

M. Simkó\*, A. Gzásó,  
U. Fiedeler, M. Nentwich

## Zusammenfassung

Freie Radikale sind instabile Atome oder Moleküle mit freien Außenelektronen. Dadurch sind sie hochreaktiv, da solche freien Elektronen immer bestrebt sind, in eine stabile, gepaarte Form überzugehen. Durch die Paarung der Elektronen wird anderen Molekülen ein Elektron entrissen, wodurch eine Kettenreaktion ausgelöst wird. Solche Reaktionen laufen ständig im menschlichen Körper ab, wobei unter Umständen Schädigungen an Biomolekülen entstehen können. Es wird diskutiert, ob Nanopartikel, die in die Zellen gelangen, die Bildung freier Radikale auslösen können. Gegenwärtig wird auch untersucht, ob die auf der Oberfläche der Nanopartikel gebildete Menge freier Radikale ausreicht, um zelluläre Effekte zu induzieren. Dieses Dossier gibt einen Überblick, was freie Radikale sind, wie sie entstehen, warum sie im Organismus gebraucht werden und was bereits über den Zusammenhang zwischen Nanopartikeln und der Bildung von freien Radikalen bekannt ist.

\* Korrespondenzautorin

## Nanopartikel, Freie Radikale und Oxidativer Stress

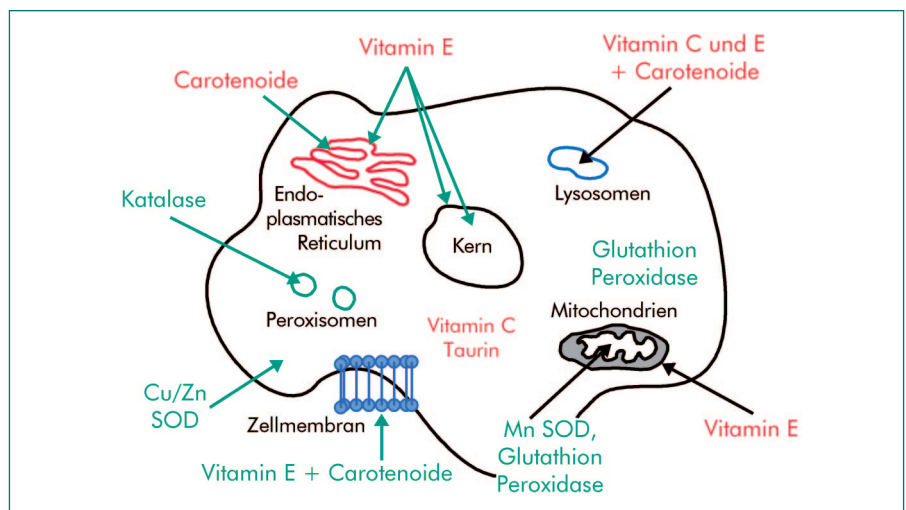
### Einleitung

Es gilt als gesichert, dass die Beschaffenheit der Oberfläche von Nanopartikeln eine wesentliche Rolle in der Wechselwirkung mit Zellen spielt und daher in der Bewertung ihrer gesundheitlichen Wirkung berücksichtigt werden muss. Oft wird die Entstehung freier Radikale nach der Aufnahme von Nanopartikeln in der Zelle als Wirkmechanismus diskutiert. Freie Radikale spielen eine wichtige Rolle in sauerstoffabhängigen (aeroben) lebenden Systemen. Sie sind ein wichtiger Bestandteil bei der Zellatmung und anderen wichtigen zellulären Vorgängen, spielen aber auch im Alterungsprozess und bei der Entstehung von Krankheiten eine Rolle. Freie Radikale sind instabile Moleküle mit freien Außenelektronen (ungepaarten Elektronen). Sie sind hochreaktiv, da die freien Elektronen immer bestrebt sind, sich mit einem anderen Elektron zu verbinden und sich zu paaren. Dabei werden durch die freien Radikale anderen Molekülen Elektronen entrissen. Diese Kettenreaktion läuft ständig im menschlichen Körper in jeder einzelnen Zelle ab. Dabei können neben Wirkungen in Hinblick auf die zelluläre Regulation auch Schädigungen an Molekülen wie Kohlenhydraten, Fetten, Eiweißen und Nucleinsäuren bewirkt werden.

### Was sind freie Radikale?

Freie Radikale sind Atome oder Moleküle, die ein oder mehr ungepaarte Elektronen enthalten und in diesem Sinn „frei“ sind. Entsprechend hat ein freies Radikal ein allein stehendes Elektron. Viele freie Radikale sind hoch reaktiv, d. h. sie haben die starke Tendenz, sich paarweise anzuordnen und somit aus dem labilen ungepaarten Zustand herauszukommen. Für die Paarung nehmen freie Radikale zufällig Elektronen von einem passenden Spender (Donor) oder geben ein Elektron einem passenden Empfänger (Akzeptor), der sich entsprechend zu sekundären freien Radikalen umwandelt. Diese Kettenreaktion kann biologische Schäden verursachen (Abbildung 1).

**Abbildung 1:**  
Angriff und Abwehr freier Radikale, Wirkungsorte der antioxidativ wirksamen Nährstoffe (rot) und Enzyme (grün).  
SOD = Superoxid Dismutase  
([www.royal-canin.de/uploads/pics/mono\\_3gif\\_01.gif](http://www.royal-canin.de/uploads/pics/mono_3gif_01.gif))



Es gibt viele und unterschiedliche Quellen von freien Radikalen innerhalb der Zellen und auch in der Umwelt. In aeroben Lebewesen werden freie Radikale während und durch den normalen Stoffwechsel erzeugt. Insbesondere werden freie Radikale während der Elektronübertragung in der Plasmamembran und hauptsächlich während der Zellatmung in der Mitochondrienmembran erzeugt. Die Produktion kann enzymatisch (mit Katalysatoren) oder nicht-enzymatisch verlaufen. Eine Forschergruppe behauptet<sup>3</sup>, dass die Mitochondrien die Hauptquelle der oxidativen Schädigungen sind, da freie Radikale wie das Superoxyd aus der Elektrontransportkette fließen können. Etwa 3–10 % des dort umgesetzten Sauerstoffs werden nicht entsprechend umgesetzt, d. h. reduziert. Sie können ins Zytosol der Zelle gelangen, wo sie mit anderen Substanzen reagieren können und dabei neue Radikale bilden, indem sie diesen Stoffen Elektronen entziehen. Eine Kettenreaktion wird in Gang gesetzt, in deren Verlauf Elektronen ihre Besitzer wechseln und an deren Ende zelluläre Veränderungen wie die Modifizierung der DNA oder Enzymstörungen stehen können.

## Antioxidantien – Oxidativer Stress

Um intrazellulären Schädigungen durch freie Radikale entgegen zu wirken, entwickelte sich in den Zellen ein so genanntes *intrazelluläres Antioxidationssystem*. Dabei werden die freien Elektronen mit Hilfe von Proteinen (Enzymen) in eine nicht-reaktive Form gebracht. Antioxidantien regulieren oxidative Reaktionen, indem sie die Oxidation der Substanzen verhindern, verzögern oder hemmen<sup>4</sup>. Die als Antioxidantien wirkenden intrazellulären Enzyme sind das Rückgrat dieses Verteidigungssystems in den Zellen<sup>5, 6</sup>. Die wichtigsten antioxidativen Enzyme besitzen bestimmte Elemente, die das Protein abschirmen und schützen<sup>7, 8</sup>. Nicht-enzymatische Antioxidantien können Radikale ebenfalls ausschalten<sup>4</sup> (das sind wasserlösliche Substanzen wie z. B. Vitamin C, Glutathion oder fettlösliche wie Vitamin E oder Vitamin A/ $\beta$ -Karatine). So werden etwa durch das Enzym SOD Superoxidradikale in Wasserstoffperoxyd umgewandelt, das dann durch Katalase in Wasser und Sauerstoff umgesetzt wird.

Freie Radikale sind übrigens *nicht nur schädliche* Stoffwechselprodukte, sondern haben auch eine Reihe von wichtigen Funktionen. So dienen sie der Immunabwehr, denn Leu-

kozyten und Makrophagen machen sich ihre bakterizide Wirkung zunutze: Sie produzieren freie Radikale und zerstören damit Bakterien und andere Fremdstoffe. Außerdem spielen freie Radikale vermutlich über die Vermittlung des programmierten Zelltodes (Apoptose) eine Rolle in der körpereigenen Tumorsuppression. In immunrelevanten Zellen wird das reaktive Potential von ROS auch als zellulärer Abwehrmechanismus bei eindringenden Pathogenen für die Abtötung von Bakterien, Viren und entarteten Zellen genutzt. Weiters erfüllen Radikale wichtige physiologische Funktionen, wie die Regulation des vaskulären Tonus und von Zellfunktionen, die über Sauerstoffkonzentrationen kontrolliert werden, die Beeinflussung von Signalübertragungsmechanismen und schließlich die Auslösung oxidativer Stressantworten sowie der Apoptose<sup>11</sup>.

Da die zellulären Abwehrmechanismen in ihrer Kapazität begrenzt sind, kann es durch oxidativen Stress zu Fehlfunktionen und schließlich zum Zelltod kommen. *Oxidativer Stress* resultiert aus einem Ungleichgewicht zwischen der intrazellulären Produktion freier Radikale und den zellulären Abwehrmechanismen. Das Gleichgewicht zwischen Oxidantien und Antioxidantien kann durch den Anstieg an freien Radikalen oder die Reduktion von antioxidativen Stoffen gestört werden. Oxidativer Stress kann eine Anzahl potentiell zerstörerischer biochemischer Reaktionen hervorrufen<sup>9</sup>. Es hat sich gezeigt, dass die Produktion von Radikalen direkt in die oxidative Zerstörung von Makromolekülen wie z. B. Lipiden, Proteinen und Nukleinsäuren involviert ist. Unter bestimmten Bedingungen können etwa die Phagosomen (Vesikel, in die z. B. Bakterien aufgenommen werden können)<sup>10</sup> von Makrophagen degenerieren und ihren Inhalt in andere Kompartimente der Zellen entlassen, was zu DNA-Schädigungen durch oxidative Reaktionen führen kann. Chronische Infektionen können daher chronische Entzündungsreaktionen durch die permanente phagozytotische Aktivität der Makrophagen auslösen. Chronische Entzündungen wiederum stellen ein Krebsrisiko dar. Außerdem spielen freie Radikale bei vielen degenerativen Krankheiten und Zellalterungsprozessen eine wichtige Rolle<sup>3</sup>.

## Das Oxidations- und Reduktionsgleichgewicht der Zellen (Redox-Homeostase)

Freie Radikale und ihre Derivate sowie reaktive Nichtradikale, die auf Radikale zurückzuführen sind, sind in relativ niedrigen und ausgeglichenen Mengen in lebenden Systemen immer vorhanden. Die Konzentration freier Radikale ist von ihrer Produktion und ihrem Abbau (clearance) abhängig. Der Abbau freier Radikale wird durch verschiedene Enzyme und auch nicht-enzymatische Antioxidantien (z. B. Vitamine E, A, C und Glutathion) kontrolliert. Zellen sind in einem stabilen Zustand, wenn die Rate der ROS-Produktion und die Antioxidationskapazität im Gleichgewicht sind. Dann spricht man von einer ausbalancierten Redox-Kapazität. Dieses Gleichgewicht kann entweder durch die gesteigerte ROS-Produktion oder durch die verminderte Kapazität der Antioxidantien empfindlich gestört werden. Da freie Radikale ein Elektron einem passenden Empfänger vermitteln (Reduktionsreaktion) oder ihr allein stehendes Elektron mit einem passenden Spender paaren können (Oxydationsreaktion), spielen freie Radikale eine wichtige Rolle in der Aufrechterhaltung des Redox-Gleichgewichts der Zellen. Abhängig von Dauer und Stärke der Unausgewogenheit dieses Gleichgewichts (was zeitlich begrenzt sein kann), kann die Redoxregulation der Zelle ausgleichend wirken. Dieser physiologische Mechanismus wird *Redox-Homeostase* genannt. Wenn hingegen eine ständige Produktion von freien Radikalen, etwa durch oxidativem Stress, ausgelöst wird, ist die Redox-Homeostase aus dem Gleichgewicht, da die zellulären Mechanismen nicht mehr in der Lage sind, das normale Niveau herzustellen. Das kann zu einer ständigen (persistenten) Änderung in der Signalübertragung, aber auch zu Veränderungen auf Gen- und Proteinebene der Zellen führen und so genannte oxidative Bedingungen bzw. Prozesse auslösen. Dazu zählen praktisch alle komplexen Moleküle, die ein einzelnes Elektron erwerben können, wie die DNA, Proteine, Fette (Lipide) und Kohlenhydrate, und so von hoch reaktiven Radikalen beschädigt werden können. Im Falle einer ständigen ROS-Erhöhung über eine längere Zeitperiode können freie Radikale schädigend wirken und durch die chronische Situation auf pathologische Bedingungen hinauslaufen.

## Nanopartikel und freie Radikale

Verschiedene In-vitro- und In-vivo-Studien haben gezeigt, dass die Bildung freier Radikale durch Nanopartikel (Fullerene, Kohlen-Nanoröhrchen, Quantum Dots, Abgaspartikel), ausgelöst werden kann<sup>12; 13</sup>. Nanopartikel können aktiv (Phagozytose) durch bestimmte Zellen (Makrophagen) aufgenommen werden und die Bildung von ROS einleiten<sup>14; 15</sup>. Auch die passive zelluläre Aufnahme von Partikeln wurde beobachtet. Die entscheidende Frage ist jedoch, ob pro Zelle mehr ROS gebildet wird, wenn mehr Partikel aufgenommen werden. Es ist bekannt, dass Nanopartikel zu Verklumpungen (Aggregation/Agglomeration) neigen. Daher ist es nicht klar, ob sie in diesem Zustand auch eine erhöhte Menge an ROS produzieren. ROS können auch direkt auf der Oberfläche der Partikel entstehen, dies ist allerdings abhängig von der Beschaffenheit der Partikel (z. B. fungieren metallische Partikel als Katalysatoren). Auf Grund der größeren Oberfläche kleinerer Partikel im Verhältnis zur Masse könnten mehr ROS gebildet werden als bei größerer Partikeln<sup>16; 17</sup>. Ob der Aggregationszustand die Menge des gebildeten ROS beeinflusst, ist nicht bekannt. Die Überproduktion oder die chronische Produktion von reaktiven Sauerstoffspezies kann zu Entzündungsreaktionen, zu Gewebsveränderungen sowie zu DNA-, Protein- und Lipidschädigungen führen. Nanopartikel können auch mechanische Schädigungen innerhalb der Zellen verursachen und so den oxidativen Stress auslösen. Durch die homeostatische Aktivität der Zellen können Antioxidantien bis zu einem gewissen Grad die gebildeten freien Radikale abfangen. Wird mehr ROS generiert als abgefangen wird, kann dieses System kippen und bestimmte Biomoleküle oxidiert und/oder verändert werden.

In einer Pilotstudie<sup>18</sup> wurde an einem speziellen Mausmodell gezeigt, dass über den Bauchraum (intraperitoneal) verabreichte, lange (ca. 20 µm), nadelförmige Nanoröhrchen chronische Entzündungen hervorrufen, während kurze und/oder gekrümmte ebenso wie lange gekrümmte Nanoröhrchen keine solche Effekte induzieren. Da diese Röhrchen aufgrund ihrer Beschaffenheit (Form, Länge und Löslichkeit) Asbestfasern sehr ähnlich sind, wurde ein vergleichbarer Wirkmechanismus diskutiert. Durch Asbestexposition können so genannte Mesotheliome (Bindegewebstumore) im Bereich des Brustfells entstehen. Solche Tumore (Mesotheliome) können, müssen aber nicht zwangsläufig

bösartig sein. Sie entstehen, indem Makrophagen die eingedrungenen nadelförmigen Fasern aufzunehmen versuchen. Da die Fasern zu lang sind, verläuft dieser Prozess für die Zellen nicht erfolgreich. Deshalb entstehen neben freien Radikalen auch so genannte Riesenzellen, da mehrere Zellen miteinander fusionieren, um die Fasern erfolgreich aufnehmen zu können. Durch die chronische Aktivierung dieser Zellen entstehen knotenartige Gewebsneubildungen, so genannte Granulome. Diese können sich über die Zeit zu einem Mesotheliom (Tumor) entwickeln. In der genannten Studie wurden bewusst Nanoröhrchen verwendet, die Asbestfasern bezüglich Form und Länge ähneln. Es wurden aber auch andere Fasern verwendet, um die Wirkungen zu vergleichen. Dabei zeigte sich, wie zu erwarten war, dass nur die langen nadelförmigen, nicht aber kurze und/oder gekrümmte Nanoröhrchen chronische Entzündungen (Granulome) auslösen können. Für die Beurteilung dieser Studie ist wichtig, dass eine relativ hohe Konzentration an Nanoröhrchen (50 µg) pro Maus und ein sehr spezifisches Tiermodell verwendet wurde. In der Studie selbst wird auch auf die Unterschiedlichkeit der Nanoröhrchen bezüglich der Vorbehandlungen hingewiesen. Weiters ist bei der Einschätzung ihrer Tragweite zu berücksichtigen, dass es sich bei dieser Pilotstudie um experimentelle Bedingungen handelt, wobei nur wenige Tiere Verwendung fanden. Die Hinweise aus dieser Studie müssen zwar ernst genommen, aber erst verifiziert und reproduziert werden.

### Anmerkungen und Literaturhinweise

- <sup>1</sup> Darley-Usmar, V., Wiseman, H. und Halliwell, B., 1995, Nitric oxide and oxygen radicals: a question of balance, *FEBS Lett* 369(2-3), 131-5.
- <sup>2</sup> Beckman, J. S., Beckman, T. W., Chen, J., Marshall, P. A. und Freeman, B. A., 1990, Apparent hydroxyl radical production by peroxynitrite: implications for endothelial injury from nitric oxide and superoxide, *Proc Natl Acad Sci U S A* 87(4), 1620-4.
- <sup>3</sup> Shigenaga, M. K., Hagen, T. M. und Ames, B. N., 1994, Oxidative damage and mitochondrial decay in aging, *Proc Natl Acad Sci U S A* 91(23), 10771-8.
- <sup>4</sup> Sies, H., 1997, Oxidative stress: oxidants and antioxidants, *Exp Physiol* 82(2), 291-5.
- <sup>5</sup> Dreher, D., Jornot, L. und Junod, A. F., 1995, Effects of hypoxanthine-xanthine oxidase on Ca<sup>2+</sup> stores and protein synthesis in human endothelial cells, *Circ Res* 76(3), 388-95.

### Fazit

In die Zelle aufgenommene Nanopartikel können zelluläre Effekte auslösen, deren biologische Relevanz allerdings noch nicht geklärt ist. Experimentelle Studien haben gezeigt, dass Nanopartikel die Bildung freier Radikale auslösen können. Die chronische Bildung solcher reaktiven Moleküle kann zu Gewebsentartungen führen. Die meisten Studien verwenden sehr hohe Konzentrationen an Nanopartikel und führen die Untersuchungen nach relativ kurzen Expositionszeiten durch. Daher ist die Bewertung der erhaltenen Daten bezüglich ihrer gesundheitlichen Relevanz noch kaum möglich. Da die homeostatische Aktivität der Zellen und Organismen der Exposition von Nanopartikeln entgegen wirkt, ist noch nicht klar, wann das System aus dem Gleichgewicht kommt und biologische und gesundheitlich relevante Effekte auftreten. Daher ist es notwendig, gezielte, standardisierte und dosisabhängige Langzeitstudien durchzuführen, um Kenntnisse über die Wirkmechanismen zu erlangen.

- <sup>6</sup> Dreher, D. und Junod, A. F., 1995, Differential effects of superoxide, hydrogen peroxide, and hydroxyl radical on intracellular calcium in human endothelial cells, *J Cell Physiol* 162(1), 147-53.
- <sup>7</sup> Harris, E. D., 1992, Regulation of antioxidant enzymes, *Faseb J* 6(9), 2675-83.
- <sup>8</sup> Harris, E. D., 1992, Copper as a cofactor and regulator of copper,zinc superoxide dismutase, *J Nutr* 122(3 Suppl), 636-40.
- <sup>9</sup> Droge, W., 2002, Free radicals in the physiological control of cell function, *Physiol Rev* 82(1), 47-95.
- <sup>10</sup> Simkó, M., Fiedeler, U., Gázsó, A. und Nentwich, M., 2008, Einfluss von Nanopartikeln auf zelluläre Funktionen. *NanoTrust-Dossiers Nr. 007*, hrsg. v. Institut für Technikfolgen-Abschätzung, Wien [epub.oew.ac.at/ita/nanotrust-dossiers/dossier007.pdf](http://epub.oew.ac.at/ita/nanotrust-dossiers/dossier007.pdf).
- <sup>11</sup> Simkó, M., 2007, Cell type specific redox status is responsible for diverse electromagnetic field effects, *Curr Med Chem* 14(10), 1141-52.

- <sup>12</sup> Raab, C., Simkó, M., Gzásó, A., Fiedeler, U. und Nentwich, M., 2008, Was sind synthetische Nanopartikel?, *NanoTrust-Dossiers Nr. 002*, hrsg. v. Institut für Technikfolgen-Abschätzung, Wien [epub.oeaw.ac.at/ita/nanotrust-dossiers/dossier002.pdf](http://epub.oeaw.ac.at/ita/nanotrust-dossiers/dossier002.pdf).
- <sup>13</sup> Oberdorster, G., Oberdorster, E. und Oberdorster, J., 2005, Nanotoxicology: an emerging discipline evolving from studies of ultrafine particles, *Environ Health Perspect* 113(7), 823-39.
- <sup>14</sup> Brown, D. M., Donaldson, K., Borm, P. J., Schins, R. P., Dehnhardt, M., Gilmour, P., Jimenez, L. A. und Stone, V., 2004, Calcium and ROS-mediated activation of transcription factors and TNF-alpha cytokine gene expression in macrophages exposed to ultrafine particles, *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 286(2), L344-53.
- <sup>15</sup> Risom, L., Lundby, C., Thomsen, J. J., Mikkelsen, L., Loft, S., Friis, G. und Moller, P., 2007, Acute hypoxia and reoxygenation-induced DNA oxidation in human mononuclear blood cells, *Mutat Res* 625(1-2), 125-33.
- <sup>16</sup> Sioutas, C., Delfino, R. J. und Singh, M., 2005, Exposure assessment for atmospheric ultrafine particles (UFPs) and implications in epidemiologic research, *Environ Health Perspect* 113(8), 947-55.
- <sup>17</sup> Stone, V., Tuinman, M., Vamvakopoulos, J. E., Shaw, J., Brown, D., Petterson, S., Faux, S. P., Borm, P., MacNee, W., Michaelangeli, F. und Donaldson, K., 2000, Increased calcium influx in a monocytic cell line on exposure to ultrafine carbon black, *Eur Respir J* 15(2), 297-303.
- <sup>18</sup> Poland, C. A., Duffin, R., Kinloch, I., Maynard, A., Wallace, W. A., Seaton, A., Stone, V., Brown, S., Macnee, W. und Donaldson, K., 2008, Carbon nanotubes introduced into the abdominal cavity of mice show asbestos-like pathogenicity in a pilot study, *Nat Nanotechnol* 3(7), 423-8.

**IMPRESSUM:**

**Medieninhaber:** Österreichische Akademie der Wissenschaften; Juristische Person öffentlichen Rechts (BGBl 569/1921 idF BGBl I 130/2003); Dr. Ignaz Seipel-Platz 2, A-1010 Wien

**Herausgeber:** Institut für Technikfolgen-Abschätzung (ITA); Strohgasse 45/5, A-1030 Wien;  
[www.oeaw.ac.at/ita](http://www.oeaw.ac.at/ita)

**Erscheinungsweise:** Die NanoTrust-Dossiers erscheinen unregelmäßig und dienen der Veröffentlichung der Forschungsergebnisse des Instituts für Technikfolgen-Abschätzung im Rahmen des Projekts NanoTrust. Die Berichte werden ausschließlich über das Internetportal „epub.oeaw“ der Öffentlichkeit zur Verfügung gestellt: [epub.oeaw.ac.at/ita/nanotrust-dossiers/](http://epub.oeaw.ac.at/ita/nanotrust-dossiers/)

NanoTrust-Dossier Nr. 012 Mai 2009: [epub.oeaw.ac.at/ita/nanotrust-dossiers/dossier012.pdf](http://epub.oeaw.ac.at/ita/nanotrust-dossiers/dossier012.pdf)

ISSN: 1998-7293



Dieses Dossier steht unter der Creative Commons  
(Namensnennung-NichtKommerziell-KeineBearbeitung 2.0 Österreich)  
Lizenz: [creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/2.0/at/deed.de](http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/2.0/at/deed.de)