

Onderzoek naar antioxidanten en gezondheidclaims

Henk van den Berg¹, Henk van Kranen², Hans Verhagen²
¹Voedingscentrum, Den Haag, ²RIVM, Bilthoven

Antioxidanten worden door veel consumenten, en in de media, nog vaak geassocieerd met gezondheid en bescherming tegen (chronische) ziekten. Ondanks het feit dat resultaten uit interventiestudies van de jaren negentig van de vorige eeuw al duidelijk lieten zien dat suppletie met hoge doseringen β -caroteen, al dan niet in combinatie met vitamine E of A, geen bescherming bood, of zelfs aanleiding gaf tot een hoger (sterfte)risico. Dat desondanks het eenzijdig positieve beeld van antioxidanten nauwelijks veranderd lijkt, heeft ongetwijfeld te maken met de nog steeds veelbelovende advertenties en selectieve berichtgeving in de media.

De antioxidanthypothese staat ter discussie, zoals al eerder in dit tijdschrift besproken (1, 2). Er is nauwelijks of geen discussie over antioxidantwerking als belangrijke eigenschap van bepaalde (essentiële) voedingsstoffen, of over de vraag of oxidatieve stress een rol speelt in de pathofysiologie van (chronische) ziekten. De fysiologische werkelijkheid blijkt alleen nog altijd zeer complex en onvoldoende begrepen (3). Een blik op de stand van zaken in het onderzoek naar antioxidanten en op de consequenties van de in 2007 van kracht geworden EU verordening 1924/2006 over voedings- en gezondheidsclaims.

Oxidatieve stress is een verstoorde balans tussen de productie van reactieve zuurstofdeeltjes (ROS) of andere 'vrije' radicalen in de cel, én de benodigde antioxidantcapaciteit om deze weer tijdig uit de weg te ruimen. Dit kan uiteindelijk resulteren in disregulatie van essentiële celprocessen. Zo kan sprake zijn van oxidatieve schade aan onverzadigde vetzuren (bijvoorbeeld oxidatie LDL-cholesterol en atherosclerotische plaquievorming in bloedvaten), eiwitten en DNA (genotoxische effecten). Uit recent onderzoek is naar voren gekomen dat een specifieke klasse van zogeheten transcriptiefactoren (Forkhead family, FOXO) een cruciale rol speelt bij oxidatieve stress door interactie met belangrijke signaalroutes zoals de PI3K-, insuline- en Wnt-pathways (4). Observationeel epidemiologisch onderzoek levert tal van aanwijzingen voor een associatie tussen de inneming van antioxidanten in de voeding (of biomerkers van de antioxidantstatus) en een lager ziekterisico. Interventiestudies met antioxidantvitamines laten echter



FOTO: RIVM

GROTE BEVOLKINGSONDERZOEKEN TONEN HET ONTBREKEN VAN HET BEWIJS VOOR GUNSTIGE EFFECTEN VAN ANTIOXIDANTEN IN DE MENS.

geen aantoonbaar effect zien op het ziekterisico. Sinds de ATBC- en CARET-studies in de jaren negentig van de vorige eeuw zijn nog tal van interventiestudies en meta-analyses gepubliceerd die bevestigen dat hoge doseringen antioxidantvitamines geen gunstig effect hebben op de primaire en secundaire preventie van hart- en vaatziekten (HVZ), diabetes, of kanker, of zelfs het sterfterisico verhogen (1, 5). Ook afgelopen jaar werd dit beeld in verschillende publicaties bevestigd, zie tabel 1 op pag. 11.

NORMALE FYSIOLOGIE Aan de andere kant wordt steeds duidelijker dat radicaalproductie en (gecontroleerde) oxidatieve stress onderdeel zijn van de normale fysiologie van het lichaam. Deze speelt bijvoorbeeld een rol bij de eliminatie van ongewenste (bacteriële) indringers in macrofagen en neutrofiële cellen van het immuunsysteem of bij de bloeddrukregulatie (NO-radicalen). Meer algemeen blijkt de redoxtoestand (de balans tussen reductie en oxidatie) in de cel een belangrijke van invloed op de signaaltransductie en regulatie van de celcyclus (waarbij geprogrammeerde celdood, apoptose, van beschadigde cellen een gewenste uitkomst kan zijn). Ook zijn recent aanwij-

zingen gepubliceerd dat oxidatieve stress na spierinspanning een rol speelt bij het spierherstel door verbetering van de insulinegevoeligheid (6). Suppletie met hoge doseringen vitamine C en E (respectievelijk 1 g en 400 mg per dag) had een negatief effect op dit proces. Ook zou antioxidant-suppletie de overleving van tumorcellen mogelijk bevorderen (7). Door laatstgenoemde studie waaide veel stof op in de media omdat voor het eerst een plausibel mechanisme voor dit type effect aannemelijk werd gemaakt. De betekenis hiervan voor de mens is nog verre van duidelijk, omdat het om een *in-vitro* studie ging met synthetische antioxidanten (N-acetylcysteïne en een wateroplosbaar vitamine E-derivat).

BIOMERKERS VAN OXIDATIEVE STRESS Zowel de antioxidantcapaciteit (zie kader) als het optreden van oxidatieve schade kan worden gemeten met behulp van biomerkers. Bij de antioxidantcapaciteit gaat het meestal om het meten van gehalten van individuele stoffen, combinaties van stoffen of van het vermogen om radicalen te elimineren. Dit gebeurt bijvoorbeeld in een reageerbuis (*in vitro*) of met behulp van geïsoleerde cellen (*ex vivo*). Voor het kwantificeren van oxidatieve schade kunnen in biologisch monstermateriaal (bijvoorbeeld bloed of urine) lipide-oxidatieproducten of oxidatieve schade aan DNA-basen en eiwitten worden gemeten. Er zijn een groot aantal biomerkers beschikbaar, maar slechts een handvol is voldoende gevalideerd (8, 9). In een aantal gevallen is de analytische betrouwbaarheid of de biologische relevantie nog twijfelachtig en blijft de vraag wat deze resultaten betekenen in termen van ziekterisico en/of preventie (10, 11).

CLAIMS OVER ANTIOXIDANTEN Sinds begin 2007 is de EU-verordening 1924/2006 van kracht waarin geregeld is wanneer

‘Fysiologische werkelijkheid rond oxidatieve stress zeer complex en nog onvoldoende begrepen’

voedings- en gezondheidclaims, onder welke voorwaarden, gebruikt mogen worden. Antioxidanten zijn niet opgenomen in de annex bij de EU-verordening met geaccepteerde voedingsclaims. Binnen de EU-wetgeving is bepaald dat antioxidant geen soortnaam is, zoals vitamines, maar een term die verwijst naar een functionaliteit waarmee een gezondheidseffect wordt geïmpliceerd. Om deze reden zijn de voedingsclaims ‘bron van’ of ‘rijk aan’ antioxidanten niet toegestaan. Voedingsclaims voor vitamine C, E, selenium, enzovoorts, als voedingsstof, waarvoor ook aanbevolen hoeveelheden zijn vastgesteld, zijn wel toegestaan.

GEZONDHEIDCLAIMS VOOR ANTIOXIDANTEN Bij gezondheidclaims wordt in EU-Verordening 1924/2006 een onderscheid gemaakt tussen functieclaims (artikel 13-claims) en risicoreductieclaims (artikel 14-claims). Functieclaims voor een stof of voedingsmiddel zijn in principe generiek, dat wil zeggen dat ze zonder toestemming vooraf mogen worden gebruikt, mits ze zijn opgenomen in de lijst met geaccepteerde claims van de Europese Commissie, en voldaan wordt aan de geldende gebruiksvoorwaarden (zogenoemde *conditions of use*). Inmiddels is een eerste serie van ingediende (generieke) claims door EFSA beoordeeld, met positieve adviezen voor een antioxidantfunctie van vitamine E, C, selenium, koper, zink, mangaan en molybdeen (<http://www.efsa>).

Antioxidantcapaciteit van de cel

De cel beschikt over een netwerk van stoffen en enzymsystemen om radicaaldeeltjes onschadelijk te kunnen maken. Het gaat hierbij om enzymen zoals het superoxide dismutase (SOD), catalase en glutathion peroxidase. En om (oplosbare) stoffen, zoals radicaalvangers (zogenoeten quenchers), endogene verbindingen (stoffen die het lichaam zelf kan aanmaken, zoals glutathion) en exogene verbindingen die via de voeding moeten worden opgenomen, zoals vitamine E en C. Daarnaast zijn er tal van andere stoffen die een antioxidantwerking hebben zoals polyfenolen en carotenoïden, uit groenten en fruit en andere plantaardige bronnen. De vraag is echter welke componenten en welke stoffen echt essentieel zijn voor de antioxidantcapaciteit in de cel en of deze wel een écht gunstige werking hebben in de mens. Vrijwel zeker gaat het om combinaties van stoffen (vet- én wateroplosbaar). Een complicerende factor is dat veel van deze stoffen ook andere fysiologische functies kunnen hebben. Het is niet altijd duidelijk of de activiteit/functie afhankelijk is van de antioxidantwerking. Behalve over ‘radicaalvangers’ beschikt het lichaam over (enzymatische) mechanismen om oxidatieve schade, bijvoorbeeld DNA-schade, te repareren, om te voorkomen dat het ontstaan van schadeproducten pathofysiologische gevolgen krijgt.



VOOR DE WERKING VAN SUPPLEMENTEN MET ANTIOXIDANTEN IS NOG STEEDS GEEN BEWIJS.

europa.eu/en/nda/ndaclaims.htm). De voorgestelde bewoording voor deze claims is dat 'stof X deel uitmaakt van het antioxidantnetwerk dat de cel beschermt tegen oxidatieve schade'. Dit zijn allemaal essentiële voedingsstoffen die óf een rol als cofactor vervullen, in een van de bovengenoemde enzymsystemen (wat bijvoorbeeld geldt voor de genoemde spoorelementen) óf waarvoor de radicaaleliminatie-capaciteit (scavenging) *in vivo* bij de mens is vastgesteld.

Voor andere stoffen zoals taurine, astaxanthine, fosfolipiden, en het botanische preparaat *Justicia adhatoda L.*, is de bovengenoemde claim negatief beoordeeld, omdat het beschermende effect voor de mens niet was onderbouwd. Op de lijst van voorgestelde (generieke) artikel-13-claims staan nog een aantal producten met een vergelijkbare claim zoals co-enzym Q10 en voedingsmiddelen of componenten daarvan, zoals koffie en thee (catechines). De ingediende claims zijn nog in beraad en er is vanuit EFSA nog geen advies beschikbaar.

In de procedure voor artikel 14-claims is een claim over lycopene (als wei-complex), als bescherming tegen oxidatieve schade aan lipopro-

teïnen en verlaging van het risico op atherosclerotische plakvorming, door EFSA voorzien van een negatief beoordelingsadvies dat is doorgestuurd naar de Europese Commissie.

WELKE ONDERBOUWING IS NODIG? Bij de claimbeoordeling is een éénduidige karakterisering van de stof of een product essentieel, zoals identificatie en kwantificering van de werkzame stof(fen). Ook is een adequate beschrijving van het geclaimde gezondheidseffect, en de relevantie hiervan voor de gezondheid van de mens, van essentieel belang. Bij de beoordeling gaat het uiteindelijk om de bewijskracht van de onderliggende gegevens, wat neerkomt op de kwaliteit van het onderzoek. Voor artikel 13-claims is 'aantoonbare bescherming tegen oxidatieve schade aan lipiden, eiwit en DNA in de cel' voldoende, mits *in vivo* gemeten met gevalideerde biomerkers, in een representatieve groep van (proef)personen.

In geval van artikel 14-claims moet dit een kwantificeerbaar effect zijn, aangetoond door een biomerker die is gerelateerd aan de ziekterisicofactor. Dierexperimenteel onderzoek en *in-vitro*-onderzoek (mechanistisch) kunnen ondersteunend zijn, maar vormen als zodanig onvoldoende bewijs.

Een probleem bij antioxidantclaims is de beschikbaarheid van gevalideerde biomerkers. Bescherming tegen geïnduceerde schade, zoals gemeten in *ex-vivo*-assays met geïsoleerde lipidenfracties (bijvoorbeeld LDL-cholesterol), met exogeen toegevoegde oxidanten, is wat anders dan het meten van directe oxidatieve schade op cel- of weefselniveau. Dit geldt ook voor metingen van de totale antioxidantcapaciteit, bijvoorbeeld met de zogeheten TRAP-, TEAC-, ORAC- of FRAP-assays. De fysiologisch-functionele betekenis van dit soort metingen is onduidelijk.

Er zijn niet alleen problemen rond de biologische validiteit. Ook spelen bij een aantal veelgebruikte markers methodische problemen een rol, zoals de betrouwbaarheid van de analysemethode of monsterwerking en -opslag (waarbij oxidatieve schade kan ontstaan). Data uit oudere studies zijn daarom niet altijd meer bruikbaar voor onderbouwing van geclaimde effecten.

PERSPECTIEF Een aantal antioxidantdossiers is thans in behandeling bij de Europese Voedsel Veiligheidsautoriteit EFSA. Publicatie van de adviezen zal inzicht geven in de markers die het EFSA-beoordelingspanel acceptabel acht voor onderbouwing van claims. Welke claims uiteindelijk in de 'community-lijst' zullen komen, blijft dus nog even afwachten.

'Een probleem bij antioxidantclaims is de beschikbaarheid van gevalideerde biomerkers'

ANTIOXIDANT	CHRONISCHE ZIEKTE	STUDIE	RESULTAAT	REFERENTIE
VITAMINE E, VITAMINE C, β-CAROTEEN	DIABETES TYPE 2 IN VROUWEN	WAFACS	GEEN BE-SCHERMENDE EFFECTEN	SONG ET AL. AJCN, 2009 (6)
SELENIUM, VITAMINE E	PROSTAAT KANKER	SELECT	GEEN BE-SCHERMENDE EFFECTEN, ALLEEN OF IN COMBINATIE	LIPPMAN ET AL. JAMA, 2009 (7)
VITAMINE E, VITAMINE C	HART- EN VAATZIEKTEN IN MANNEN	PHS II	GEEN BE-SCHERMENDE EFFECTEN	SESSO ET AL., JAMA 2009 (8)
VITAMINE E, VITAMINE C	PROSTAAT EN KANKER TOTAAL	PHS II	GEEN BE-SCHERMENDE EFFECTEN	GAZIANO ET AL., JAMA 2009 (9)
DIVERSE AN-TIOXIDANTEN (META-ANA-LYSE)	KANKER	DIVERSEN	GEEN BE-SCHERMENDE EFFECTEN	MYUNG ET AL., 2010 (10)
WAFACS: WOMANS ANTIOXIDANT AND FOLIC ACID CARDIOVASCULAR STUDY SELECT: SELENIUM AND VITAMIN E CANCER PREVENTION TRIAL PHS II: PHYSICIANS HEALTH STUDY II				

TABEL 1 OVERZICHT VAN RECENTE RESULTATEN VAN INTERVENTIESTUDIES MET ANTIOXIDANTEN EN HET RISICO OP CHRONISCHE ZIEKTEN.

REFERENTIES BIJ DE TABEL

Song Y, Cook NR, Albert CM, Van Denburgh M, Manson JE. Effects of vitamins C and E and beta-carotene on the risk of type 2 diabetes in women at high risk of cardiovascular disease: a randomized controlled trial. *Am J Clin Nutr.* 2009 Aug;90(2):429-37.

Lippman SM, Klein EA, Goodman PJ, Lucia MS, Thompson IM, Ford LG, et al. Effect of selenium and vitamin E on risk of prostate cancer and other cancers: the Selenium and Vitamin E Cancer Prevention Trial (SELECT). *JAMA.* 2009 Jan 7;301(1):39-51.

Sesso HD, Buring JE, Christen WG, Kurth T, Belanger C, MacFadyen J, et al. Vitamins E and C in the prevention of cardiovascular disease in men: the Physicians' Health Study II randomized controlled trial. *JAMA.* 2008 Nov 12;300(18):2123-33.

Gaziano JM, Glynn RJ, Christen WG, Kurth T, Belanger C, MacFadyen J, et al. Vitamins E and C in the prevention of prostate and total cancer in men: the Physicians' Health Study II randomized controlled trial. *JAMA.* 2009 Jan 7;301(1):52-62.

Myung SK, Kim Y, Ju W, Choi HJ, Bae WK. Effects of antioxidant supplements on cancer prevention: meta-analysis of randomized controlled trials. *Ann Oncol.* 2010 Jan;21(1):166-79.

REFERENTIES

- Verhagen H, Buijsse B, Jansen E.H.J, Bueno de Mesquita HB. Werking antioxidanten nog steeds niet bewezen. *Voeding Nu.* 2007;2:17-9.
- Berg H van den. Anti en pro oxidanten: is de antioxidant hypothese aan herziening toe? *Voeding Nu.* 2003;2:27-9.
- Finkel T, Holbrook NJ. Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing. *Nature.* 2000 Nov 9;408(6809):239-47.
- Hooigeboom D, Burgering BM. Should I stay or should I go: beta-catenin decides under stress. *Biochim Biophys Acta.* 2009 Dec;1796(2):63-74.
- Bjelakovic G, Nikolova D, Gluud LL, Simonetti RG, Gluud C. Antioxidant supplements for prevention of mortality in healthy participants and patients with various diseases. *Cochrane Database Syst Rev.* 2008(2):CD007176.
- Ristow M, Zarse K, Oberbach A, Klötting N, Birringer M, Kiehntopf M, et al. Antioxidants prevent health-promoting effects of physical exercise in humans. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2009 May 26;106(21):8665-70.
- Schafer ZT, Grassian AR, Song L, Jiang Z, Gerhart-Hines Z, Irie HY, et al. Antioxidant and oncogene rescue of metabolic defects caused by loss of matrix attachment. *Nature.* 2009 Sep 3;461(7260):109-13.
- Griffiths HR, Moller L, Bartosz G, Bast A, Bertoni-Freddari C, Collins A, et al. Biomarkers. *Mol Aspects Med.* 2002 Feb-Jun;23(1-3):101-208.
- Cooke MS, Henderson PT, Evans MD. Sources of extracellular, oxidatively-modified DNA lesions: implications for their measurement in urine. *J Clin Biochem Nutr.* 2009 Nov;45(3):255-70.
- Knasmüller S, Nersisyan A, Misik M, Gerner C, Mikulits W, Ehrlich V, et al. Use of conventional and -omics based methods for health claims of dietary antioxidants: a critical overview. *Br J Nutr.* 2008 May;99 E Suppl 1:ES3-52.
- Aggett PJ, Antoine JM, Asp NG, Bellisle F, Contor L, Cummings JH, et al. PASSCLAIM: consensus on criteria. *Eur J Nutr.* 2005 Jun;44 Suppl 1:i5-30.

