoform (Dehydrogenase-Form) katalysiert die Umwandlung von Xanthin zu Harnsäure durch die Reduktion von  $NAD^+$  zu NADH. Unter hypoxischen Bedingungen kann die D-Isoform in die O-Isoform (Oxidase-Form) umgewandelt werden. Wenn Reoxygenierung auftritt, katalysiert die O-Isoform die Reaktion von Xanthin zu Harnsäure, jedoch unter Ausnutzung von molekularem Sauerstoff anstelle von  $NAD^+$  und unter Bildung des Superoxidradikals [ROCHE and ROMERO-ALVIRA, 1994; MANY and ROBERTS, 1997; FÖLDES-PAPP et al., 2005]:

*Normale Bedingungen:*



*Hypoxische Bedingungen:*



Andere Mechanismen, um freie Sauerstoffradikale unter hypoxischen Bedingungen zu bilden, beinhalten die Wirkung der aktivierten neutrophilen Granulozyten in den betroffenen Bereichen, die Oxidation von Katecholaminen im Blut, die Oxidation von Membranbestandteilen und intrazellulären Molekülen und die Unterbrechung der mitochondrialen Elektronentransportkette [ROCHE and ROMERO-ALVIRA, 1994].

Sulfhydrylgruppen von Proteinen, welche an vielen Prozessen beteiligt sind, sind anfällig gegenüber einer Oxidation. Daher verursacht die oxidative Schädigung von spezifischen Proteinen, welche eine Sulfhydrylgruppe enthalten, ausgeprägte Veränderungen der Ionenhomöostase durch Zerstörung des Ionen-transportsystems [JONES, 1985].

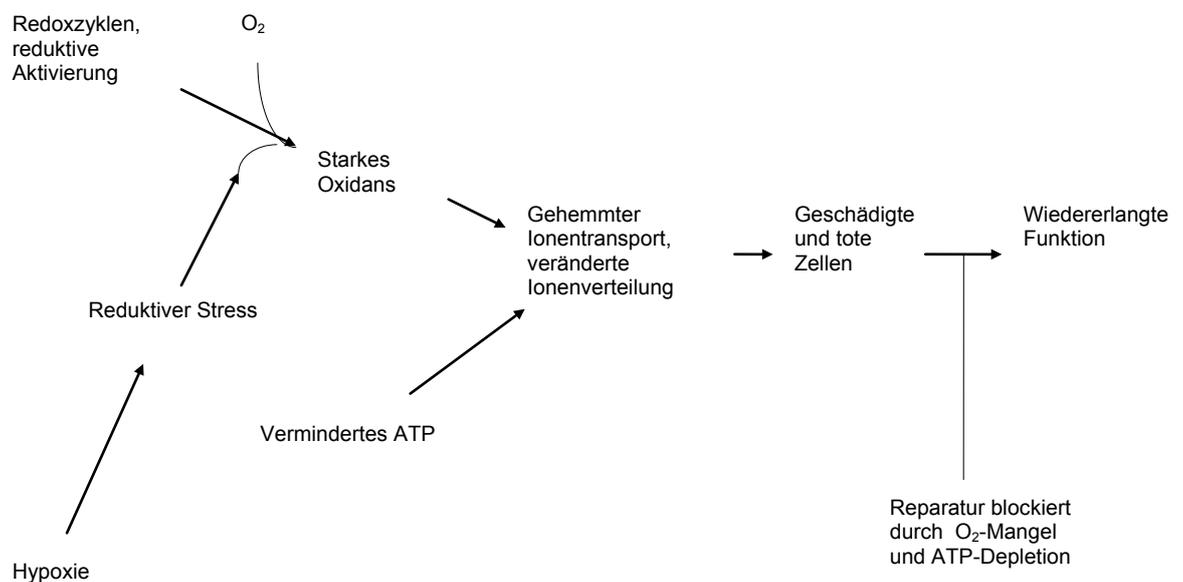
Hypoxie ist ebenfalls durch eine veränderte Ionenhomöostase gekennzeichnet. Die ATPasen sind „Pumpen“, welche aktiv Ionen ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{H}^+$ ) transportieren und nutzen dafür die Energie, die sie direkt durch die ATP-Hydrolyse gewinnen [SILBERNAGL and DESPOPOULOS, 1991]. Der Ausfall des Elektronentransports bewirkt direkt eine Abnahme des mitochondrialen Membranpotentials und sekundär eine reduzierte ATP-Synthese. Die geringere ATP-Synthese durch die Mitochondrien erniedrigt das Verhältnis ATP/ADP und somit die Aktivität der ATPasen. Die  $\text{Na}^+\text{K}^+$ -ATPase ist sehr empfindlich gegenüber einer Hypoxie: bei einem Sauerstoffgehalt von etwa  $9\mu\text{M O}_2$  tritt eine 50%-ige Hemmung ein. Die Hemmung dieses Systems und dadurch des  $\text{Na}^+$ -Gradienten führt zu Störungen in der Aufrechterhaltung des Aktionspotentials und im Transport vieler Verbindungen und gefährdet das Überleben von Zellen und des Organismus [JONES, 1985].

Oxidativer Stress kann eine vollständige Hemmung des Transports von  $\text{Na}^+$  und  $\text{K}^+$  bewirken. Für hypoxische Zellen, welche bereits eine gestörte Verteilung von  $\text{Na}^+$  und  $\text{K}^+$  aufweisen, kann diese vollständige Hemmung tödlich sein. Der Ausfall der  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPasen wirkt sich wegen des veränderten Austauschs von  $\text{Na}^+$  und  $\text{Ca}^{2+}$  und wegen des veränderten  $\text{H}^+$ -Gradienten durch veränderte  $\text{H}^+$ - $\text{Ca}^{2+}$  auf die  $\text{Na}^+$ -Gradienten aus, was vermutlich die Ursache für die veränderte  $\text{Ca}^{2+}$ -Homöostase ist [JONES, 1985].

Während einer Anoxie gibt das Gewebe  $\text{Ca}^{2+}$  ab, wahrscheinlich aufgrund der gestörten  $\text{Ca}^{2+}$ -Retention durch die Mitochondrien. Die Exposition von Geweben gegenüber oxidativem Stress bewirkt auch den Verlust des zellulären  $\text{Ca}^{2+}$  aus den Mitochondrien (wegen der Pyridin-Nukleotid-Oxidation) und Mikrosomen (wegen der Hemmung der  $\text{Ca}^{2+}$ -Pumpe). Die homöostatischen Mechanismen zur Aufrechterhaltung des zytoplasmatischen freien  $\text{Ca}^{2+}$  sind sehr komplex und reagieren unterschiedlich: die Schädigung der mitochondrialen und mikrosomalen Bindungssysteme führt zum Verlust von  $\text{Ca}^{2+}$  aus der Zelle, während ein weitreichender Schaden am Plasmatransportsystem oder eine erhöhte Permeabilität der Plasmamembran für  $\text{Ca}^{2+}$  ein erhöhtes  $\text{Ca}^{2+}$  bewirkt, hauptsächlich durch die mitochondrielle Ladung [JONES, 1985; MARIGGIÒ et al., 2010].

Die Hypoxie-induzierte Zytotoxizität ist erhöht, wenn die Konzentration des extrazellulären  $\text{Ca}^{2+}$  ansteigt und dieses  $\text{Ca}^{2+}$ -abhängige Enzyme wie Phospholipase A2, Proteinasen usw. aktiviert [KHAN and O'BRIEN, 1995; FEISSNER et al., 2009].

Sowohl eine Hypoxie als auch eine oxidative Schädigung beeinträchtigen die Fähigkeit zur Aufrechterhaltung der  $\text{Ca}^{2+}$ -Homöostase. Aufgrund dieser Tatsache kann der eine Faktor die Wirkung des anderen verstärken: bereits ein kleiner Anstieg des oxidativen Stresses kann während einer Hypoxie tödlich sein, und eine Hypoxie kann den durch oxidativen Stress bedingten Schaden weiter steigern [JONES, 1985]:



Hypoxie bewirkt eine intrazelluläre Abgabe von freiem Eisen. Die Menge des abgegebenen freien Eisens wird erhöht durch glykolytische Nährstoffe (Sorbit, Xylit, Ethanol), welche NADH bilden. NADH selbst kann  $\text{Fe}^{2+}$  aus Ferritin freisetzen, indem es  $\text{Fe}^{3+}$  reduziert [KHAN and O'BRIEN, 1995].

Um zu funktionieren, benötigt die Glutathionperoxidase GSH (Glutathion), welches die reduzierte Form des GSSG (Glutathiondisulfid) ist. Oxidativer Stress steigert den Efflux von GSSG, und um den GSH-Gehalt aufrechtzuerhalten, muss die Synthese von GSSG erhöht werden. Die Synthese von Glutathion erfordert ATP. Da die ATP-Zufuhr bei Hypoxie vermindert ist, ist die Glutathionsynthese ebenfalls vermindert. Zusätzlich ist die Zufuhr von NADPH für die Glutathionreduktase bei Hypoxie entscheidend, und die effiziente Reduktion von GSSG zu GSH kann limitiert sein [JONES, 1985, FÖLDESPAPP, 2005].

Acetyl-L-Carnitin hat bekanntermaßen eine antioxidative Wirkung, indem es die Konzentration des intrazellulären Coenzym Q10 erhöht, welches wiederum zu einem Anstieg der Aktivität der Glutathionreduktase und zu hohen Konzentrationen von reduziertem Glutathion beiträgt.

Die Supplementierung von Ratten unter hypobarischer Hypoxie mit Acetyl-L-Carnitin in einer Dosierung von 75 mg/kg Körpergewicht an drei aufeinanderfolgenden Tagen hemmte die Lipidperoxidation, stellte den Antioxidantien Spiegel wieder her und verbesserte die Spiegel der Glutathionperoxidase und der Glutathionreduktase [BARHWAL et al., 2007].

In einer anderen Untersuchung mit drei Gruppen von je zehn Ratten war die erste Gruppe eine Kontrollgruppe, deren Ratten unter normoxischen Verhältnissen gehalten wurden, die zweite Gruppe war eine Kontrollgruppe, deren Ratten 14 Tage lang einer hypobarischen Hypoxie ausgesetzt waren, und die dritte Gruppe bestand aus Ratten, welche 14 Tage lang einer hypobarischen Hypoxie ausgesetzt waren und mit L-Carnitin (100 mg/kg Körpergewicht) behandelt wurden. Die Serumkonzentration von MDA (Malondialdehyd), einem Marker für die Lipidperoxidation, die Konzentration von

karbonyliertem Protein, einem Marker für oxidativen Stress, die GSH-Konzentration und die Wasserstoffdonorabilität (DHA, die Fähigkeit des antioxidativen Systems zu reagieren und Schutz zu bieten) nahmen nach der Hypoxie-Exposition zu. Die Gabe von L-Carnitin (in der dritten Gruppe) erniedrigte den Spiegel der Serumlipidperoxide und der karbonylierten Proteine signifikant und erhöhte den GSH-Spiegel und die DHA im Vergleich zur zweiten Gruppe (Placebo-Gruppe) weiter [BODEA et al., 2010].

N-Acetyl-Cystein (NAC) ist ein starkes Antioxidans, welches nachweislich das Gehirn vor oxidativem Stress schützt, wenn die Neuronen von Ratten einer Hypoxie ausgesetzt wurden. NAC erhöht die intrazellulären Glutathionspeicher, indem es die endogenen Antioxidantienpiegel erhöht. Die Behandlung von Ratten, welche einer hypobarischen Hypoxie ausgesetzt wurden, mit NAC (750 mg/kg Körpergewicht) für drei Tage, hemmte die Lipidperoxidation und die Bildung von freien Radikalen, stellte den GSH-Spiegel wieder her und verbesserte die Aktivität der Glutathionperoxidase und der Glutathionreduktase [JAYALAKSHMI et al., 2007].

In der Studie von [VATS et al., 2008] wurden 10 Probanden, welche sich auf einer Höhe von 3600 Metern (Phase 2) und 4850 Metern (Phase 3) befanden, täglich mit 400 mg NAC supplementiert. Diese Supplementierung erhöhte die Aktivität der SOD (in beiden Phasen), hielt die GSH-Spiegel sowie das Verhältnis GSH/GSSG aufrecht und bewahrte den Vitamin-C-Spiegel vor dem Absinken (nur in Phase 2).

Daten aus Untersuchungen an Probanden in großer Höhe zeigen eine verminderte Filtrierbarkeit der Erythrozyten. Dies kann durch eine erhöhte Lipidperoxidation der Membranlipide [SIMON-SCHNASS and KORNISZEWSKI, 1990] und durch eine um mehr als 100% erhöhte Expiration von Pentan, welches indirekt auf eine Lipidperoxidation hinweist, bedingt sein [SIMON-SCHNASS and PABST, 1988]. In der oben genannten Studie war eine tägliche Supplementierung von 400 mg Vitamin E für die Dauer von vier Monaten ausreichend, um die Expiration von Pentan konstant zu halten, was darauf hinweist, dass keine nennenswerte zusätzliche Lipidperoxidation mehr aufgetreten war [SIMON-SCHNASS and PABST, 1988].

In einer anderen randomisierten doppelblinden Studie wurde ein Test an 18 Probanden unter normobarischer Normoxie und mäßiger normobarischer Hypoxie durchgeführt. Unter hypoxischen Bedingungen war die Lipidperoxidation trotz einer selektiven Mobilisierung von  $\alpha$ -Tocopherol (es gab einen signifikanten Anstieg der Plasmakonzentration) eindeutig ersichtlich. Obwohl sie keinen vollständigen Schutz bietet, kann die Mobilisierung von  $\alpha$ -Tocopherol aus dem Fettgewebe und der Leber doch ausreichen, um das Ausmaß der oxidativen Schädigung durch freie Radikale in großer Höhe zu verringern [BAILEY et al., 2000].

In der bereits früher beschriebenen Untersuchung von [VATS et al., 2008] wurden 10 andere Probanden, welche sich auf einer Höhe von 3600 Metern (Phase 2) und 4850 Metern (Phase 3) befanden, täglich mit 400 mg Vitamin E supplementiert. Diese Supplementierung erhöhte die Aktivität der SOD (in Phase 3), hielt die GSH-Spiegel, die Aktivität der Glutathionperoxidase sowie das Verhältnis GSH/GSSG aufrecht und bewahrte den Vitamin-C-Spiegel vor dem Absinken (nur in Phase 2).

Vitamin C fungiert als erster "Schutzwall" gegenüber oxidativem Stress, indem es reaktive Sauerstoffspezies, welche in wässrigen Medien wie im Plasma, im Zytosol und in anderen Körperflüssigkeiten entstehen, neutralisiert. Seine Rolle als wirksamer Radikalfänger konnte sogar unter normoxischen Bedingungen gezeigt werden [BAILEY 2004], aber um erneut wirken zu können, muss es regeneriert werden. Dafür benötigt es Reduktionsäquivalente von Glutathion, NADPH oder NADH [HALLIWELL and GUTTERIDGE, 1990]. Da der Glutathionspiegel auch bei erhöhtem peroxidativem Stress unverändert blieb, wurde Vitamin C möglicherweise nicht regeneriert, um weiterhin als Radikalfänger wirksam zu sein. Eine unzureichende Rückgewinnung von Ascorbat kann zu dessen Oxidation zu 2,3-Dehydroascorbinsäure und weiter zu 2,3-Diketogulonsäure und schließlich zur Depletion des Ascorbatspeichers führen [VIJ et al., 2005].

Es wurde gezeigt [VIJ et al., 2005], dass die Konzentrationen von Vitamin C und Caeruloplasmin nach einem dreimonatigen Aufenthalt in großer Höhe im Vergleich zu den Werten auf Meeresebene signifikant niedriger waren. Die Ursache dafür könnte eine vermehrte Nutzung der beiden Verbindungen zwecks Neutralisation von freien Radikalen und zugleich eine unzureichende Aktivierung anderer antioxidativer

Schutzmechanismen des Körpers sein. Die gesamte antioxidative Kapazität des Plasmas nahm in großer Höhe trotz geringer Ascorbinsäure- und Caeruloplasminspiegel und einer unveränderten Glutathionkonzentration nicht ab. Dies weist auf eine mögliche Beteiligung anderer Radikalfänger, wie Harnsäure, Bilirubin und Tocopherole, in Hinblick auf die Aufrechterhaltung der antioxidativen Kapazität des Plasmas hin.

Die Supplementierung von Ratten mit unterschiedlichen Mischungen von Antioxidantien in einer Dosierung von 50 IU/kg Körpergewicht (Vitamin E, Tocopherol) bzw. 400 mg/kg Körpergewicht (Vitamin C, Ascorbinsäure und L-Carnitin) vor und während Versuchsbedingungen einer hypobarischen Hypoxie verminderte die Erythrozyten-Hämolyse (welche direkt proportional zur Proteinoxidation und zur Lipidperoxidation ist), reduzierte die osmotische Fragilität der Erythrozyten und verminderte Thiobarbitursäure-reaktive Substanzen (TBARS, von engl. thiobarbituric acid-reactive substances, ein Nebenprodukt der Lipidperoxidation) im Lysat. Diese Antioxidantien hatten eine synergistische Wirkung hinsichtlich des Schutzes der Zelle vor oxidativem Stress und Radikalschädigung [VANI et al., 2010].

Harnsäure (Urat) ist das mengenmäßig bedeutsamste wässrige Antioxidans und macht bis zu zwei Drittel der antioxidativen Kapazität des menschlichen Blutes aus [WARING 2002]. Hypoxie ist ein wirksamer Reiz für eine vermehrte Uratproduktion, wodurch der Uratspiegel in großer Höhe ansteigt [ASKEW, 2002; VIJ et al., 2005]. Die Hauptquelle für den Hypoxie-induzierten Uratanstieg ist der Abbau von Adenosin. Die Xanthinoxidase katalysiert die letzten beiden Schritte dieses Abbauweges und wandelt Xanthin unter Bildung von reaktiven Sauerstoffspezies zu Harnsäure um. Daher stellt sich die Frage, ob Urat in großer Höhe als Antioxidans wirkt oder ob es vielmehr seine prooxidative Wirkung maskiert, indem es die totale antioxidative Kapazität beeinflusst [SINHA et al., 2009b, GHISELLI et al., 2000].

Polyphenolische Antioxidantien beugten ebenfalls hypoxischen Zellschäden vor, und bestätigten so die Annahme, dass bei Hypoxie reaktive Sauerstoffspezies gebildet werden [KHAN and O'BRIEN, 1995].

Eine hypoxische Exposition verursachte einen signifikanten Anstieg der Konzentrationen der freien Radikale und von MDA und eine Abnahme des antioxidativ

wirksamen Enzymsystems (SOD, CAT, GSH und GPX). Eine Vorbehandlung von Tieren mit Quercetin, fünf Tage vor der hypoxischen Exposition, bewirkte eine beachtliche Verringerung der Konzentrationen von freien Radikalen und MDA und erhöhte die Konzentrationen von SOD, CAT, GSH und GPX, wodurch ein wirksamer Schutz gegenüber Hypoxie-induzierten oxidativen Schäden gegeben war. Quercetin bewirkte eine Erhöhung der verminderten Stickstoffmonoxidspiegel und der Aktivität der induzierbaren Stickstoffmonoxidsynthase, und schützte damit vor Hypoxie-induziertem entzündlichen Schäden [ZHOU et al., 2012].

Für eine Untersuchung wurden Probanden in zwei unterschiedlichen Jahreszeiten einer Höhe von 4560 m ausgesetzt und in zwei Gruppen unterteilt (Gruppe 1 mit 63 Probanden und einer Höhen-Umgebungstemperatur von -6°C bis 10°C und Gruppe 2 mit 81 Probanden und einer Höhen-Umgebungstemperatur von 3°C bis 22°C). Die Studie zeigte, dass bei den Probanden der Gruppe 1 in großer Höhe GSH, Vitamin C, Vitamin E, Harnsäure, das Verhältnis GSH/GSSG sowie die Aktivität der Glutathionreduktase und der Katalase vermindert und die Aktivität der SOD und die Konzentration der GPX erhöht waren. Die Probanden der Gruppe 2 dagegen wiesen völlig entgegengesetzte Merkmale auf und waren imstande, ihren Redoxstatus nach der Höhenexposition auf einem reduzierten Niveau konstant zu halten. Obwohl die Marker für oxidativen Stress (Hydroperoxid und Carbonylderivate von Proteinen) in beiden Gruppen erhöht waren, war der prozentuelle Anstieg in der Gruppe 1 viel höher. Es ist anzunehmen, dass in großer Höhe ein höheres Ausmaß an Kältestress für die Unterschiede des Antioxidantien- und Redoxstatus zwischen den beiden Gruppen verantwortlich ist und dass sowohl die Kälte als auch die Hypoxie während eines Aufenthalts in großer Höhe eine zusätzliche Belastung für das zelluläre antioxidative System darstellen und aufgrund einer veränderten Stoffwechselrate größeren oxidativen Stress verursachen [SINHA et al., 2010].

Trotz des vorteilhaften Effekts der Supplementation mit Antioxidantien, wie man es in verschiedenen Studien gesehen hat, zeigte eine Doppelblindstudie mit 18 männlichen Probanden in großer Höhe (4300 m), welche für 3 Wochen vor und während der 14-

tägigen Intervention mit 20000 IU  $\beta$ -Carotin, 400 IU  $\alpha$ -Tocopherolacetat, 500 mg Ascorbinsäure, 100  $\mu$ g Selen, 30 mg Zink oder mit Placebo supplementiert wurden, dass die Ergebnisse dieser Studie die Hypothese, dass antioxidantische Supplementierung den mit einem erhöhten Energieaufwand (negativer Energiebilanz) in großer Höhe assoziierten oxidativen Stress verringern würden, nicht stützen konnten. Die Supplementierung erhöhte zwar den Plasmaantioxidantienstatus, aber die Daten zeigten keine signifikanten Erhöhungen irgendeines Markers für oxidativen Stress und es gab keinen Unterschied zwischen der supplementierten Gruppe und der Kontrollgruppe [SUBUDHI et al., 2004].

Sowohl Studien mit Menschen als auch mit Tieren sind relativ konsistent und berichten, dass höhenassoziierte Hypoxie Schäden an Fetten, Proteinen und an der DNA verursacht. Diese Schädigungen können auf eine vermehrte ROS-Produktion und/oder eine reduzierte antioxidative Kapazität zurückgeführt werden [DOSEK et al., 2007].

Es kann angenommen werden, dass die in den verschiedenen Geweben vorhandenen Antioxidantien nicht ausreichen, um dem erhöhten Bedarf unter solchen besonderen Bedingungen gerecht zu werden und den Organismus vor oxidativem Schaden zu schützen. Außerdem könnte der Level einiger chemischer Antioxidantien während der Hypoxie vermindert sein, weil sie durch  $O_2$ -abhängige Wege synthetisiert werden (so z.B. Ascorbinsäure, Harnsäure) [JONES, 1985].

Die prooxidativen Effekte von körperlicher Anstrengung, UV-Strahlung, Umgebungstemperaturverschiebungen, Dehydration, Anorexie und einem Mangel an antioxidativen Nahrungsmitteln in der Kost könnten den höheninduzierten Stress und die damit verbundenen oxidativen Schäden ebenfalls erhöhen [BAILEY et al., 2000; ASKEW 2002 ].

## 6.2 Körperliche Anstrengung

Es gibt einen Zusammenhang zwischen erhöhter Stoffwechselrate als Folge von Bewegung und vermehrter Gewebsschädigung durch die Pathologie der freien Radikale [SIMON-SCHNASS, 1992; KANTER et al., 1993; WITT et al., 1992].

Körperliches Training kann den oxidativen Stress im Skelettmuskel aus verschiedenen Gründen erhöhen

- der Sauerstoffverbrauch des gesamten Körpers kann während des Trainings auf das 10- bis 20-fache ansteigen und der Sauerstofffluss in einzelnen Muskelfasern so viel wie 100- bis 200-fach, bei ca. 30-facher Erhöhung des Blutflusses. Deshalb ist es möglich, dass die mitochondriale Superoxid-Radikal Produktion (durch einen Elektronenverlust der mitochondrialen Elektronentransportkette) stark erhöht ist.
- Ischämie-Reperfusion: während des Trainings wird der Blutfluss von vielen Organen und Geweben weg- und zu den arbeitenden Muskeln hinverschoben, und Teile davon oder all diese Regionen können Hypoxie erfahren, ebenso die Muskelfasern innerhalb der stark arbeitenden Muskeln. Bei Beendigung des Trainings erleben diese Bereiche eine Reoxygenierung, was zu der wohl bekannten Explosion der ROS-Produktion führt.
- das durch die Glykolyse gebildete Laktat kann den Zellbestand an NADH und NADPH reduzieren und die Funktion der antioxidantischen Enzyme herabsetzen
- Zunahme von Epinephrin und anderen Katecholaminen, welche ROS produzieren können, wenn sie metabolisch inaktiviert sind.
- Freie Radikale werden nach anstrengendem Training in erhöhten Mengen freigesetzt und verursachen Schäden an Fetten (Lipidperoxidation) und Proteinen [MAXWELL et al., 1993; WITT et al., 1992; CLARKSON and THOMPSON, 2000].

Erschöpfendes Training kann die Konzentration an freien Radikalen in Muskel und Leber 2- bis 3-fach erhöhen. Weiters senkt es die mitochondriale Atemkontrolle und kann zu einem Verlust der Integrität des sarkoplasmatischen (und endoplasmatischen) Retikulums führen [SEN, 1995].

Körperliches Training führte zu signifikanten Erhöhungen der Expiration von Pentan (2- bis 3-fach) und der Serum-MDA-Spiegel bei 20 jungen männlichen Nichtrauchern. Eine Supplementierung mit 592 mg/d  $\alpha$ -Tocopheroläquivalenten, 1000 mg/d Ascorbinsäure und 30 mg/d  $\beta$ -Carotin für 6 Wochen senkte die Pentan-Produktion (-36%) und MDA-Konzentrationen (-17%) signifikant, obwohl es die Pentanproduktion nicht verhindern konnte [KANTER et al., 1993].

Oxidative DNA-Schädigung scheint grob mit der Stoffwechselrate zusammenzuhängen, aber die Informationen bezüglich trainingsinduzierter oxidativer DNA-Schädigung sind spärlich [SEN, 1995]. Keine signifikanten Änderungen in der Menge an oxo8dG (8-Hydroxy-2'-Deoxyguanosin, ein Marker für DNA-Schädigung) wurden in der Kern-DNA in Gehirn, Leber, Herz, Niere und Muskel von Ratten als Folge von entweder chronischem oder akutem Training gefunden. Das legt nahe, dass entweder körperliche Anstrengung keinen so beachtlichen oxidativen Stress bewirkt, um die DNA zu schädigen oder dass das aktivierte Reparatursystem genügend stark ist, um eine DNA-Schädigung durch trainingsinduzierten oxidativen Stress zu verhindern [LIU et al., 2000].

Trainingsinduzierte Proteinoxidation wurde auch wirklich kaum erforscht, aber es wurde berichtet, dass erschöpfende körperliche Anstrengung (chronisches Training) die Proteinoxidation im Skelettmuskel und die Anzahl an Proteinverkettungen erhöht und die Anzahl der Sulfhydrylgruppen in den Mikrosomen der Muskeln senkt [SEN, 1995].

Bei oxidativem Stress oxidiert intrazelluläres Glutathion (GSH) rasch zu Glutathiondisulfid (GSSG). Bei anstrengendem Training wird GSH in den aktiven Geweben (wie Skelettmuskeln und Herz) zu GSSG oxidiert. Wenn GSSG nicht durch Glutathionreduktase reduziert wird, kann es aus dem Gewebe ausströmen und erscheint im Blut. Ein drastischer Anstieg (um 100 %) an GSSG im Blut konnte innerhalb der ersten 15 Minuten des Trainings beobachtet werden. Vierundzwanzig Stunden der Erholung waren ausreichend, um die GSSG-Werte im Blut auf Vortrainingswerte wiederherzustellen [SEN, 1995].

Eine Supplementierung von Ratten mit  $\alpha$ -Liponsäure (150 mg/kg Körpergewicht) bei trainingsinduziertem oxidativen Stress erhöhte das Gesamt-GSH in der Leber und im Blut signifikant, was mit einer erhöhten Resistenz gegen Lipidperoxidation assoziiert war [KHANNA et al., 1999].

Oxidativer Schaden während des Trainings scheint von der Intensität des Trainings, vom Standort des Trainings und vom Trainingszustand der Probanden abhängig zu sein. So kann intensives oder erschöpfendes Training eher bei untrainierten Probanden oxidativen Schaden produzieren, und dieser tritt eher im Muskel auf als im Blut [WITT et al., 1992].

In den Skelettmuskeln sind die antioxidativen Abwehrmechanismen mangelhaft und diese Muskeln sind höchst anfällig für oxidativen Stress. Die Aktivitäten von SOD und CAT sind in Muskeln viel geringer als in anderen Geweben [SEN, 1995].

Der Antioxidantienstatus beeinflusst wesentlich die Reaktion auf eine körperliche Anstrengung. Bei tierischen Lebewesen ist ein Vitamin E-Mangel mit erhöhter Lipidperoxidation während körperlicher Anstrengung verbunden. Die Supplementierung mit Antioxidantien liefert eine leicht verfügbare Quelle dieser Antioxidantien für die Freigabe während körperlicher Anstrengung, Vitamin E Supplementierung reduziert die Lipidperoxidation und den Efflux von Muskelenzymen, ein Folge von anstrengender sportlicher Betätigung bei Menschen [MAXWELL et al., 1993].

Tägliche Supplementierung mit 1000 mg Vitamin C und 300 mg  $\alpha$ -Tocopherolazetat für 6 Wochen in einer Doppelblindstudie mit 22 Läufern, welche vor, während und nach einem 50 km Ultramarathon untersucht wurden, konnte ausdauersportinduzierte Lipidperoxidation (gemessen durch Plasmawerte an  $F_2$ -Isoprostanen) verhindern. Sowohl die Ascorbinsäure- als auch die  $\alpha$ -Tocopherolkonzentrationen waren in der supplementierten Gruppe verglichen mit der Placebogruppe signifikant höher. Der Ultramarathonlauf löste dramatische Anstiege in den meisten der untersuchten Entzündungsmarkern aus, wobei die Supplementierung mit Antioxidantien anscheinend

keinen Effekt auf diese ausgewählten Parameter hatte. Diese Ergebnisse zeigten, dass oxidativer Schaden und die Entzündungsreaktion unabhängig voneinander arbeiten oder dass höhere Dosen an Antioxidantien nötig wären, um eine antiinflammatorische Wirkung auszulösen [MASTALOUDIS et al., 2004].

Eine andere doppelblinde placebokontrollierte experimentelle Studie mit 27 Männern und Frauen und mit einer 2 Wochen dauernden Supplementierung entweder mit Vitamin E (885 mg/d  $\alpha$ -Tocopherolazetat) oder mit Placebo führte zu einer signifikanten Erhöhung der Lipidperoxidation (gemessen an der Produktion von MDA). Die Vitamin E-Supplementierung konnte die Plasma-Vitamin E-Werte signifikant erhöhen, schwächte aber die krafttraininginduzierte Lipidperoxidation nicht ab. Ein möglicher Grund für die Unwirksamkeit der Supplementierung könnte sein, dass wegen des intensiven Trainings zu viele freie Radikale vorhanden waren und dass nicht ausreichend Vitamin E vor Ort war, um mit der Überlast fertig zu werden [VIITALA et al., 2004].

Daraus könnte geschlossen werden, dass Hypoxie die Leistungsfähigkeit des antioxidativen Systems untergräbt und die Kapazität des Körpers reduziert, dem oxidativen Stress, der durch erschöpfende körperliche Anstrengung entsteht, standzuhalten [MØLLER et al. 2001].

Antioxidative Abwehrmechanismen scheinen vom Zustand des körperlichen Trainings beeinflusst zu werden. Regelmäßige Sportler haben einen höheren Erythrozyten-Vitamin E-Gehalt und einen höheren Lymphozyten-Vitamin C-Gehalt und die Muskeln gut trainierter Probanden hatten signifikant höhere Aktivitäten an CAT, SOD und GSSG-Reduktase als jene weniger trainierter [MAXWELL et al., 1993; SEN, 1995, SEN and PACKER, 2000].

[VENDITTI and DI MEO, 1996] zeigten, dass die gesamte antioxidative Kapazität in den Geweben trainierter Ratten verglichen mit den Geweben untrainierter Ratten signifikant höher und die Peroxidationsrate signifikant tiefer war.

50 trainierte Eliteradfahrer wurden einem erschöpfenden Ausdauertraining unterzogen und mit einer Kontrollgruppe von 50 sitzenden Arbeitern verglichen. Die trainierte Gruppe zeigte signifikant höhere Konzentrationen an Serum-MDA, Vitamin E und

Vitamin C, signifikant höhere SOD-Aktivität, höhere Konzentrationen an Harnsäure und signifikant niedrigere CAT-Aktivität als die Kontrollgruppe. Es liegt nahe, dass Änderungen der Aktivitäten der Radikalfängerenzyme SOD und CAT und auch höhere Konzentrationen an Vitamin C und Vitamin E, wie sie bei trainierten Probanden vorkommen, nicht ausreichen, der Vermehrung von ROS entgegenzuwirken, was zu einer gleichzeitigen Erhöhung der Produktion an freien Radikalen und zu Lipidperoxidation führen kann [LEKHI et al., 2007; ASKEW 2002].

Bei Topathleten stiegen die Peroxide nach erschöpfendem Training nicht an und es ist bekannt, dass die TBARS niedriger sind als bei nichttrainierten Menschen. Gewohnheitsmäßiges körperliches Training ist entscheidend, um unsere natürliche Kapazität zur Verteidigung vor oxidativen Schäden aufrechtzuerhalten und zu fördern [MAXWELL et al., 1993; SEN, 1995].

Es könnte vermutet werden, dass der während eines längeren intensiven Trainings erhaltene oxidative Angriff für einen untrainierte Person länger und schlimmer wäre als für eine trainierte [ASKEW 2002], aber in der Studie von [VIITALA et al., 2004] gab es nach dem Training zwischen trainierten und untrainierten Teilnehmern keine Unterschiede in der MDA-Produktion.

Das Alter erhöht die Empfänglichkeit der Zellen für prooxidativen Angriff und reduziert die Anpassungsfähigkeit der endogenen antioxidativen Schutzmechanismen, deshalb scheinen ältere Erwachsene anfälliger für trainingsinduzierten oxidativen Stress zu sein [SACHECK and BLUMBERG, 2002].

Antioxidative Supplementierung (mit Vitamin C oder Vitamin E) scheint die Trainingsleistung nicht zu verbessern, aber sie kann sinnvoll sein, um die Effekte der trainingsinduzierten Muskelschädigung zu reduzieren [CLARKSON and THOMPSON, 2000].

Man muss sich bewusst sein, dass die Wirkung der Antioxidantien und anderer Ernährungsinterventionen abhängig sind von der Dauer, der Intensität und der Art des Trainings und nicht zuletzt vom Zustand der am Test teilnehmenden Probanden [SACHECK and BLUMBERG, 2002].

### 6.3 Hypoxie und körperliche Anstrengung

Durch körperliche Anstrengung gesteigerter Sauerstoffverbrauch führt zu oxidativem Stress. Hingegen löst Hypoxie oxidativen Stress aus, trotz verminderten Sauerstoffflusses. Deshalb kann körperliche Belastung unter hypoxischen Bedingungen den oxidativen Stress und Schaden verschlimmern [SINHA et al., 2009a, MØLLER et al., 2001, BAKONYI and RADA, 2004; ASKEW 2002].

Eine erhebliche körperliche Anstrengung ist durch die sehr ermüdenden Aktivitäten im Gebirge üblicherweise erforderlich [ASKEW 2002].

Die Studie von [MØLLER et al., 2001] untersuchte die Wirkung einer einzelnen umfassenden Trainingseinheit auf die Bildung von DNA-Strangbrüchen und oxidativer DNA-Schädigung unter normoxischen Bedingungen (auf Meereshöhe) und bei hypoxischen Bedingungen (in großer Höhe, 4559 m, 3 Tage lang), wofür 12 gesunde Probanden einen maximalen Belastungstest am Fahrradergometer durchführten. Eine durch körperliche Belastung gesteigerte Bildung von DNA-Strangbrüchen wurde auf Meereshöhe (normoxische Bedingungen) nicht beobachtet. Unter Höhenhypoxie zeigten die Probanden mehr DNA-Strangbrüche als auf Meereshöhe. Das Maß an DNA-Strangbrüchen stieg unmittelbar nach der körperlichen Belastung unter Höhenhypoxie noch zusätzlich an.

Aber nicht alle Studien zeigten einen kumulativen Effekt von Hypoxie und körperlicher Belastung: 10 gesunde, ausdauertrainierte Biathleten, und 5 sitzende Kontrollprobanden, (alle 15 Probanden wohnen meist auf Meereshöhe) wurden während eines 6-wöchigen Trainingscamps oder Aufenthalt ohne Training bei moderater Höhe (2800 m) untersucht. Erhöhte Marker für oxidativen Stress ( $H_2O_2$ , 8-iso-Prostaglandin  $F2\alpha$ , reduziertes GSH) wurden in der Höhe bei beiden Gruppen gefunden (trainierte und sitzende Gruppe). Entgegen ihrer Hypothese stellte diese Studie fest, dass die Wirkung zweier kombinierter oxidativer Reize, chronische Hypoxie und körperliches Training, keinen kumulativen Effekt auf den Redoxstatus von ausdauertrainierten Athleten, verglichen mit dem von sitzenden Kontrollprobanden, aufzeigten und dass angenommen

werden kann, dass der erhöhte oxidative Stress allein durch die Exposition an mittlere Höhe aufgetreten war [HEINICKE et al., 2009].

Körperliche Bewegung kann die Wirkung der großen Höhe auf die ROS-Produktion ausweiten und die Kraft der antioxidativen Systeme abschwächen [BAKONYI and RADAK, 2004].

Die Supplementierung mit Antioxidantien scheint ein wichtiges und natürliches Instrument zur Reduzierung des durch große Höhe und körperliche Anstrengung induzierten oxidativen Stresses zu sein [BAKONYI and RADAK, 2004].

Aber es muss berücksichtigt werden, dass für eine optimale Kontraktionsfähigkeit des Muskels niedrige Levels an ROS erforderlich sind. Eine Supplementierung mit sehr hohen Dosen an Antioxidantien kann tatsächlich die Skelettmuskelkraft deprimieren, jedenfalls bei niedrigen Intensitäten [COOMBES et al., 2001].

Dies zeigt die Notwendigkeit weiterer Studien zur Klärung, wie man ROS-Levels regulieren soll, um deren physiologische Wirkungen zu nutzen und deren Schaden zu vermeiden [BARBIERI and SESTILI, 2012].

### **III. Material and Methoden**

#### **1. Probanden**

Zwölf Probanden (10 männliche und 2 weibliche) nahmen freiwillig an der Studie teil. Alle Probanden waren gesunde Erwachsene im Alter von 24 bis 64 Jahren (Mittelwert 44,6 Jahre, SD 15,2), Mitglieder der verschiedenen Forscherteams, welche zur selben Zeit an ihren eigenen Projekten arbeiteten. Sie wurden über den Sinn und die Risiken der Studie aufgeklärt und gaben ihr Einverständnis. Durch ein Interview wurde ihr gewohnter Lebensstil (Ernährung und körperliche Aktivität), der Gesundheitszustand (das Auftreten von chronischen Krankheiten und der ständige Gebrauch von Medikamenten) und die Werte von Gewicht und Körpergröße ermittelt.

Alle 12 rekrutierten Probanden waren gesunde Erwachsene, welche keine Symptome einer Stoffwechsel- oder Bluterkrankung zeigten und sich normal ernährten. Das Niveau der gewohnheitsmäßigen körperlichen Betätigung und die Einstellung zu sportlicher Aktivität variierte stark zwischen sporadischer und professioneller sportlicher Betätigung.

Die individuellen anthropometrischen Merkmale und das Niveau der gewohnheitsmäßigen sportlichen Aktivität sind in Tabelle 1 angeführt, die Mittelwerte der körperlichen Merkmale sind in Tabelle 2 beschrieben.

**Tabelle 1:** Individuelle anthropometrische Daten und Maß an gewohnheitsmäßiger körperlicher Betätigung

Code	Geschlecht	Individuelle Größen			Körperliche Aktivität
		Alter (Jahre)	Gewicht (kg)	Größe (m)	(ungefähre Einschätzung)
01	M	24	70	1,80	regelmäßige sportl. Aktivität
03	M	60	80	1,75	sporadische sportl. Aktivität
04	M	29	64	1,68	professionelle sportl. Aktivität
05	M	29	67	1,80	ständige sportl. Aktivität
08	M	47	79	1,73	sporadische sportl. Aktivität
11	M	54	65	1,65	sporadische sportl. Aktivität
12	M	59	70	1,70	sporadische sportl. Aktivität
14	M	54	79	1,70	sporadische sportl. Aktivität
16	M	56	77	1,70	sporadische sportl. Aktivität
17	M	34	77	1,72	regelmäßige sportl. Aktivität
18	F	64	48	1,67	sporadische sportl. Aktivität
19	F	25	60	1,72	sporadische sportl. Aktivität

**Tabelle 2:** Körperliche Merkmale der Gruppen

	GRUPPE 1		GRUPPE 2	
Anzahl Probanden	6		6	
	Mittelwert ± SD	Bereich	Mittelwert ± SD	Bereich
Alter (Jahre)	42.5 ± 15.7	25-64	46.6 ± 15.9	24-60
Körpergröße (m)	1.70 ± 0.02	1.67-1.73	1.74 ± 0.06	1.65-1.80
Körpergewicht (kg)	67.5 ± 12.3	48-79	71.8 ± 6.2	65-80
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	23.21 ± 3.87	17.21-26.64	23.97 ± 2.55	20.68-27.34

Die Kontrollgruppe und die supplementierte Gruppe unterschieden sich nicht signifikant in Alter, Körpergröße, Körpergewicht und BMI.

## 2. Experimentelles Protokoll:

### 2.1 Experimentelle Gruppen

Die Probanden wurden zufällig zwei Gruppen zugewiesen:

1. Gruppe 1 (N° 6 Probanden) als Kontrollgruppe, supplementiert mit Placebo, angewiesen, keine Vitaminsupplemente zu nehmen.
2. Gruppe 2 (N° 6 Probanden) als Behandlungsgruppe, supplementiert mit antioxidativen Vitaminen (400 mg/d  $\alpha$ -Tocopherolacetat und 200 mg/d Ascorbinsäure).

## 2. 2 Experimentelle Phasen

1. Base-line (Meereshöhe): Blutprobenentnahme zur Messung einiger biochemischer hämatologischer Parameter.
2. Supplementierung mit Placebo (Gruppe 1) oder Antioxidantien (Gruppe 2) für ungefähr 20 Tage.
3. Akute Exposition an den Stress der großen Höhe (5050 m über dem Meeresspiegel): Blutprobenentnahme am ersten Morgen auf dieser Höhe zur Messung einiger biochemischer hämatologischer Parameter.

Die Base-line Messungen wurden auf Meereshöhe (Mailand, Montescano, Rom - Italien) ungefähr 10 Tage vor der Abreise nach Nepal durchgeführt. Die Höhenexposition und die Messungen der Werte in großer Höhe wurden in Lobuche, Nepal, in dem italienischen Forschungslabor "Pyramide EV-K<sub>2</sub>-CNR" realisiert, gelegen auf 5050 m über dem Meeresspiegel im Khumbutal nahe dem Mount Everest Basislager. Das Labor war ausgestattet mit einer Elektrizitätsquelle, welche durch einen Generator, angetrieben von einer Wasserturbine, stabilisiert wurde.

## 2. 3 Supplementierung

Die galenische Herstellung der Kapseln, welche die antioxidativen Supplemente oder das Placebo enthielten, wurde von der Apotheke Spadazzi in Rom übernommen, unter der Zuständigkeit von Dr. Bonifazi. Jede Kapsel enthielt 100 mg an dl- $\alpha$ -Tocopherolazetat und 50 mg an l-Ascorbinsäure.

Die Probanden mussten 2 Kapseln am Morgen und 2 Kapseln am Abend einnehmen, was einer täglichen Dosis von 400 mg  $\alpha$ -Tocopherolazetat und 200 mg Ascorbinsäure entsprach. Die Supplementation begann am Tag nach der Blutprobenentnahme in Italien (Base-line, Ausgangswert) und wurde 19 Tage lang fortgeführt, bis zum Abend vor der zweiten und letzten Blutprobenentnahme in der Pyramide (akute Stressexposition in großer Höhe).

## 2. 4 Trekking

Die Probanden erreichten per Flugzeug von Kathmandu aus (1300 m) eine Höhe von 2800 m oder 3450 m und wanderten im Laufe von 4 oder 5 Tagen auf eine Höhe von 5050 m, mit oder ohne Ruhetag auf 3450 m.

Wegen logistischer Probleme vor Ort wurden die Probanden in 4 Trekkinggruppen aufgeteilt, von denen jeweils 2 Trekkinggruppen auf 3450 m zusammentrafen und gemeinsam die Zielhöhe von 5050 m erreichten.

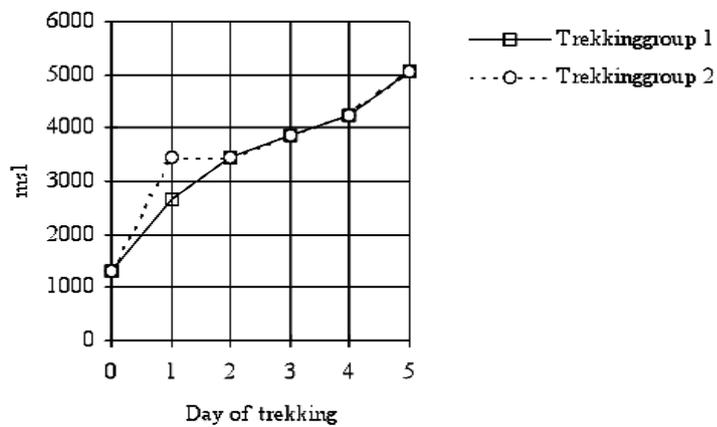
Die Anzahl der Probanden, die Zugehörigkeit zur experimentellen Gruppe (1 oder 2) und die Anzahl der Ruhetage auf 3450 m der 4 Trekkinggruppen sind in Tabelle 3 dargestellt.

**Tabelle 3:** Anzahl der Probanden, Zugehörigkeit zur experimentellen Gruppe und Anzahl der Ruhetage auf 3450 m der 4 Trekkinggruppen

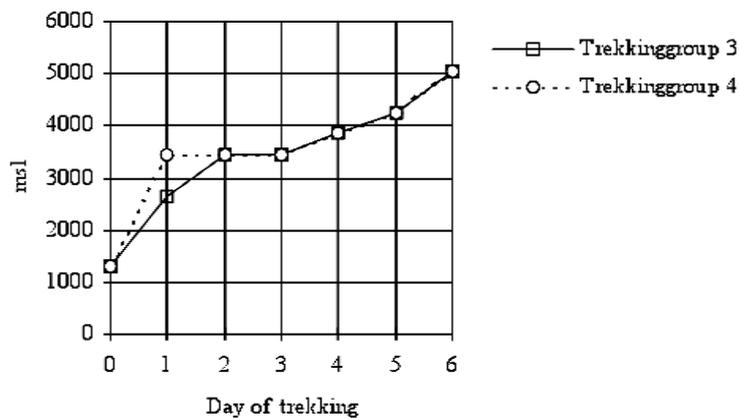
Trekking- gruppe	Anzahl (N°) der Probanden	Gruppe 1 (N° Probanden)	Gruppe 2 (N° Probanden)	Anzahl der Ruhetage auf 3450 m
1	4	2	2	0
2	2	2	0	1
3	4	1	3	1
4	2	1	1	2

Die Abbildung 1 zeigt das Diagramm der Trekkinggruppen 1 und 2, welche die Höhe von 5050 m einen Tag vor den anderen zwei Gruppen erreichten, Abbildung 2 zeigt das Diagramm der Trekkinggruppen 3 und 4.

**Abb. 1:** Diagramm der Trekkinggruppen 1 und 2: Nummer des Trekkingtages und Höhe, auf welcher die entsprechende Nacht verbracht wurde



**Abb. 2:** Diagramm der Trekkinggruppen 3 und 4: Nummer des Trekkingtages und Höhe, auf welcher die entsprechende Nacht verbracht wurde



## 2.5 Interviews

Die Probanden wurden vom ersten Tag des Trekkings an bis zum Ende der Studie täglich interviewt (immer am Abend), um Informationen über die semiquantitative

Nahrungsmittelaufnahme, den Gesundheitszustand, die AMS-Symptome und die Medikamenteneinnahme zu erhalten.

Die untersuchten AMS-Symptome mit den zugeordneten Wertungspunkten (die Punktezahlen zu den entsprechenden Symptomen sind ähnlich denen des Lake Louis Wertungssystems, nur etwas vereinfacht) sind in Tabelle 4 dargestellt.

Die Summe der Wertungspunkte kann als Maß für die Schwere der Höhenkrankheit angesehen werden.

**Tabelle 4:** Symptome von AMS und Punktezahl

AMS-Symptome (Abkürzungen)	Wertungspunkt
Kopfschmerzen (KS)	1
Aspirinresistente Kopfschmerzen (AKS)	2
Übelkeit oder Appetitlosigkeit (ÜA)	1
Schwindel (S)	1
Erbrechen (E)	2
Schlaflosigkeit (SK)	1
Extreme Übermüdung (EÜ)	3
Ruhedyspnoe (RD)	3
Verminderte Diurese (VD)	3

## 2. 6 Untersuchte Parameter

Als Marker des Antioxidantienstatus im Blut wurden die Konzentrationen von  $\alpha$ -Tocopherol und Ascorbinsäure untersucht.

### 3. Blutprobenentnahme und -vorbereitung

Basis-Linie: die erste Blutprobe wurde in Italien ca. auf Meereshöhe vor der Abreise nach Nepal und vor dem Beginn der Supplementation, ungefähr 20 Tage vor dem Erreichen der Pyramide (Forschungslabor auf 5050 m), entnommen. Ein Proband konnte diese Blutentnahme vor der Abreise nicht machen und so wurde sie nach der Rückkehr nach Italien und nach einem Zeitraum von 60 Tagen (der ausreicht, um den Rückgang der hämatologischen Parameter zu den Ausgangswerten zu garantieren [SAVOUREY et al., 1996]) nachgeholt.

Akute Höhenexposition: die zweite Blutprobe wurde unmittelbar (am folgenden Morgen) nach Erreichen der Pyramide entnommen. Die Verabreichung der Supplemente wurde am Abend davor ausgesetzt, so dass am Tag vor der Blutentnahme nur die Hälfte der täglichen Dosis eingenommen wurde.

Venöses Blut (20ml) wurde im Ruhezustand und nach nächtlichem Fasten (nüchtern) einer Ellbeugenvene entnommen und in vorgekühlte Vacutainer EDTA-Röhrchen gefasst. Einige der Analysen erforderten eine sofortige Verarbeitung. Das Blut wurde bei 3000 rpm für 5 Minuten zentrifugiert, um das Plasma zu erhalten. 1000 µl des Plasmas wurden mit 1000 µl Metaphosphorsäure (10 %) für die Messung von Ascorbinsäure stabilisiert. Das restliche Plasma wurde für die Messung von  $\alpha$ -Tocopherol in Kryoröhrchen gegeben.

Während der Vorbehandlung der Blutproben wurde das Blut immer bei niedrigen Temperaturen gehalten. In Italien wurde das Blut in einen Kühlschrank bei 5°C gegeben, die Temperatur in der Pyramide war tief genug (4-10°C), so dass die Verwendung eines Kühlschranks unnötig war.

Alle Proben wurden unmittelbar in einen Behälter mit Flüssigstickstoff (MVE Vapor Shipper SC 4/2 V, Kapazität 3,6 l, Kühlhaltedauer 14 Tage) gegeben und als Flugzeuggepäck nach Italien transportiert, wo sie bei -80°C bis zur Analyse aufbewahrt wurden. Alle Proben wurden in Doppelbestimmung analysiert.

## 4. Analytische Methoden

### 4.1 Ascorbinsäure (Vitamin C)

Analyseprinzip: Ascorbinsäure wird in Gegenwart von Iod zu Dehydroascorbinsäure oxidiert. Der Überschuss an Iod wird durch Zugabe von Natriumthiosulfat zerstört. Die Dehydroascorbinsäure kondensiert anschließend mit o-Phenylendiamin zum Fluorophor Chinoxalin. Ein Blindwert wird durch Verhinderung der Bildung von Dehydroascorbinsäure und durch Fluorophor-Bildung mit Borsäure erhalten. Die Fluoreszenz wird bei einer Anregung von 348 nm und einer Emission von 423 nm gemessen [OMAYE et al., 1979].

### 4.2 $\alpha$ -Tocopherol (Vitamin E)

Plasmaproben werden mit Ethanol deproteiniert und zweimal mit Hexan, versetzt mit Butylhydroxitoluol, extrahiert. Anschließend werden die Proben bis zur Trockne eingedampft, der Rest wird in Diethylether wieder aufgenommen und mit einer bestimmten Menge an mobiler Phase bis zum ursprünglichen Volumen aufgefüllt. Die Proben werden mittels eines Hochleistungs-Flüssigchromatographen HPLC (Perkin-Elmer Serie 410 LC) analysiert: die Proben werden mittels eines programmierbaren Probeninjektors injiziert und auf die Säule (Waters NovaPak C<sub>18</sub>) aufgetragen. Dort werden sie mit einer Flussrate von 1 mL/min isokratisch eluiert, wobei sich die mobile Phase aus 40% Methanol, 55% Acetonitril und 5% Tetrahydrofuran zusammensetzt. Die Peaks werden anschließend mit einem variablen Spektralphotometer detektiert, der mit einem Personalcomputer verbunden ist. Diese Methode wurde von Stacewics-Sapuntzakis et al., zum Teil verändert von Maiani et al. [STACEWICS-SAPUNTZAKIS et al., 1987; MAIANI et al., 1995] beschrieben.

## 5. Statistik

Die Daten werden präsentiert als Mittelwert  $\pm$  Standardabweichung (SD). Für die statistischen Analysen wurde das Computerprogramm StatSoft 4.5 für Windows (StatSoft, Inc. 1993) verwendet. Der Student's T-Test für abhängige gepaarte Proben wurde angewendet, um die Unterschiede innerhalb der Gruppen zwischen den gemessenen Werten in Meereshöhe und in großer Höhe sowie zwischen Werten vor und nach der Supplementierung zu analysieren. Der Student's T-Test für unabhängige Proben wurde verwendet, um die Unterschiede zwischen den Gruppen zu untersuchen.

## IV. Ergebnisse

### 1. Nahrungsmittelaufnahme

Die Ergebnisse der täglich durchgeführten Interviews zur semiquantitativen Nahrungsmittelaufnahme sind in Tabelle 5 dargestellt. Obwohl die Interviews vom Anfang des Trekkings an durchgeführt wurden, sind in dieser Tabelle nur die letzten 4 Tage des Trekkings angeführt, denn in diesen Tagen waren die Trekkingphasen und die Aufstiegszeit für alle Probanden dieselbe (so sind die Probanden, welche einen Tag vor den anderen die Pyramide (das Forschungslabor) erreicht haben, auch einen Tag vor den anderen von 3450 m aus gestartet). Weil alle Probanden die Nächte auf den verschiedenen Höhen in denselben Lodges (wenn auch nicht gleichzeitig) verbracht haben, ist es möglich, die konsumierten Nahrungsmittel zu vergleichen.

Die Ergebnisse zeigen, dass es zwischen den Gruppen und zwischen den unterschiedlichen Trekkingtagen (Trekkingphasen bzw. verschiedenen Höhen) keine großen Unterschiede in der Art der konsumierten Lebensmitteln gab. Zudem gab es auch keine großen interindividuellen Unterschiede innerhalb der Gruppen. Die Kost enthielt keine Nahrungsmittel, die besonders reich an Vitamin C oder an Vitamin E waren und konnte so die Wirkung der Supplementierung auch nicht beeinflussen oder verfälschen. Die täglich konsumierten heißen Zitronen bzw. Zitronentees enthielten dadurch, dass sie ja gekocht wurden, auch keine zu berücksichtigende Menge an Vitamin C.

**Tabelle 5:** Vorwiegend konsumierte Lebensmittel während der letzten Tage des Trekkings

Gruppen	Nummer der Tage vor der 2. Blutentnahme (akuter Stress in großer Höhe)	Höhe, auf welcher die Nacht verbracht wurde	Vorwiegend konsumierte Lebensmittel
<b>Gruppe 1</b>	4	3450 m	Zitronentee; Tee mit Milch; scharfe dicke Suppe mit Linsen und Zwiebel; Gemüsereis; Chapati <sup>1</sup> ; Toast; Brown hash <sup>2</sup>
	3	3860 m	Zitronentee; heiße Zitrone; Tee mit Milch; Toast; Chapati <sup>1</sup> ; Reis mit Linsen und Gemüse; frittierter Reis mit Gemüse; gekochte Eier
	2	4250 m	heiße Zitrone; Zitronentee; Tee mit Milch; Käseomelette; Chapati <sup>1</sup> ; Toast; frittierte oder gekochte Kartoffel
	1	5050 m	Zitronentee; heiße Zitrone; Spaghetti bolognese; Chapati <sup>1</sup> ; Toast; gekochte Eier; frittierte oder gekochte Kartoffel
	<b>Gruppe 2</b>	4	3450 m
	3	3860 m	Zitronentee; heiße Zitrone; Tee mit Milch; Schwarztee; Toast; frittierter Gemüsereis; Gemüsereis mit Linsen und Curry
	2	4250 m	heiße Zitrone; Zitronentee; Toast; frittierte oder gekochte Kartoffel; Chapati <sup>1</sup> ; frittierter Gemüsereis; Tomatensuppe; Brühe
	1	5050 m	heiße Zitrone; Zitronentee; Toast; frittierte Kartoffel; Spaghetti bolognese; Risotto, Bohnen, Tortellini, Yak - Käse; Zwiebelsuppe; russischer Salat

<sup>1</sup> nicht gesäuertes dünnes Brot mit Weizenmehl und Schmalz

<sup>2</sup> Kartoffel, Zwiebel, Salz, Pfeffer

## 2. Gesundheitszustand, AMS-Symptome und Medikamente

### 2.1 Gesundheitszustand

Die Ergebnisse der täglich durchgeführten Interviews über den Gesundheitszustand, Krankheitssymptome (AMS-Symptome ausgeschlossen) und die konsumierten Medikamente zur Behandlung der Symptome sind in Tabelle 6 dargestellt.

Die häufigsten Symptome während des Trekkings standen in Zusammenhang mit Erkältung, fieberhaften Zuständen und gastrointestinalen Problemen (aufgrund des Zusammenlebens auf engem Raum könnten die Krankheiten leicht von einem Probanden auf den anderen übertragen worden sein).

**Tabelle 6:** Gesundheitszustand, Krankheitssymptome und konsumierte Medikamente zur Behandlung der Symptome während des Trekkings

Probanden Code	Nummer der Tage vor der 2. Blutentnahme, an welchen die Symptome auftraten	Symptome	Behandlung
08	6.	Durchfall	
12	6.	Durchfall	Diarstop
	3., 2., 1., 0	Erkältung	Aspirin
	3.	Fieber	Aspirin
16	4.	Bauchschmerzen	
17	5.	Durchfall	Imodium
	4.	Müdigkeit	Ginseng
18	0	Erkältung und Fieber	Aspirin Optalidon Claritin
19	1.	Erkältung	Aspirin Zerinol

## **2.2 Akute Höhenkrankheit (AMS)**

Die AMS-Symptome, welche während des Trekkings auftraten, die Medikamente, die verwendet wurden, um die Symptome zu lindern und die AMS-Punktezahl (als Maß der Schwere der Symptome) sind in den Tabellen 7, 8, 9 und 10 aufgelistet.

Die am häufigsten aufgetretenen Symptome der Höhenkrankheit waren Kopfschmerzen und Schlaflosigkeit. Einige Symptome traten bereits in geringen Höhen auf, andere erst in größeren Höhen (Schwindelanfälle; Atemnot im Ruhezustand (Ruhedyspnoe)).

### **Abkürzungen:**

Kopfschmerzen (KS), aspirinresistente Kopfschmerzen (AKS), Übelkeit oder Appetitlosigkeit (ÜA), Schwindel (S), Erbrechen (E), extreme Übermüdung (EÜ), Ruhedyspnoe (RD), verminderte Diurese (VD)

**Tabelle 7:** Trekkinggruppe 1 (5 Trekkingtage, kein Ruhetag auf 3450 m): Symptome, Punktezahl und Behandlung von AMS auf verschiedenen Höhen

Code	Gruppe	Symptome (AMS-Punktezahl) und Behandlung für die Höhe, auf welcher die Nacht verbracht wurde					
		2650	3450	3860	4250	5050	Nacht vor der Blutentnahme
01	2			KS (1)		KS (1) SK (1)	KS (1) SK (1)
						Aspirin Neocebalfina	Aspirin
03	2		KS (1)	SK (1) EÜ (3)	SK (1)	SK (1)	KS (1) SK (1) RD (3)
							Aspirin
16	1		SK (1)	SK (1)	KS (1) SK (1)	SK (1)	KS (1) ÜA (1) SK (1)
					Aulin	Aspirin	Aulin
17	1	SK (1)		SK (1) VD (3)	VD (3)	KS (1) SK (1)	E (2) RD (3)
						Aspirin Cebalfina	
Punktezahl Gruppe 1 (durchschnittliche Punktezahl pro Proband)		<b>1 (0.5)</b>	<b>1 (0.5)</b>	<b>5 (2.5)</b>	<b>5 (2.5)</b>	<b>3 (1.5)</b>	<b>8 (4)</b>
Punktezahl Gruppe 2 (durchschnittliche Punktezahl pro Proband)			<b>1 (0.5)</b>	<b>5 (2.5)</b>	<b>1 (0.5)</b>	<b>3 (1.5)</b>	<b>7 (3.5)</b>

Durchschnittliche Punktezahl pro Proband und pro Tag für die Trekkinggruppe 1:

- Gruppe: 1.916
- Gruppe: 1.416
- Insgesamt: 1.666

**Tabelle 8:** Trekkinggruppe 2 (5 Trekkingtage, 1 Ruhetag auf 3450 m): Symptome, Punktezahl und Behandlung von AMS auf verschiedenen Höhen

Code	Gruppe	Symptome (AMS-Punktezahl) und Behandlung für die Höhe, auf welcher die Nacht verbracht wurde					
		3450	3450	3860	4250	5050	Nacht vor der Blutentnahme
04	1		SK (1)			KS (1)	
			Aspirina			Aspirin	
18	1	KS (1)	KS (1)	KS (1) SK (1) VD (3)	KS (1) SK (1)	KS (1) SK (1) VD (3)	KS (1) ÜA (1) SK (1) VD (3)
		Aspirin		Aspirin Paracetamol	Aspirin	Aspirin	Aspirin Optalidon Claritin
Punktezahl Gruppe 1 (durchschnittliche Punktezahl pro Proband)		<b>1 (0.5)</b>	<b>2 (1)</b>	<b>5 (2.5)</b>	<b>2 (1)</b>	<b>6 (3)</b>	<b>6 (3)</b>

Durchschnittliche Punktezahl pro Proband und pro Tag für die Trekkinggruppe 2:

- Gruppe 1: 1.833
- Insgesamt: 1.833

**Tabelle 9:** Trekkinggruppe 3 (6 Trekkingtage, 1 Ruhetag auf 3450 m): Symptome Punktezahl und Behandlung von AMS auf verschiedenen Höhen

Code	Gruppe	Symptome (AMS-Punktezahl) und Behandlung für die Höhe, auf welcher die Nacht verbracht wurde						
		2650	3450	3450	3860	4250	5050	Nacht vor der Blutentnahme
11	2	ÜA (1)	VD (3)	KS (1) SK (1)	SK (1)	KS (1) ÜA (1) SK (1) RD (3)	KS (1) ÜA (1) EÜ (3)	SK (1)
		Bimixin				Aspirin	Aspirin	
12	2	ÜA (1) EÜ (3)			KS (1)	KS (1)	KS (1) SK (1)	KS (1) SK (1) RD (3)
					Aspirin	Aspirin	Aspirin	
14	2	KS (1)	KS (1) VD (3)	SK (1)		SK (1)	KS (1) SK (1) RD (3)	KS (1)
19	1		KS (1)	KS (1) SK (1)		KS (1)	KS (1) SK (1)	
				Aspirin		Aspirin	Aspirin	
Punktezahl Gruppe 1 (durchschnittliche Punktezahl pro Proband)			<b>1 (1)</b>	<b>2 (2)</b>		<b>1 (1)</b>	<b>2 (2)</b>	
Punktezahl Gruppe 2 (durchschnittliche Punktezahl pro Proband)		<b>6 (2)</b>	<b>7 (2.3)</b>	<b>3 (1)</b>	<b>2 (0.6)</b>	<b>8 (2.6)</b>	<b>12 (4)</b>	<b>7 (2.3)</b>

Durchschnittliche Punktezahl pro Proband und pro Tag für die Trekkinggruppe 3:

- Gruppe 1: 0.857
- Gruppe 2: 2.114
- Insgesamt: 1.485

**Tabelle 10:** Trekkinggruppe 4 (6 Trekkingtage, 2 Ruhetage auf 3450 m): Symptome, Punktezahl und Behandlung von AMS auf verschiedenen Höhen

Code	Gruppe	Symptome (AMS-Punktezahl) und Behandlung für die Höhe, auf welcher die Nacht verbracht wurde						
		2650	3450	3450	3860	4250	5050	Nacht vor der Blutentnahme
05	2				KS (1)		KS (1)	
					Tachipirina		Tachipirina	
08	1	KS (1)	KS (1)	KS (1)	KS (1)	KS (1)	KS (1)	KS (1)
			SK (1)	SK (1)	S (1)		SK (1)	SK (1)
					SK (1)		EÜ (3)	EÜ (3)
		Aulin	Aulin		Aulin, Nevral		Aulin, Nevral	RD (3)
Punktezahl Gruppe 1 (durchschnittliche Punktezahl pro Proband)		<b>1 (1)</b>	<b>2 (2)</b>	<b>2 (2)</b>	<b>3 (3)</b>	<b>1 (1)</b>	<b>8 (8)</b>	<b>8 (8)</b>
Punktezahl Gruppe 2 (durchschnittliche Punktezahl pro Proband)					<b>1 (1)</b>		<b>1 (1)</b>	

Durchschnittliche Punktezahl pro Proband und pro Tag für die Trekkinggruppe 4:

- Gruppe 1: 3.571
- Gruppe 2: 0.285
- Insgesamt: 1.928

Durchschnittliche Punktezahl pro Tag und pro Proband der Gruppe 1: 2.058

Durchschnittliche Punktezahl pro Tag und pro Proband der Gruppe 2: 1.265

Es gab keine großen Unterschiede in der AMS-Punktezahl zwischen den 4 Trekkinggruppen, aber einen Unterschied zwischen den zwei experimentellen Gruppen (die Punktezahl in der Kontrollgruppe war höher als die in der supplementierten Gruppe).

Die Kontrollgruppe zeigte mehr Symptome der Höhenkrankheit.

### **3. Hämatologische Biochemie**

Zu Beginn der Studie unterschieden sich die Plasmawerte von Vitamin C ( $0.973 \text{ mg/dl} \pm 0.198 \text{ mg/dl}$ ;  $0.805 \text{ mg/dl} \pm 0.135 \text{ mg/dl}$ ) und von Vitamin E ( $1.138 \text{ mg/dl} \pm 0.978 \text{ mg/dl}$ ;  $1.230 \text{ mg/dl} \pm 0.152 \text{ mg/dl}$ ), jeweils für die Gruppe 1 (Placebo) und die Gruppe 2 (suppl.) nicht signifikant voneinander.

**Tabelle 11:** Plasma Vitamin C - Gehalt (mg/dl) der Gruppe 1 (placebo)

Code	Meereshöhe	Große Höhe
04	1.16	1.3
08	0.84	0.83
16	0.73	0.42
17	0.98	0.66
18	1.25	0.92
19	0.88	1
Mittelwerte	0.973	0.855
SD	0.199	0.300

Student's T-test für abhängige Proben:  $P = 0.258$

**Tabelle 12:** Plasma Vitamin E – Gehalt (mg/dl) der Gruppe 1 (placebo)

Code	Meereshöhe	Große Höhe
04	1.14	1.06
08	0.94	0.93
16	1.19	0.98
17	1.09	0.92
18	1.34	1.05
19	1.13	1.01
Mittelwerte	1.138	0.992
SD	0.146	0.059

Student's T-test für abhängige Proben:  $P = 0.027$

**Tabelle 13:** Plasma Vitamin C - Gehalt (mg/dl) der Gruppe 2 (supplementiert)

Code	Meereshöhe	Große Höhe
01	0.84	0.98
03	0.63	0.99
05	0.64	1.28
11	0.88	1.20
12	0.92	1.15
14	0.92	1.07
Mittelwerte	0.805	1.112
SD	0.135	0.120

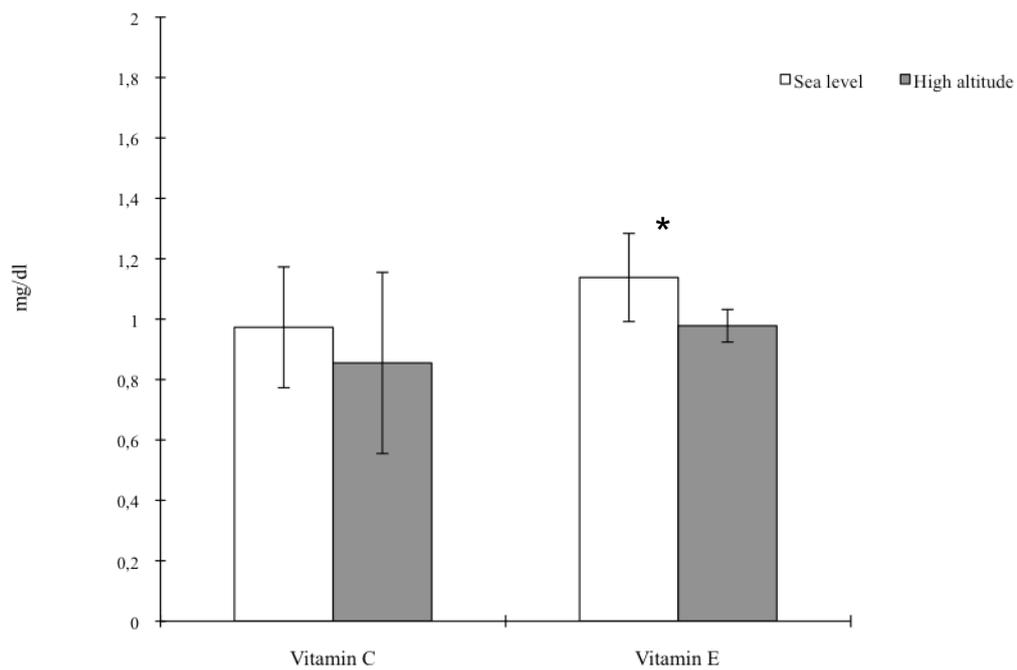
Student's T-test für abhängige Proben:  $P = 0.01$

**Tabelle 14:** Plasma Vitamin E – Gehalt (mg/dl) der Gruppe 2 (supplementiert)

Code	Meereshöhe	Große Höhe
01	1.15	1.48
03	1.22	1.17
05	1.07	1.9
11	1.27	1.25
12	1.16	1.21
14	1.51	1.88
Mittelwerte	1.230	1.482
SD	0.153	0.334

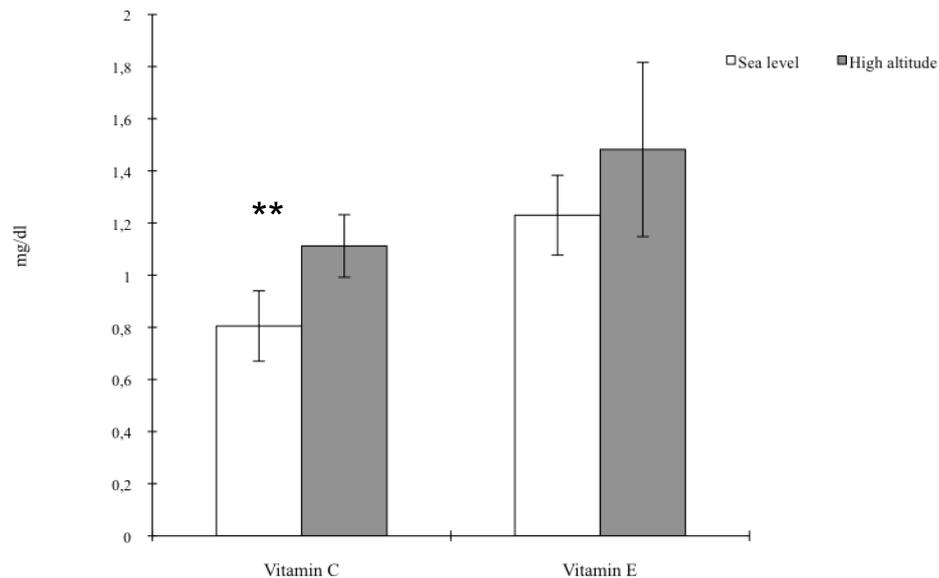
Student's T-test für abhängige Proben:  $P = 0.668$

Die Wirkung der großen Höhe auf die Plasmawerte von Vitamin C und Vitamin E sind in der **Abbildung 3** dargestellt. Die Plasma-Vitamin E-Werte sanken durch die Höhenexposition signifikant ( $P < 0.03$ ), während sich die Plasma Vitamin C-Werte im Vergleich zu den auf Meereshöhe gemessenen Werten nicht veränderten.



**Abb. 3:** Mittlere Plasma-Werte  $\pm$  SD von Vitamin C und Vitamin E auf Meereshöhe und in großer Höhe (Gruppe 1, Placebo); \* $P < 0.05$ .

Wie in **Abbildung 4** ersichtlich ist, hat die Supplementierung mit Vitamin C und Vitamin E dem prooxidativen Effekt der großen Höhe auf die Vitamin E-Werte entgegengewirkt und die Vitamin C-Werte signifikant ( $P < 0.01$ ) erhöht.



**Abb. 4:** Mittlere Plasma-Werte  $\pm$  SD von Vitamin C und Vitamin E auf Meereshöhe und in großer Höhe (Gruppe 2, supplementierte Gruppe); \*\* $P < 0.01$ .

Die in großer Höhe gemessenen Plasma-Vitamin E-Werte waren in der supplementierten Gruppe signifikant höher im Vergleich zur Placebogruppe (1.482 mg/dl vs. 0.978 mg/dl;  $P < 0.01$ ). Die Plasma-Vitamin C-Werte änderten sich in der supplementierten Gruppe im Vergleich zur Placebogruppe nicht (1.112 mg/dl vs. 0.973 mg/dl;  $P < 0.08$ ).

## V. Diskussion

Wenn man sich von der Meereshöhe entfernt, sinkt entsprechend der Höhe der barometrische Druck. Diese Druckreduzierung impliziert eine gleichzeitige Verminderung des Sauerstoffpartialdrucks ( $PO_2$ ) und der Sauerstoffsättigung des Hämoglobins (Hb), welche vom Sauerstoffpartialdruck abhängig ist. Da Hb wichtig für die Verteilung des Sauerstoffs im gesamten Körper ist, kann daraus geschlossen werden, dass die endgültige Folge der Höhenexposition eine Verminderung der Sauerstoffmenge ist, ein Sauerstoffmangel verteilt auf die verschiedenen Gewebe. Diesen Zustand bezeichnet man als Hypoxie.

Höhenexposition (einschließlich Hypoxie in großer Höhe) dient als gutes Modell für längeren oxidativen Stress [LUNDBY et al., 2003], welcher definiert werden könnte als ein Zustand des Ungleichgewichts zwischen Pro-Oxidantien und Antioxidantien zugunsten der ersteren [FÜRST, 1995].

Weil die Probanden dieser Studie die große Höhe zu Fuß erreicht haben (von 2800 m bis 5050 m) war dafür eine beachtliche körperliche Anstrengung erforderlich, was ja den oxidativen Stress noch zu erhöhen scheint [SINHA et al., 2009a; ASKEW 2002].

Wenn der oxidative Stress groß genug ist, die antioxidativen Abwehrsysteme zu überwinden, wird oxidativer Schaden auftreten.

Die Hypothese dieser Studie war, dass eine Supplementierung mit Vitamin E und Vitamin C vor und während der Höhenexposition einen Schutz vor oxidativem Schaden zumindest für die Anfangsphase der akuten Höhenexposition bietet.

Vitamin C steht an vorderster Front der Verteidigung vor oxidativem Stress, indem es als Fänger der in den wässrigen Kompartimenten wie Plasma, Zytosol und anderer Körperflüssigkeiten gebildeten ROS fungiert. Es hat sich gezeigt, dass es fähig ist, fast jede in einem biologischen System gebildete oxidierende Spezies wirksam abzufangen. Das kann sowohl direkt erfolgen, als auch indirekt (synergistisch durch Regenerierung von Vitamin E, indem es das durch Abfangen von Sauerstoffradikalen entstandene Tocopherol-Radikal reduziert).

Vitamin E, ein fettlöslicher Bestandteil der Plasmamembran, ist ein wirkungsvolles Antioxidans, da es sich am Ort der Bildung der freien Radikale befindet und so die toxischen Wirkungen der ROS neutralisieren kann.

In dieser Studie sanken die Plasma-Vitamin E-Werte nach Erreichen der großen Höhe signifikant ( $P < 0.03$ ), die Plasma-Vitamin C-Werte änderten sich nicht. Die Supplementierung mit Vitamin C und Vitamin E wirkte dem prooxidativen Effekt der großen Höhe auf die Vitamin E-Werte entgegen und erhöhte die Plasma-Vitamin C-Werte signifikant ( $P < 0.01$ ). Das Fehlen einer signifikanten Erhöhung der Vitamin E-Werte nach der Supplementierung kann daher kommen, dass die Wirkung der großen Höhe auf Vitamin E ausgeprägter ist als auf Vitamin C.

Die Kontrollgruppe und die supplementierte Gruppe unterschieden sich nicht signifikant in Alter, Größe, Gewicht, BMI und den körperlichen Aktivitäten. Die Nahrungsaufnahme während der Studie wurde durch tägliche semiquantitative Interviews festgestellt und es zeigte sich, dass es zwischen den einzelnen Probanden (und auch Gruppen) keine großen Unterschiede in den konsumierten Nahrungsmitteln gab (wahrscheinlich deshalb, weil ja die Probanden die Nächte auf den verschiedenen Höhen zwar nicht gleichzeitig, aber in denselben Lodges verbracht hatten) und dass die Kost keine Nahrungsmittel enthielt, die reich an Vitamin C, Vitamin E oder anderen Nahrungsantioxidantien war, welche die Wirkung der Supplementierung hätten beeinflussen können. Die tägliche Verabreichung der antioxidantischen Vitamine übte auch keinerlei Wirkung auf den Appetit oder auf die Auswahl der Nahrungsmittel aus, was man an den Interviews erkennen konnte.

Nur sehr wenige Studien haben den Effekt der Antioxidantien untersucht, die meisten davon stimmen mit unseren Beobachtungen überein, dass die Exposition an große Höhe die antioxidativen Schutzmechanismen negativ beeinflusst:

- in der Studie von [SIMON-SCHNASS and PABST, 1988] war eine tägliche Supplementierung mit 400 mg Vitamin E für 4 Monate ausreichend, um die Pentan-Expiration (welche ein indirektes Anzeichen für Lipidperoxidation ist und die durch

die Höhenexposition auf mehr als 100 % angestiegen war) konstant zu halten und so anzuzeigen, dass keine weitere merkliche Lipidperoxidation mehr aufgetreten war.

- [VATS et al., 2008] berichtete von einer signifikanten Senkung der Vitamin C-Werte, der GSH-Werte und des totalen Antioxidantienstatus während der Höhenexposition, wahrscheinlich bedingt durch den erhöhten Bedarf an Antioxidantien (um Lipidperoxide abzufangen). Die Supplementierung entweder mit NAC (400 mg/Tag) oder Vitamin E (400 mg/Tag) schien Schutz vor oxidativem Stress während der anfänglichen Etappen (bis 3600 m) zu bieten. Der geringere Schutz in großer Höhe (4580 m) könnte bedingt sein durch die (zu) niedrige Dosis an Antioxidantien.
- In einer anderen Studie war die Lipidperoxidation unter hypoxischen Bedingungen trotz einer selektiven Mobilisierung von  $\alpha$ -Tocopherol (signifikante Zunahme der Plasmakonzentration) klar ersichtlich. Wenn die Mobilisierung von  $\alpha$ -Tocopherol aus dem Fettgewebe und aus der Leber auch keinen kompletten Schutz bietet, so mag sie doch dazu dienen, den Grad an (durch die freien Radikale in großer Höhe zugefügten) oxidativem Schaden zu begrenzen [BAILEY et al., 2000].
- die Supplementierung von Ratten mit verschiedenen Mischungen von Antioxidantien zu Konzentrationen von 50 IU/kg Körpergewicht (KG) (Vitamin E) und 400 mg/kg KG (Vitamin C und L-Carnitin) vor und während der Exposition an hypobarische Hypoxie war wirksam, um die Erythrozytenhämolyse (welche direkt proportional der Proteinoxidation und der Lipidoxidation ist) zu reduzieren, die Erythrozytenfragilität zu verringern und die TBARS (Thiobarbitursäurereaktive Substanzen, Produkte der Lipidperoxidation) in den Lysaten zu senken. Diese Antioxidantien wirkten synergistisch, um die Zelle vor oxidativem Stress und Schädigung durch freie Radikale zu schützen [VANI et al., 2010].

Trotz der förderlichen Wirkung der Supplementierung mit Antioxidantien, wie man es in verschiedenen Studien gesehen hat, zeigte eine Doppelblindstudie mit 18 männlichen Probanden in großer Höhe (4300 m), welche mit 20000 IU  $\beta$ -Carotin, 400 IU  $\alpha$ -Tocopherolacetat, 500 mg Ascorbinsäure, 100  $\mu$ g Selen und 30 mg Zink, oder mit Placebo supplementiert wurden (für 3 Wochen vor und während einer 14-tägigen Intervention), dass die Ergebnisse dieser Studie die Hypothese, dass antioxidative Supplementierung den oxidativen Stress in großer Höhe vermindern würde, nicht

unterstützten. Die Supplementierung erhöhte den Antioxidantienstatus im Plasma, aber die Daten zeigten keine signifikanten Erhöhungen irgendeines Markers für oxidativen Stress, weiters gab es keine Unterschiede zwischen der Kontrollgruppe und der supplementierten Gruppe [SUBUDHI et al., 2004].

Die antioxidative Verteidigungsmaschinerie ist als Netzwerk organisiert und arbeitet als Ganzes. Der Defekt einer Komponente des Netzwerks kann die Funktion eines anderen Teils beeinflussen (so kann sich ein Vitamin C-Mangel auf die antioxidative Aktivität von Vitamin E auswirken [VIJ et al., 2005]). Deshalb kann die totale antioxidative Kapazität eine größere biologisch relevante Information bieten als jene Information, die man durch das Messen der Konzentrationen einzelner Antioxidantien erhält [GHISELLI et al., 2000]. Deshalb könnte es auch besser sein, Kombinationen an Antioxidantien statt einzelner Antioxidantien zu supplementieren.

Trotz adaptiver Veränderungen können Menschen in großer Höhe Gewebeschäden erleiden und funktionelle Erkrankungen durchmachen, welche man als Höhenkrankheit (acute mountain sickness AMS) bezeichnet.

Unser gegenwärtiges Wissen über AMS ist weit davon entfernt, vollständig zu sein, aber die bisherigen Aussagen deuten an, dass eine verstärkte Produktion an freien Radikalen und/oder ein mangelhaftes antioxidatives System wenigstens zum Teil zur komplexen Pathophysiologie von AMS beitragen können/kann (Bailey et al. 2001).

Ob freie Radikale jedoch ein Grund für das Auftreten oder lediglich eine Folge der Höhenkrankheit ist, muss noch geklärt werden.

In der vorliegenden Studie führte die antioxidative Supplementierung zu geringeren AMS-Punktezahlen (ein Maß für die Schwere der Symptome) im Vergleich zur Placebogruppe.

Die exogene Bereitstellung von wasser- und fettlöslichen Vitaminen in den entsprechenden Dosen könnte demnach ein wirksamer Eingriff sein, um AMS abzuschwächen und das physiologische Profil der Bergsteiger in großen Höhen zu verbessern.

Wenn man aber bedenkt, dass die Probanden wegen logistischer Probleme vor Ort in 4 Trekkinggruppen mit verschiedenen Aufstiegsprofilen (was ja bekanntlich einen Einfluss auf das Auftreten und die Schwere der AMS hat [BURGESS et al., 2004; IMRAY et al., 2010]) aufgeteilt werden mussten und wegen der überaus geringen Anzahl der Probanden pro Trekkinggruppe sind diese Daten nicht aussagekräftig und sollen nicht überbewertet werden, auch wenn es zwischen den 4 Trekkinggruppen keinen Unterschied in der AMS-Punktezahl gab. Außerdem durften die Probanden Medikamente gegen die Symptome der AMS nehmen und so ist es auch nicht möglich, abzuschätzen, ob und wie die AMS-Punktezahlen durch die Medikamenteneinnahme beeinflusst wurden.

Ergebnisse anderer (wirklich sehr weniger) Studien sind widersprüchlich: antioxidative Supplementierung (1000 mg L-Ascorbinsäure, 400 IU dl- $\alpha$ -Tocopherolacetat und 600 mg  $\alpha$ -Liponsäure in einer randomisierten doppel-blinden placebo-kontrollierten Studie mit 18 Probanden) verringerte die Schwere der AMS in einer Studie [BAILEY and DAVIES, 2001], wohingegen eine andere Studie (mit derselben Kombination von Antioxidantien in einer randomisierten doppel-blinden placebo-kontrollierten Studie mit 103 Probanden) zu jeglichem Zeitpunkt in großer Höhe keinen Unterschied in der AMS-Inzidenz oder AMS-Schwere zwischen der supplementierten Gruppe und der Placebogruppe zeigte [BAILLIE et al., 2009].

Alle Studien über AMS zeigen Einschränkungen, welche bei der Interpretation der Ergebnisse berücksichtigt werden müssen: erstens ist die Anfälligkeit für AMS nicht für alle Probanden dieselbe, weiters ist die Beurteilung der AMS abhängig von der subjektiven Berichterstattung der eigenen Symptome eines jeden Probanden.

Es ist wirklich sehr schwer wenn nicht gar unmöglich, Studien betreffend großer Höhe miteinander zu vergleichen, wegen der Unterschiede in der Auswahl und Anzahl der Probanden, in der Art und Dosen der supplementierten Antioxidantien, in der Behandlungs- und Vorbehandlungsdauer, in den Aufstiegsprofilen und der unterschiedlichen Akklimatisierung der Probanden in jeder Höhe und in den Umgebungsbedingungen (erreichte Höhe, Temperatur, UV-Licht-Exposition).

Die vorliegende Studie mit nur 12 Probanden war unzureichend als Folge der logistischen und finanziellen Einschränkungen, die es nicht erlaubt haben, eine größere Anzahl an Teilnehmern mit diesem Aufstiegsprofil untersuchen zu können. Deshalb ist die Evaluierung der Ergebnisse sehr schwierig und diese Studie könnte als eine Pilotstudie für weitere Studien angesehen werden, welche die Rolle von antioxidativer Supplementation bzgl. der Fähigkeit untersuchen, den Bedingungen von oxidativem Stress, dem Menschen in großer Höhe ausgesetzt sind, entgegenzuwirken.

## VI. Schlussbetrachtung

Höhenexposition kann die Leistungsfähigkeit der antioxidativen Systeme stören und durch erhöhte Produktion von ROS zu oxidativen Schäden an Makromolekülen führen. Daten zeigen, dass maßvolle exogene Supplementation mit Antioxidantien eine wirkungsvolle Strategie sein könnte, Schutz vor den negativen Auswirkungen der großen Höhe zu bieten. Das Verstehen der Wirkung der Supplementierung mit Antioxidantien in großer Höhe baut auf die Entschlüsselung der richtigen Kombinationen und Konzentrationen von Antioxidantien auf, welche fähig sind, übermäßigen oxidativen Stress zu kontrollieren, entscheidende Anpassungen an Hypoxie zu ermöglichen und dennoch die physiologische positive Funktion der ROS (so regulieren ROS beispielsweise durch Signalgebung physiologische Prozesse wie Muskelkontraktion, Muskelregeneration und Muskelreparatur oder vermitteln die Stimulation des Glukosetransports) aufrecht zu erhalten [ASKEW 2002; BARBIERI and SESTILI, 2012].

Das sollte alle, die Megadosen an Antioxidantien empfehlen, zum Denken anregen. Es sind nämlich noch weitere und noch gezieltere Studien nötig, um den Nutzen der Supplementierung mit Antioxidantien für Menschen, welche großer Höhe ausgesetzt werden, zu bestätigen.

## VIII. ZUSAMMENFASSUNG

Die Aufrechterhaltung des zellulären Redoxgleichgewichtes wird sehr genau reguliert und ist abhängig vom Sauerstoffpartialdruck. Der verminderte Sauerstoffpartialdruck in großer Höhe führt zu Hypoxie, was zu oxidativem/reduktivem Stress, erhöhter Produktion von reaktiven Sauerstoffspezies und daraus resultierenden hypoxischen Schäden an Fetten, Eiweißen und der DNA führen kann.

Die Hypothese dieser Studie war, dass die Supplementation mit Antioxidantien eine berechtigte Strategie sein könnte, um die Zellen vor hypoxischem Schaden zu schützen. Das Ziel der Studie war es, die Wirkung der Supplementation mit Antioxidantien zu evaluieren und die Wirksamkeit der Supplementation auf die Verhütung der akuten Höhenkrankheit (AMS) zu beurteilen.

12 Probanden wurden willkürlich und doppelblind entweder der Antioxidantien- (Anzahl 6) oder der Kontrollgruppe (Anzahl 6) zugeteilt. Die Antioxidantiengruppe erhielt eine tägliche Dosis von 400 mg dL- $\alpha$  Tocopherolazetat und 200 mg Ascorbinsäure (die Kontrollgruppe erhielt Tabletten desselben äußeren Erscheinungsbildes, Geruchs und Geschmacks) für 14 Tage auf Meereshöhe und während des 5 Tage dauernden Aufstiegs zum italienischen Forschungslabor "Pyramide Ev-K<sub>2</sub>-CNR", welches sich in Nepal auf 5050 m Meereshöhe befindet. Der Plasma-Vitamin C- Gehalt und Plasma-Vitamin E-Gehalt wurden auf Meereshöhe und am Morgen nach Erreichen der großen Höhe untersucht. Während des Trekkings wurden die Probanden einem täglichen Interview unterzogen, um Informationen zur semiquantitativen Nahrungsaufnahme und zu den Symptomen der Höhenkrankheit zu erhalten.

Der Plasma-Vitamin E-Gehalt in der Kontrollgruppe sank signifikant ( $P < 0.03$ ) nach Erreichen der großen Höhe, währenddessen der Plasma-Vitamin C-Gehalt sich im Vergleich zu Meereshöheniveau nicht signifikant veränderte. Die Supplementation mit Vitamin C und Vitamin E wirkte der pro-oxidativen Wirkung der großen Höhe auf den Plasmagehalt an Vitamin E entgegen und erhöhte den Plasmagehalt an Vitamin C signifikant ( $P < 0.01$ ). Die in der großen Höhe gemessenen Plasmavitamingehalte waren für Vitamin E in der supplementierten Gruppe signifikant höher im Vergleich zur Kontrollgruppe (1.482 mg/dl vs. 0.978 mg/dl;  $P < 0.01$ ). Der Anstieg des Plasma-

Vitamin C-Gehaltes der supplementierten Gruppe erreichte keine Signifikanz (1.112 mg/dl vs. 0.973 mg/dl;  $P < 0.08$ ).

Die Supplementation mit Antioxidantien konnte den auf Meereshöhe gemessenen Plasmagehalt wieder herstellen und erhöhen.

Der Grad der Symptome der akuten Höhenkrankheit war in der Kontrollgruppe leicht höher als in der supplementierten Gruppe, was die präventive Wirkung der Supplementation mit Antioxidantien anzeigen könnte.

## VII. Summary

The maintenance of the redox cell balance is finely regulated and depends on the partial pressure of oxygen. The decreased partial pressure of oxygen at high altitude leads to hypoxia which can result in oxidative/reductive stress, enhanced generation of reactive oxygen species (ROS) and related hypoxic damage to lipids, proteins, and DNA.

The hypothesis of the present study was that supplementation with antioxidants would constitute a valid strategy for protecting cells from hypoxic damage.

The aim of the study was to evaluate the effect of antioxidant supplementation on the plasma redox status and to assess the efficacy of antioxidant supplementation for the prevention of acute mountain sickness (AMS).

12 subjects were randomly assigned double-blind to either an antioxidant (n=6) or placebo group (n=6). The antioxidant group received a daily doses of 400 mg of dl- $\alpha$  tocopherol acetate and 200 mg of ascorbic acid (the placebo group ingested capsules of identical external appearance, taste, and smell) for 14 days at sea level and during the 5-day ascent to the Italian Research Laboratory “Pyramid Ev-K<sub>2</sub>-CNR” situated in Nepal at 5050 m above sea level. Plasma levels of vitamin C and vitamin E levels were investigated at sea level and at the first morning after reaching the high altitude quote. During the trekking the subjects were interviewed daily to get information of the semiquantitative food intake and the symptoms of AMS.

Plasma vitamin E levels in the placebo group decreased significantly ( $P < 0.03$ ) after exposure at high altitude, whereas plasma vitamin C levels did not change significantly from base-line values. The supplementation with vitamin C and vitamin E counteracted the prooxidant effect of high altitude on vitamin E levels and significantly increased ( $P < 0.01$ ) plasma vitamin C levels. Plasma vitamin values measured at high altitude were significantly higher for vitamin E in the supplemented group compared to the control (1.482 mg/dl vs. 0.978 mg/dl;  $P < 0.01$ ). The increased plasma levels of Vitamin C did not reach significance in the supplemented group, (1.112 mg/dl vs. 0.973 mg/dl;  $P < 0.08$ ).

Antioxidant supplementation could restore and increase base-line plasma levels.

The AMS score in the placebo group was slightly higher than in the supplemented group which could indicate the preventive effect of antioxidant supplementation.

## IX. References

- AMES B.N.; SHIGENAGA M.K.; HAGEN T.M. (1993): Oxidants, antioxidants, and the degenerative diseases of aging. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90, 7915-7922.
- ARNÉR E.S.J.; HOLMGREN A. (2000): Physiological functions of thioredoxin and thioredoxin reductase. *Eur. J. Biochem.* 267, 612-6109.
- ASKEW E.W. (2002): Work at high altitude and oxidative stress: antioxidant nutrients. *Toxicology* 180, 107-119.
- AUSTIN D. (1998): Gamow bag for acute mountain sickness (letter). *Lancet* 351 (9118), 1815.
- BAILEY D.M. (2004): Ascorbate, Blood-Brain Barrier Function and Acute Mountain Sickness: A Radical Hypothesis. *Wilderness & Environmental Medicine* 15 (3), 231-233.
- BAILEY D.M.; AINSLIE P.N.; JACKSON S.K.; RICHARDSON R.S.; GHATEI M. (2004): Evidence against redox regulation of energy homeostasis in humans at high altitude. *Clinical Science* 107, 589-600.
- BAILEY D.M.; DAVIES B.; DAVISON G.W.; YOUNG I.S. (2000): Oxidatively stressed out at high-altitude! *International society for Mountain Medicine Newsletter* 10(4), 3-13.
- BAILEY D.M.; DAVIES B. (2001): Acute mountain sickness; prophylactic benefits of antioxidant vitamin supplementation at high altitude. *High Altitude Medicine & Biology* 2(1), 21-29
- BAILEY D.M.; KLEGER G.; HOLZGRAEFE M.; BALLMER P.E.; BÄRTSCH P. (2003): Pathophysiological significance of peroxidative stress, neuronal damage, and membrane permeability in acute mountain sickness. *J Appl Physiol* 96, 1459-1463.
- BAILLIE J.K.; THOMPSON A.A.R.; IRVING J.B.; BATES M.G.D.; SUTHERLAND A.I.; MacNEE W.; MAXWELL S.R.J.; WEBB D.J. (2009): Oral antioxidant supplementation does not prevent acute mountain sickness: double blind, randomized placebo-controlled trial. *Q J Med* 102, 341-348.

- BAKONYI T.; RADAK Z. (2004): High altitude and free radicals. *Journal of Sports Science and Medicine* 3, 64-69.
- BANERJEE A.K.; MANDAL A.; CHANDA D.; CHAKRABORTI S. (2003): Oxidant, antioxidant and physical exercise. *Molecular and Cellular Biochemistry* 253, 307-312.
- BARBIERI E.; SESTILI P. (2012): Reactive Oxygen Species in Skeletal Muscle Signaling. *Journal of Signal Transduction* 2012, 1-17.
- BARHWAL K.; SINGH S.B.; HOTA S.K.; JAYALAKSHMI K.; ILAVAZHAGAN G. (2007): Acetyl-L-Carnitine ameliorates hypobaric hypoxic impairment and spatial memory deficits in rats. *European Journal of Pharmacology* 570, 97-107.
- BASNYAT B.; MURDOCH D.R. (2003): High-altitude Illness. *Lancet* 361, 1967-1974.
- BASNYAT B.; SUBEDI D.; SLEGGES J.; LEMASTER J.; BHASYAL G.; ARYAL B.; SUBEDI N. (2000): Disoriented and ataxic pilgrims: an epidemiological study of acute mountain sickness and high-altitude cerebral edema at a sacred lake at 4300 m in the Nepal Himalayas. *Wilderness and Environmental Medicine* 11, 89-93.
- BASU C.K.; SELVAMURTHY W.; BHAUMICK G.; GAUTAM R.K.; SAWHNEY R.C. (1996): Respiratory Changes During Initial Days of Acclimatization to Increasing Altitudes. *Aviation, Space; and Environmental Medicine* 67 (1), 40-45.
- BODEA F.; BOCEA A.; DECEA N. (2010): L-carnitine decreases oxidative stress induced by experimental hypobaric hypoxia. *Pediatric Endocrinology, Diabetes and Metabolism* 16 (2), 78-81.
- BURGESS K.R.; JOHNSON P.; EDWARDS N.; COOPER J. (2004): Acute mountain sickness is associated with sleep desaturation at high altitude. *Respirology* 9, 485-492.
- CASTRO L.; FREEMAN B.A. (2001): Reactive Oxygen Species in Human Health and Disease. *Nutrition* 17, 161-165.
- CHEESEMAN K.H.; SLATER T.F. (1993): An introduction to free radical biochemistry. *British Medical Bulletin* 49 (3), 481-493.

- CHOW T.; BROWNE V.; HEILESON H.L.; WALLACE D.; ANHOLM J.; GREEN S.M. (2005): Ginkgo biloba and Acetazolamide Prophylaxis for Acute Mountain Sickness. *Arch Intern Med* 165, 296-301.
- CLARKSON P.M.; Thompson H.S. (2000): Antioxidants: what role do they play in physical activity and health? *Am J Clin Nutr* 72 (suppl), 637S-646S.
- COGO A.; LEGNANI D.; ALLEGRA L. (1997): Respiratory Function at Different Altitudes. *Respiration* 64, 416-421.
- COOMBES J.S.; POWERS S.K.; ROWELL B.; HAMILTON K.L.; DODD S.L.; SHANRLY R.A.; SEN C.K. PACKER L. (2001): Effects of vitamin E and  $\alpha$ -lipoic acid on skeletal muscle contractile properties. *J Appl Physiol* 90, 1424-1430.
- DHAR P.; TAYADE A.B.; BAJPAI P.K.; SHARMA V.K.; DAS S.K.; CHAURASIA O.P.; SRIVASTAVA R.B.; SINGH S.B. (2012): Antioxidant Capacities and Total Polyphenol Contents of Hydro-ethanolic Extract of Phytococktail from Trans-Himalaya. *Journal of Food Science* 77 (2), C156-C161.
- DOSEK A.; OHNO H.; ACS Z.; TAYLOR A.W.; RADAK Z. (2007): High altitude and oxidative stress. *Respiratory Physiology & Neurobiology* 158, 128-131
- DREHER D.; JUNOD A.F. (1996): Role of Oxygen Free Radicals in Cancer Development. *European Journal of Cancer* 32A (1), 30-38.
- DROMA Y.; HANAOKA M.; OTA M.; KATSUYAMA Y.; KOIZUMI T.; FUJIMOTO K.; KOBAYASHI T.; KUBO K. (2002): Positive Association of the Endothelial Nitric Oxide Synthase Gene Polymorphisms With High-Altitude Pulmonary Edema. *Circulation* 106, 826-830.
- FEISSNER R.F.; SKALSKA J.; GAUM W.E.; SHEU S.-S. (2009): Crosstalk signaling between mitochondrial  $Ca^{2+}$  and ROS. *Front Biosci* 14, 1197-1218.
- FÖLDES-PAPP Z.; DOMEJ W.; DEMEL U.; TILZ G.P. (2005): Oxidative stress caused by acute and chronic exposition to altitude. *Wien Med Wochenschr* 155/7-8, 136-142.
- FREEMAN B.A.; CRAPO J.D. (1982): Biology of Disease. Free Radicals and Tissue Injury. *Lab Invest* 47 (5), 412-425.

- FÜRST P. (1996): The role of antioxidants in nutritional support. *Proceedings of the Nutrition Society* 55, 945-961.
- GALLAGHER S.A.; HACKETT P.H. (2004)\_ High-altitude illness. *Emerg Med Clin N Am* 22, 329-355.
- GERTSCH J.H.; BASNYAT B.; JOHNSON E.W.; ONOPA J. (2004): Randomised, double blind, placebo controlled comparison of ginkgo biloba and acetazolamide for prevention of acute mountain sickness among Himalayan trekkers: the prevention of high altitude illness trial (PHAIT). *BMJ* 328, 797-801.
- GERTSCH J.H.; SETO T.B.; MOR J.; ONOPA J. (2002): Ginkgo biloba for the prevention of Severe Acute Mountain Sickness (AMS) Starting One Day before Rapid Ascent. *High altitude Medicine & Biology* 3 (1), 29-39.
- GHISELLI A.; SERAFINI M.; NATELLA F.; SCACCINI C. (2000): Total antioxidant capacity as a tool to assess redox status: critical view and experimental data. *Free Radical Biology & Medicine* 29 (11), 1106-1114.
- HACKETT P.H.; ROACH R.C. (2001): High –Altitude Illness. *N Engl J Med* 345 (2), 107-114.
- HACKETT P.H.; ROACH R.C. (2004): High Altitude Cerebral Edema. *High altitude Medicine & Biology* 5 (2), 136-146.
- HALLIWELL B. (1994): Free Radicals and Antioxidants: A Personal View. *Nutrition Reviews* 52 (8), 253-265.
- HALLIWELL B.; GUTTERIDGE J.M.C. (1990): The Antioxidants of Human Extracellular Fluids. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 280 (1), 1-8.
- HALLIWELL B.; GUTTERIDGE J.M.; CROSS C.E. (1992): Free radicals, antioxidants, and human disease: where are we now? *J Lab Clin Med* 119 (6), 598-620.
- HEINICKE I.; BOEHLER A.; RECHSTEINER T.; BOGDANOVA A.; JELKMANN W.; HOFER M.; RAWLINGS P.; ARANEDA O.F.; BEHN C.; GASSMANN M.; HEINICKE K. (2009): Moderate altitude but not additional endurance training increases markers of oxidative stress in exhaled breath condensate. *Eur J Appl Physiol* 106, 599-604.

- HILDEBRANDT W.; OTTENBACHER A.; SCHUSTER M.; SWENSON E.R.; BÄRTSCH P. (2000): Diuretic effect of hypoxia, hypocapnia, and hyperpnea in humans: relation to hormones and O<sub>2</sub> chemosensitivity. *J Appl Physiol* 88, 599-610.
- HOOPER D.C.; SPITSIN S.; KEAN R.B.; CHAMPION J.M.; DICKSON G.M.; CHAUDHRY I. (1998): Uric acid, a natural scavenger of peroxynitrite, in experimental allergic encephalomyelitis and multiple sclerosis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 95, 675-680.
- IMRAY C.; WRIGHT A.; SUBUDHI A.; ROACH R. (2010): Acute Mountain Sickness: Pathophysiology, Prevention, and Treatment. *Progress in Cardiovascular Diseases* 52, 467-484.
- JACOB R.A.; BURRI B.J. (1996): Oxidative damage and defense. *Am J Clin Nutr* 63, 985S-990S.
- JAESCHKE H. (1995): Mechanisms of Oxidant Stress-Induced Acute Tissue Injury. *P.S.E.B.M.* 209, 104-111.
- JAYALAKSHMI K.; SINGH S.S.; KALPANA B.; SAIRAM M.; MUTHURAJU S.; ILAVAZHAGAN G. (2007): N-acetyl cysteine supplementation prevents impairment of spatial working memory functions in rats following exposure to hypobaric hypoxia. *Physiology & Behavior* 92, 643-650.
- JOANNY P.; STEINBERG J.; ROBACH P.; RICHALET J.P.; GORTAN C.; GRADETTE B.; JAMMES Y. (2001): Operation Everest III: the effect of simulated severe hypobaric hypoxia on blood lipid peroxidation and antioxidant defence systems in human blood at rest and after maximal exercise. *Resuscitation* 49, 307-314.
- JONES D.P. (1985): The role of oxygen concentration in oxidative stress: Hypoxic and hyperoxic models. In: *Oxidative Stress* (Sies, H., ed.), 151-195, Academic Press, London; England.
- KAMIMORI G.H.; RYAN E.J.; OTTERSTETTER R.; BARKLEY J.E.; GLICKMAN E.L.; DAVIS H.Q. (2009): Catecholamine Levels in Hypoxia-Induces Acute Mountain Sickness. *Aviation, Space, and Environmental Medicine* 80 (4), 376-380.

- KANTER M.M.; NOLTE L.A.; HOLLOSZY J.O. (1993): Effects of an antioxidant vitamin mixture on lipid peroxidation at rest and postexercise. *J. Appl. Physiol.* 74 (2), 965-969.
- KAYSER B. (1992): Nutrition and High Altitude Exposure. *Int J Sports Med* 13 (1), S129-S132.
- KHAN S.; O'BRIEN P.J. (1995): Modulating hypoxia-induced hepatocyte injury by affecting intracellular redox state. *Biochimica et Biophysica Acta* 1269, 153-161.
- KHANNA S.; ATALAY M.; LAAKSONEN D.E.; GUL M.; ROY S.; SEN C.K. (1999):  $\alpha$ -Lipoic acid supplementation: tissue glutathione homeostasis at rest and after exercise. *J Appl Physiol* 86, 1191-1196.
- KLEGER G.-R.; BÄRTSCH P.; VOCK P.; HEILIG B.; ROBERTS L.J.; BALLMER P.E. (1996): Evidence against an increase in capillar permeability in subjects exposed to high altitude. *J. Appl. Physiol.* 81 (5), 1917-1923.
- KRINSKY N.I. (1992): Mechanism of Action of Biological Antioxidants. *Proc Soc Exp Biol Med* 200, 248-254.
- LANFRANCHI P.A.; COLOMBO R.; CREMONA G.; BADERNA P.; SPAGNOLATTI L.; MAZZUERO G.; WAGNER P.; PERINI L.; WAGNER H.; CAVALLARO C.; GIANNUZZI P. (2005): Autonomic cardiovascular regulation in subjects with acute mountain sickness. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 289, H2364-H2372.
- LARSEN J.J.; HANSEN J.M.; OLSEN N.V.; GALBO H.; DELA F. (1997): The effect of altitude hypoxia on glucose homeostasis in men. *The Journal of Physiology* 504 (1), 241-249.
- LEADBETTER G.; KEYES L.E.; MAAKESTAD K.M.; OLSON S.; TISSOT VAN PATOT M.C.; HACKETT P.H. (2009): Ginkgo biloba Does- and Does Not -Prevent Acute Mountain Sickness. *Wilderness and Environmental Medicine* 20, 66-71
- LEKHI C.; GUPTA P.H.; SINGH B. (2007): Influence of exercise on oxidant stress products in elite Indian cyclists. *Br J Sports Med* 41, 691-693.
- LIU J.; LEE T.; CHEN C.; BAGIM D.L.; CHEUNG P. (2010): N-Acetylcysteine Improves Hemodynamics and Reduces Oxidative Stress in the

Brains of Newborn Piglets with Hypoxia-Reoxygenation Injury. *Journal of Neurotrauma* 27, 1865-1873.

- LIU J.; YEO H.C.; ÖVERVIK-DOUKI E.; HAGEN T.; DONIGER S.J.; CHU D.W.; BROOKS G.A.; AMES B.N. (2000): Chronically and acutely exercised rats: biomarkers of oxidative stress and endogenous antioxidants. *J Appl Physiol* 89, 21-28.
- LOEPPKY J.A.; ICENOGLE M.V.; MAES D.; RIBONI K.; HINGHOFER-SZALKAY H.; ROACH R.C. (2005): Early fluid retention and severe acute mountain sickness. *J Appl Physiol* 98, 591-597.
- LUNDBY C.; PILEGAARD H.; VAN HALL G.; SANDER M.; CALBET J.; LOFT S.; MØLLER P. (2003): Oxidative DNA damage and repair in skeletal muscle of humans exposed to high-altitude hypoxia. *Toxicology* 192, 229-236.
- MACHLIN L. J.; BENDICH A. (1987): Free radical tissue damage: protective role of antioxidant nutrients. *FASEB J* 1, 441-445.
- MAGALHÃES J.; ASCENSÃO A., MARQUES F.; SOARES J.M.C.; FERREIRA R.; NEUPARTH M.J.; DUARTE J.A. (2005): Effect of a high-altitude expedition to a Himalayan peak (Pumori, 7,161m) on plasma and erythrocyte antioxidant profile. *Eur J Appl Physiol* 93, 726-732.
- MAGALHÃES J.; ASCENSÃO A., VISCOR G.; SOARES J.; OLIVIEIRA J.; MARQUES F.; DUARTE J. (2004): Oxidative Stress in Humans During and After 4 Hours of Hypoxia at a Simulated Altitude of 5500 m. *Aviat Space Environ Med* 75, 16-22
- MAGGIORINI M.; MÉLOT C.; PIERRE S.; PFEIFFER F.; GREVE I.; SARTORI C.; LEPORI M.; HAUSER M.; SCHERRER U.; NAEIJE R. (2001): High-Altitude Pulmonary Edema Is Initially Caused by an Increase in Capillary Pressure. *Circulation* 103, 2078-2083.
- MAIANI G.; PAPPALARDO G.; FERRO-LUZZI A.; RAGUZZINI A.; AZZINI E.; GUADALAXARA A.; TRIFERO M.; FROMMEL T.; MOBARHAN S. (1995): Accumulation of  $\beta$ -Carotene in Normal Colorectal Mucosa and Colonic Neoplastic Lesions in Humans. *Nutr Cancer* 24, 23-31.
- MAIRBÄURL H. (1994): Red Blood Cell Function in Hypoxia at Altitude and Exercise. *Int J Sports Med* 15 (2), 51-63.

- MAIRBÄURL H.; SCHOBERSBERGER W.; OELZ O.; BÄRTSCH P.; ECKARDT K.U.; BAUER C. (1990): Unchanged in vivo P50 at high altitude despite decreased erythrocyte age and elevated 2,3-diphosphoglycerate. *J. Appl. Physiol.* 68 (3), 1186-1194.
- MANI A.; ROBERTS J.M. (1997): Increased Xanthine Oxidase During Labour-Implications for Oxidative Stress. *Placenta* 18, 725-726.
- MARIGGIÒ M.A.; FALONE S.; MORABITO C.; GUARNIERI S.; MIRABILIO A.; PILLA R.; BUCCIARELLI T.; VERRATTI V.; AMICARELLI F. (2010): Peripheral Blood Lymphocytes: A Model for Monitoring Physiological Adaptation to High Altitude. *High altitude Medicine & Biology* 11 (4), 333-342.
- MASTALOUDIS A.; MORROW J.D.; HOPKINS D.W.; DEVARAJ S.; TRABER M.G. (2004): Antioxidant supplementation prevents exercise-induced lipid peroxidation, but not inflammation, in ultramarathon runners. *High altitude Medicine & Biology* 36 (10), 1329-1341.
- MAXWELL S.R.J.; JAKEMAN P.; THOMASON H.; LEGUEN c.; THORPE G.H.G. (1993): Changes in plasma antioxidant status during eccentric exercise and the effect of vitamin supplementation. *Free Rad. Res. Comms.* 19 (3), 191-202.
- MICHIELS C.; RAES M.; TOUSSAINT O.; REMACLE J. (1994): Importance of Se-glutathione peroxidase, catalase and Cu/Zn-SOD for cell survival against oxidative stress. *Free Radical Biology and Medicine* 17 (3), 235-248.
- MØLLER P.; LOFT S.; LUNDBY C.; OLSEN N.V. (2001): Acute hypoxia and hypoxic exercise induce DNA strand breaks and oxidative DNA damage in humans. *FASEB J.* 15, 1181-1186.
- MONGE C.; LEÓN-VELARDE F. (1991): Physiological Adaptation to High Altitude: Oxygen Transport in Mammals and Birds. *Physiological Reviews* 71 (4), 1135-1150.
- MORAND C.; CRESPIY V.; MANACH C.; BESSON C.; DEMIGNÉ C.; RÉMÉSY C. (1998): Plasma metabolites of quercetin and their antioxidant properties. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 275, R212-R219.

- NAKAMURA H.; NAKAMURA K.; YODOI J. (1997): Redox Regulation of Cellular Activation. *Annu. Rev. Immunol.* 15, 351-369.
- NAKANISHI K.; TAJIMA F.; OSADA H.; NAKAMURA A.; YAGURA S.; KAWAI T.; SUZUKI M.; TORIKATA C. (1996): Pulmonary, Vascular Responses in Rats Exposed to Chronic Hypobaric Hypoxia at Two Different Altitude Levels. *Path. Res. Pract.* 192, 1057-1067.
- OMAYE S.T.; TURNBULL J.D.; SAUBERLICH H.E. (1979): Selected methods for the determination of ascorbic acid in animal cells, tissues and fluids. *Methods Enzymol.* 62, 3-25.
- OVERVAD K.; DIAMANT B.; HOLM L.; HØLMER G.; MORTENSEN S.A.; STENDER S. (1999): Coenzyme Q<sub>10</sub> in health and disease. *European Journal of Clinical Nutrition* 53, 764-770.
- PAIVA S.A.R.; RUSSELL R.M. (1999):  $\beta$ -Carotene and Other Carotenoids as Antioxidants. *Journal of the American College of Nutrition* 18 (5), 426-433.
- RAUTALAHTI M.; HUTTUNEN J. (1994): Antioxidants and Carcinogenesis. *Annals of Medicine* 26 (6), 435-441.
- RICHALET J.-P.; HORNYCH A.; RATHAT C.; AUMONT J.; LARMIGNAT P.; RÉMY P. (1991): Plasma prostaglandins, leukotrienes and thromboxane in acute high altitude hypoxia. *Respiration Physiology* 85, 205-215.
- RI-LI G.; CHASE P.J.; WITKOWSKI S.; WYRICK B.L.; STONE J.A.; LEVINE B.D.; BABB T.G. (2003): Obesity: associations with acute mountain sickness. *Annals of Internal Medicine* 139 (4), 253-257.
- ROACH R.C.; HACKETT P.H. (2001): Frontiers of hypoxia research: acute mountain sickness. *The Journal of Experimental Biology* 201, 3161-3170.
- ROACH R.C.; MAES D.; SANDOVAL D.; ROBERGS R.A.; ICENOGLE M.; HINGHOFER-SZALKAY H.; LIUM D.; LOEPPKY J.A. (2000): Exercise exacerbates acute mountain sickness at simulated high altitude. *J Appl Physiol* 88, 581-585.
- ROCHE E.; ROMERO-ALVIRA D. (1994): Role of Oxygen Free Radicals in Altitude-related Disorders. *Medical Hypotheses* 42, 105-109.

- ROCK C.L.; JACOB R.A.; BOWEN P.E. (1996): Update on the Biological Characteristics of the Antioxidant Micronutrients: Vitamin C, Vitamin E, and the Carotenoids. *Journal of the American Dietetic Association* 96 (7), 693-702.
- RONCIN J.P.; SCHWATZ F.; D'ARBIGNY P. (1996): EGb 761 in control of acute mountain sickness and vascular reactivity to cold exposure. *Aviat Space Environ Med* 67 (5), 445-452.
- ROY S.; PACKER L. (1998): Redox regulation of cell functions by  $\alpha$ -lipoate: biochemical and molecular aspects. *BioFactors* 7, 263-267.
- SACHECK J.M.; BLUMBERG J.B. (2001): Role of Vitamin E and Oxidative Stress in Exercise. *Nutrition* 17, 809-814.
- SACHECK J.M.; MILBURY P.E.; CANNON J.G.; ROUBENOFF R.; BLUMBERG J.B. (2003): Effect of vitamin E and eccentric exercise on selected biomarkers of oxidative stress in young and elderly men. *Free Radical Biology & Medicine* 34 (12), 1575-1588.
- SAMAJA M.; MARIANI C.; PRESTINI A.; CERRETELLI P. (1997): Acid-base balance and O<sub>2</sub> transport at high altitude. *Acta Physiol scand* 159, 249-256.
- SAVOUREY G.; GARCIA N.; BESNARD Y.; GUINET A.; HANNIQUET A.; BITTEL j. (1996): Pre-adaptation, adaptation and de-adaptation to high altitude in humans: cardio-ventilatory and haematological changes. *Eur J Appl Physiol* 73, 529-535.
- SAWKA M.N.; YOUNG A.J.; ROCK P.B.; LYONS T.P.; BOUSHEL R.; FREUND B.J.; MUZA S.R.; CYMERMAN A.; DENNIS R.C.; PANDOLF K.B.; VALERI C.R. (1996): Altitude acclimatization and blood volume: effects of exogenous erythrocyte volume expansion. *J. Appl. Physiol.* 81 (2), 636-642.
- SCHERRER U.; VOLLENWEIDER L.; DELABAYS A.; SAVCIC M.; EICHENBERGER U.; KLEGER G.; FIRKLE A.; BALLMER P. E.; NICOD P.; BÄRTSCH P. (1996): Inhaled Nitric Oxide for High-Altitude Pulmonary Edema. *N Engl J Med* 334, 624-629.
- SCHOENE R. B. (2001): Limits of human lung function at high altitude. *The Journal of Experimental Biology* 204, 3121-3127.
- SEN C. K. (1995): Oxidants and antioxidants in exercise. *J Appl Physiol* 79, 675-686.

- Sen C.K. (1998): Redox Signaling and the Emerging Therapeutic Potential of Thiol Antioxidants. *Biochemical Pharmacology* 55, 1747-1758.
- SEN C.K.; PACKER L. (2000): Thiol homeostasis and supplements in physical exercise. *Am J Clin Nutr* 72 (suppl), 653S-669S.
- SEN C.K.; ROY S.; HAN D.; PACKER L. (1997): Regulation of cellular thiols in human lymphocytes by  $\alpha$ -lipoic acid: a flow cytometric analysis. *Free Radical Biology & Medicine* 22 (7), 1241-1257.
- SIES H. (1985): Oxidative Stress: Introductory Remarks. In: *Oxidative stress*. Academic press Inc., London, 1-8.
- SILBERNAGI S.; DESPOPOULOS A. (1991): Atmung. In: *Taschenatlas der Physiologie*. Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 78-109.
- SIMON-SCHNASS I. M. (1992): Nutrition at High ALtitude. *J. Nutr.* 122, 778-781.
- SIMON-SCHNASS I.; KORNISZEWSKI L. (1990): The Influence of Vitamin E on Rheological Parameters in High Altitude Mountaineers. *Internat. J. Vit. Nutr. Res.* 60, 26-34.
- SIMON-SCHNASS I.; PABST H. (1988): Influence of Vitamin E on Physical Performance. *Internat. J. Nutr. Res.* 58, 49-54.
- SINHA S.; RAY U.S.; SAHA M.; SINGH S.N.; TOMAR O.S. (2009a): Antioxidant and redox status after maximal aerobic exercise at high altitude in acclimatized lowlanders and native highlanders. *Eur J Appl Physiol* 106, 807-814.
- SINHA S.; SINGH S.N.; RAY U.S. (2009b): Total Antioxidant Status at High Altitude in Lowlanders and Native Highlanders: Role of Uric Acid. *High Altitude Medicine & Biology* 10 (3), 269-275.
- SINHA S.; SINGH S.N.; SAHA M.; KAIN T.C.; TYAGI A.K.; RAY U.S. (2010): Antioxidant and oxidative stress responses of sojourners at high altitude in different climatic temperatures. *Int J Biometeorol* 54, 85-92.
- STACEWICS-SAPUNTZAKIS M.; BOWEN P.E.; KIKENDELL J.W.; BURGESS M. (1987): Simultaneous determination of serum retinoland various carotenoids: Their distribution in middle-aged men and women. *J. Micronut. Anal.* 3, 27-45.

- STUEHR D.J.; KWON N.S.; NATHAN C.F.; GRIFFITH O.W.; FELDMAN P.L.; WISEMAN J. (1991): N<sup>o</sup>-Hydroxy-L-arginine is an Intermediate in the Biosynthesis of Nitric Oxide from L-Arginine. *The Journal of Biological Chemistry* 266 (10), 6259-6263.
- SUBUDHI A.W.; JACOBS K.A.; HAGOBIAN T.A.; FATTOR J.A.; FULCO C.S.; MUZA S.R.; ROCK P.B.; HOFFMAN A.R.; CYMERMAN A.; FRIEDLANDER A.L. (2004): Antioxidant Supplementation Does Not Attenuate Oxidative Stress at High Altitude. *Aviation, Space, and Environmental Medicine* 75 (10), 881-888.
- SWENSON E.R.; DUNCAN T.B.; GOLDBERG S.V.; RAMIREZ G.; AHMAD S.; SCHOENE R.B. (1995): Diuretic effect of acute hypoxia in humans: relationship to hypoxic ventilator responsiveness and renal hormones. *J. Appl. Physiol.* 78 (2), 377-383.
- TAMURA T.; STADTMAN T.C. (1996): A new selenoprotein from human lung adenocarcinoma cells: Purification, properties, and thioredoxin reductase activity. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 93, 1006-1011.
- TISSOT VAN PATOT M.C.; KEYES L.E.; LEADBETTER G.; HACKETT P.H. (2009): Gingko biloba for Prevention of Acute Mountain Sickness: Does It Work? *High Altitude Medicine & Biology* 10 (1), 33-43.
- VALLI G.; BONARDI D.; CAMPIGOTTO F.; FASANO V.; GENNARI A.; POMIDORI L.; COGO A.; PALANGE P. (2008): Relationship between individual ventilatory response and acute renal water excretion at high altitude. *Respiratory Physiology & Neurobiology* 162, 103-108.
- VANI R.; REDDY C.S.S.S.; DEVI S.A. (2010): Oxidative stress in erythrocytes: a study on the effect of antioxidant mixtures during intermittent exposures to high altitude. *Int J Biometeorol* 54, 553-562.
- VATS P.; SINGH V. K.; SINGH S.N.; SINGH S.B. (2008): Glutathione Metabolism Under High-Altitude Stress and Effect of Antioxidant Supplementation. *Aviation, Space, and Environmental Medicine* 79 (12), 1106-1111.

- VENDITTI P.; DI MEO S. (1996): Antioxidants, Tissue Damage, and Endurance in Trained and Untrained Young Male Rats. *Archive of Biochemistry and Biophysics* 331 (1), 63-68.
- VIITALA P.E.; NEWHOUSE I.J.; LAVOIE N.; GOTTARDO C. (2004): The effects of antioxidant vitamin supplementation on resistance exercise induced lipid peroxidation in trained and untrained participants. *Lipids in Health and Disease* 3 (4), 1-9.
- VIJ A.G.; DUTTA R.; SATIJA N.K. (2005): Acclimatization to Oxidative Stress at High Altitude. *High Altitude Medicine & Biology* 6 (4), 301-311.
- WARING W.S. (2002): Uric acid: an important antioxidant in acute ischaemic stroke. *Q J Med* 95, 691-693.
- WESTERTERP K.R.; ROBACH P.; WOUTERS L.; RICHALET J. (1996): Water balance and acute mountain sickness before and after arrival at high altitude of 4,350 m. *J. Appl. Physiol.* 80 (6), 1968-1972.
- WITT E.H.; REZNICK A.Z.; VIGUIE C.A.; STARKE-REED P.; PACKER L. (1992): Exercise, Oxidative Damage and Effects of Antioxidant Manipulation. *J Nutr* 122, 766-773.
- YOSHIKAWA T.; FURUKAWA Y.; WAKAMATSU Y.; TAKEMURA S.; TANAKA H.; KONDO M. (1982): Experimental Hypoxia and Lipid Peroxide in Rats. *Biochemical Medicine* 27, 207-213.
- ZAFARULLAH M.; LI W.Q.; SYLVESTER J.; AHMAD M. (2003): Molecular mechanisms of N-acetylcysteine actions. *Cellular and Molecular Life Sciences* 60, 6-20.
- ZAFREN K. (1998): Gamow bag for high-altitude cerebral oedema (letter). *Lancet* 352 (9124), 325-326.
- ZHONG L.; ARNÉR E.S.J.; HOLMGREN A. (2000): Structure and mechanism of mammalian thioredoxin reductase: The active site is a redox-active selenolthiol/selenenylsulfide formed from the conserved cysteine-selenocysteine sequence. *PNAS* 97 (11), 5854-5859.
- ZHOU J.; ZHOU S.; GAO Y.; ZENG S. (2012): Modulatory effects of quercetin on hypobaric rats. *European Journal of Pharmacology* 674, 450-454.

## **X. Danksagung**

Mein erster Dank gilt all jenen, die mich während meines gesamten Studiums und beim Schreiben dieser Arbeit auf verschiedenste Weise unterstützt haben: vor allem meiner Familie, meinen Eltern, Geschwistern mit Partnern, meinem Mann, meinen Kindern, all meinen Freunden und meinen Studienkollegen. Vielen Dank! Ohne Euch hätte ich es nicht geschafft!

Weiters möchte ich dem Univ.-Prof. Dr. Ibrahim Elmadfa danken, der den Kontakt zu Frau Prof. Anna Ferro-Luzzi hergestellt und es mir somit ermöglicht hat, an dieser überaus interessanten Studie mitzuarbeiten. Ein Dank an dieser Stelle allen Mitarbeitern des Nationalen Institutes für Nahrung und Ernährung in Rom, die mich herzlich aufgenommen und mich bei meiner Arbeit unterstützt haben, allen voran meinem Betreuer vor Ort, Herrn Prof. Dr. Mauro Serafini! Grazie Mauro!

Ganz besonders danken möchte ich auch Herrn Univ.-Prof. Dr. Jürgen König für die Bereitschaft, meine Diplomarbeit zu übernehmen und zu betreuen. Für all seine Unterstützung, sein Verständnis, seine Motivation und Entgegenkommen ein herzliches Dankeschön!



## XI. Lebenslauf

Name:	Barbara Hofmann	
Geburtsdatum:	03.01.1973	
Geburtsort:	Innichen (Südtirol)	
Staatsangehörigkeit:	Italien	
Familienstand:	verheiratet, 2 Kinder	
Schulbildung:	1979-1984	Volksschule Innichen
	1984-1987	Mittelschule Innichen
	1987-1992	Realgymnasium Bruneck (Südtirol)
Studium:	1992-dato	Diplomstudium Ernährungswissenschaften, Wahlschwerpunkt Lebensmittelproduktion und Lebensmitteltechnologie, Universität Wien
	03/1995	1. Diplomprüfung
	1998-1999	Auslandsaufenthalt, Diplomarbeit am Nationalen Institut für Ernährung, Rom
	1992-2002	Musikstudium am Konservatorium der Stadt Wien, Fach Querflöte, IGP und Konzertfach
	1998	Staatliche Lehrbefähigungsprüfung (Querflöte)
	2002	Konzertfachdiplom (Querflöte)
Berufserfahrung:	07-09/1996	Ferialpraktikum Firma Senfter AG, Innichen, fleischverarbeitender Betrieb
	07/1999	Ferialpraktikum am Institut für Ernährungs- wissenschaften, Universität Wien
	02/2000	Ferialpraktikum Firma Milkon, Bruneck, milchverarbeitender Betrieb
	2001-2004	Querflötelehrerin Musikschule Bad Fischau (NÖ)

2003-dato	Querflötelehrerin Musikschule Sillian - Pustertal (Osttirol)
2004-2005	Querflötelehrerin Musikschule Bruneck
2005-dato	Querflötelehrerin Musikschule Oberes Pustertal (Südtirol)

Fremdsprachen: Italienisch, Englisch