Titel

FREIE RADIKALE

Mechanismen der Tumorentstehung

von Neven Zarkovic, Zagreb

Moderne Theorien über den Mechanismus der Sauerstofftoxizität stellen die überschießende Produktion reaktiver Sauerstoffspezies (reactive oxygen species, ROS) wie Wasserstoffperoxid, das Superoxidanion und das Hydroxylradikal in den Mittelpunkt. Durch die Überproduktion der ROS wird das Entgiftungssystem der Zellen und des gesamten Organismus überfordert. Diesen Zustand bezeichnet man als oxidativen Stress. Er kann durch verschiedene schädliche Mechanismen ausgelöst werden (86, 87). Oxidativer Stress kann akute und chronische Krankheiten in jedem Organsystem auslösen und stellt die pathologische Basis für schwere Erkrankungen dar wie etwa kardiovaskuläre und neurodegenerative Leiden. Die wahrscheinlich schwerwiegendste Krankheit sind jedoch maligne Tumoren.

Krebs ist eine abnormale Gewebemasse, deren unkoordiniertes Wachstum jenes von normalem Gewebe übertrifft und ihre destruktive Vermehrung auch dann noch fortsetzt, wenn die Stimuli, die das Wachstum ausgelöst haben, verschwunden sind. Eine der ersten Hypothesen über die Krebsentstehung (101) besagte, dass als metabolische Voraussetzung für die hypoxische Krebsentwicklung eine irreversible Schädigung der Atmung zu einem Ersatz der Atmungsenergie durch "Fermentationsenergie" (Glykolyse) führt. Tatsächlich zeigen neuere Beobachtungen, dass Hypoxie die Malignität von Krebs durch noch nicht verstandene Mechanismen fördert (91).

Doch diese Hypothese wurde durch spätere Forschungen nicht bestätigt, sondern führte zur Entwicklung des molekularen Korrelationskonzeptes von George Weber. Zusammen mit dem Konzept der Schlüsselenzyme und der Verwendung biologischer Modellsysteme ermöglichte es Einsichten in enzymatische und biochemische Veränderungen in Krebszellen. Das Muster der Genexpression in Neoplasien wurde studiert; man untersuchte Aktivitäten von Schlüsselenzymen und deren Zusammenhang mit der neoplastischen Transformation und Progression. In verschiedenen Stoffwechselbereichen erkannte man ein geordnetes Muster von Veränderungen. Ein Beispiel: Im Kohlenhydrat-Stoffwechsel nehmen die glykolytischen Schlüsselenzyme mit der Wachstumsgeschwindigkeit der Tumoren, die als Maß für die Malignität dient, zu und die gluconeogenetischen Schlüsselenzyme ab (103, 104).

Wie in den meisten biochemischen Forschungsfeldern beruhen Untersuchungen über die Beteiligung freier Radikale an menschlichen Erkrankungen oft auf In-vitro-Experimenten mit verschiedenen Zellkulturen oder auf

In-vivo-Experimenten, bei denen man sich auf die Analogie von Tiermodellen zu speziellen menschlichen Krankheitsprozessen verlässt. Außerdem ist der Nachweis freier Radikale in vivo mit exakten analytischen Techniken wie der Elektronenspinresonanz-Spektroskopie schwer möglich. Freie Radikale und verwandte Verbindungen sind hochreaktiv und kurzlebig und kommen gewöhnlich nur in geringen Konzentrationen vor. Um ihre Beteiligung an einer Krankheit zu beweisen, sollten folgende Kriterien erfüllt sein: Eine abnormale Produktion von ROS sollte durch eine exakte chemische Bestimmung oder das Auffinden ihrer Reaktionsprodukte am Ort des Geschehens nachgewiesen werden. Ähnliche chemische oder physikalische Mechanismen zur Generierung von ROS sollten auf derselben zellulären Ebene ähnliche Läsionen und/oder Krankheit verursachen. Agentien, die gegen oxidativen Stress schützen, indem sie als Antioxidantien oder Radikalfänger wirken, sollten die Entwicklung solcher Läsionen verhindern.

Mehrstufige Karzinogenese

Der Prozess der Transformation normaler Zellen in maligne Krebszellen, der als Karzinogenese bezeichnet wird, wird sowohl durch erbliche als auch durch Umweltfaktoren beeinflusst. Der komplizierte Ablauf dauert gewöhnlich Jahre, kann aber auch relativ plötzlich geschehen, wenn er durch besondere toxische Faktoren (Karzinogene) ausgelöst wird. Unabhängig von der Geschwindigkeit der Entwicklung ist die Karzinogenese nicht voraussagbar und kann kaum verhindert oder rückgängig gemacht werden.

Man nimmt an, dass die Karzinogenese in Stufen abläuft, die als Initiations- und Promotionsstufe bezeichnet werden, wonach gewöhnlich, aber nicht zwingend die Progressionsstufe des Krebses folgt (74). Hinweise auf einen zweistufigen Prozess ergaben sich primär aus Studien an der Haut von Mäusen. Gewisse Läsionen beim Menschen stimmen mit den experimentellen Studien an Tiermodellen überein.

In der Initiationsstufe verursacht ein physikalisches, chemisches oder biologisches Agens eine Veränderung in der molekularen Struktur der zellulären DNA. Auf diesen molekularen Schaden folgt die Promotionsstufe, in der die Expression jener Gene, die das Zellwachstum (Proliferation und Differenzierung) regulieren, moduliert wird. Während Agentien der Initiation gewöhnlich direkt mit dem genetischen Material reagieren, wirken Promotoren normalerweise nicht auf diese Art, sondern verändern die Genexpression durch indirekte Mechanismen.

Reaktive Sauerstoffverbindungen als Karzinogene

Manche Verbindungen sind "vollständige" Karzinogene, da sie sowohl initiierende als auch promovierende Aktivität besitzen und so allein Krebs verursachen können. Unter den kompletten Karzinogenen finden sich verschiedene Agentien, zum Beispiel Tumorviren, karzinogene Chemikalien und ionisierende Strahlen, die oft oxidativen Stress erzeugen.

ROS spielen hauptsächlich in der Promotionsphase der Karzinogenese eine Rolle (14). Das Superoxidanion-Radikal O_2- und einige organische Peroxide sind Promotoren, können aber – ähnlich wie hyperbarer Sauerstoff – "schwache" vollständige Karzinogene sein (38, 110). Auf Grund der Bedeutung von

DNA-Schäden für die Karzinogenese ist es nicht unrealistisch anzunehmen, dass jede chemische Substanz, die mit DNA reagieren und dabei deren Struktur und Funktion modifizieren kann, karzinogen sein könnte.

Polyzyklische Kohlenwasserstoffe sind vollständige chemische Karzinogene, deren schädliche Wirkungen mit ihrer Fähigkeit zur Radikalbildung korrelieren (97). Von Benz(a)pyren (BaP) können mindestens vier verschiedene Radikale gebildet werden: Benz(a)pyren Anion-Radikal (BaP^-) und Kation-Radikal (BaP^+), radikalische Spezies, die durch Erhitzen von BaP gebildet werden (jenen Radikalen verwandt, die im Zigarettenrauch entstehen), und oxygenierte BaP-Radikale. Aus der letzten Gruppe sind das 6-oxyBaP-Radikal und Radikale, die aus BaP-Chinonen gebildet werden, am bedeutendsten (94). Die Produktion von BaP^+ und oxygenierten BaP-Radikalen läuft ubiquitär und häufig ab, da diese Radikale über Cytochrom P450 oder eine Wasserstoffperoxid-Peroxidase gebildet werden. Aufgrund der Aktivität dieser Radikale hat man die Bindung von Benz(a)pyren an die DNA als den ersten Schritt der Karzinogenese bezeichnet (13, 65).

Der Chromosomen-brechende (klastogene) Effekt des Promotors Phorbol-Myristat-Acetat (PMA) wird ebenfalls durch die Produktion von ROS vermittelt (22).

Zusätzlich wirken Tumorpromotoren karzinogen durch Verringerung der zellulären antioxidativen Abwehr, zum Beispiel der Hauptenzyme, die gegen oxidativen Stress schützen, wie Katalase und Superoxid-Dismutase (SOD) (9, 36). Umgekehrt wirken Antioxidantien oft als Antipromotoren und Antikarzinogene (107). Daher kommt es nach Injektion von Kupfer(II)-(3,5-diisopropyl-salicylat)2, das O_2^- binden kann, zu einem verringertem Tumorwachstum in Mäusen (68).

Veränderungen der Genexpression sollten besonders relevant sein, wenn Gene betroffen sind, die für Enzyme kodieren, die an der Entgiftung der ROS, der Reparatur der DNA und der Regulation des Zellwachstums (Proto-Onkogene) beteiligt sind. Wenn das der Fall ist, könnten gleiche oder ähnliche Mechanismen einerseits zu einer verminderten Expression der Gene führen, die in den Schutz gegen ROS involviert sind, und andererseits zu einer verstärkten Expression der Gene, die das Zellwachstum stimulieren. Diese Mechanismen – zwar pathologisch verändert – müssen jedoch relativ ausbalanziert sein, um nicht nur das Überleben der Krebszellen zu gewährleisten, sondern auch deren weiteres Wachstum. Leider versteht man die Mechanismen, die die Karzinogenese in solch einer "kontrollierten" Art leiten, noch nicht.

Verringerte Aktivitäten der Kupfer-Zink-SOD (CuZnSOD) werden in Tumoren oft, aber nicht immer gemessen. Daraus kann man schließen, dass ein verminderter antioxidativer Schutz in Verbindung mit einer erhöhten ROS-Produktion nicht nur einen wesentlichen Schritt der Karzinogenese darstellt, sondern auch für viele Eigenschaften der Krebszellen verantwortlich sein könnte (68). Demnach wäre eine erhöhte ROS-Produktion in Krebszellen im Vergleich zu Normalzellen zu erwarten. Diese Annahme wurde vor allem an Lipiden überprüft, da Lipide als essentielle Bestandteile zellulärer Membranen zu den ersten Molekülen gehören, die durch ROS geschädigt werden. Die Ergebnisse entsprachen jedoch nicht den Erwartungen.

Subzelluläre Fraktionen von Krebszellen (Zellkulturen oder tierische Tumoren) weisen abnormal niedrige Raten an Lipidperoxidation auf (36).

Zu diesen Ergebnissen passen neue Befunde über den niedrigen Gehalt an einem der Hauptprodukte der Lipidperoxidation – dem Aldehyd 4-Hydroxynonenal (HNE) - in Krebs- verglichen mit normalem Gewebe, vor allem Stroma. Die genauen Ursachen für die Unterschiede im HNE-Metabolismus oder in der Lipidperoxidation sind noch nicht geklärt. Sicherlich sind daran ein Mangel an Substraten (poly-ungesättigte Fettsäuren) in Membranlipiden, ein erhöhter Spiegel an alpha-Tocopherol und verminderte Aktivitäten von Cytochrom P450 und der NADPH-Cytochrom-P450-Reduktase in Krebszellen beteiligt.

Erbliche Faktoren

Es ist sehr wahrscheinlich, dass genetische Prädispositionen relevant sind für Veränderungen des oxidativen Stoffwechsels während der malignen Transformation, speziell wenn schädigende, prooxidative und mutagene Einflüsse von Umweltfaktoren (Nahrung, Rauchen, ionisierende Strahlung und andere Karzinogene) hinzukommen.

Genetische Veränderungen können einen Mangel an Schutz gegen oxidativen Stress und schädigende Effekte von ROS verursachen. Ein Beispiel sind Patienten mit dem dreifachen Chromosom 21 (Trisomie 21 oder Down´s Syndrom). Die Gewebekonzentration der cytoplasmatischen CuZnSOD ist um circa 50 Prozent erhöht, da das für das Enzym kodierende Gen auf dem Chromosom 21 lokalisiert ist. Die Glutathion-Peroxidase-Aktivität in den Erythrozyten steigt ebenfalls, wahrscheinlich wegen der erhöhten H_2O_2-Produktion, die aus der verstärkten CuZnSOD-Aktivität resultiert. In Patienten mit Trisomie 21 ist nur die CuZnSOD erhöht, während die mitochondriale MnSOD um ein Drittel reduziert ist; das Gen für dieses Enzym ist auf Chromosom 6 lokalisiert (59). Möglicherweise regulieren die cytosolische SOD und/oder Superoxid-Anionen die mitochondriale SOD-Aktivität.

Trisomie-Patienten haben ein um bis zu 30 Prozent erhöhtes Risiko für eine akute Leukämie. Der Abfall der MnSOD-Aktivität kann mit der Krebsanfälligkeit zusammenhängen. In Übereinstimmung damit steht eine gesteigerte Krebshäufigkeit bei Patienten mit dem erblichen Dubin-Johnsons-Sprinz-Syndrom, bei dem ein Mangel an MnSOD auftritt (21).

Auch kann eine verringerte zelluläre Kapazität zur Reparatur von DNA-Schäden die Empfindlichkeit gegenüber genotoxischen und karzinogenen Effekten freier Radikale erhöhen. Es gibt Hinweise auf eine defekte DNA-Reparatur bei Patienten mit Xeroderma pigmentosum, einer Krankheit, die mit einem erhöhten Risiko für einen speziellen Hautkrebs assoziiert ist (64). Bei UV-induziertem Hautkrebs stellen Mutationen, die auf DNA-Schäden durch UV-Strahlung beruhen, die initialen genetischen Veränderungen dar. Oft handelt es sich um eine indirekte Wirkung des UV-Lichtes, die hauptsächlich durch Singulett-Sauerstoff vermittelt wird, der Purin-Basen modifiziert (80). So haben die Patienten mit Xeroderma pigmentosum ein erhöhtes Risiko für Hautkrebs, wenn erbliche Faktoren (verringerte Kapazität zur Beseitigung von DNA-Schäden) mit Umweltfaktoren (UVA-Licht) zusammentreffen.

Umweltfaktoren

Zahlreiche Umweltfaktoren (Zigarettenrauchen ist einer der häufigsten) können die Karzinogenese durch oxidativen Stress induzieren und/oder fördern - und zwar auch bei Menschen ohne erbliches Krebsrisiko. Neben den chemischen Karzinogenen sind ionisierende Strahlen sowie einige Metallionen und Mineralien am besten untersucht.

Durch oxidativen Stress bedingte Organerkrankungen

Gehirn und ZNS	Alzheimer-Krankheit, Parkinson-Krankheit, subarachnoidale Blutung, post-traumatische Ereignisse
Auge	Katarakt, Photo-Schädigung der Retina, angioproliferative Retinopathie
Respiratorisches System	Asbestosis, Speiseröhren-, Bronchial- und Lungenkrebs
Kardiovaskuläres System	Atherosklerose, Myokardinfarkt
Gastrointestinales System	Leber- und Dickdarmkrebs, Leberzirrhose, Ulcus (Stress-Ulcus des Magens)
Endokrine Pankreas-Anteile	Diabetes mellitus
Urogenitalsystem	Nieren- und Blasenkrebs (wahrscheinlich auch Prostatakrebs), Sterilität
Knochenmark und Blut	Leukämie (im Verbund mit Erb- und Umweltfaktoren, die zu Initiation und/oder Entwicklung des Krebses führen)
Haut	Hautkrebs (im Verbund mit Erb- und Umweltfaktoren)
Bewegungsapparat	gestörte Knochenheilung, Knochenresorption, muskuläre Hypoxie (Überanstrengung)

Neben diesen Organ-spezifischen Erkrankungen gibt es "generalisierte" Krankheiten und Prozesse, die den gesamten Organismus oder mehrere Organe betreffen: Autoimmunkrankheiten (chronische entzündliche Erkrankungen), Sepsis, Ischämie-Reperfusionsschäden (Organtransplantation), Blutungen (Hypovolämie), degenerative Krankheiten und den Alterungsprozess.

Strahlung

Ionisierende Strahlung führt zur Karzinogenese, indem sie sowohl auf der Stufe der Initiation als auch der Promotion wirkt. Es erscheint daher paradox, dass sie als therapeutische Maßnahme zur Verhinderung der Progression eingesetzt wird.

Ionisierende Strahlung ist zytotoxisch und zerstört zelluläre DNA, vor allem in rasch proliferierenden Zellen wie Krebs, aber auch in gesunden Zellen, zum Beispiel im Knochenmark oder im Darmepithel. Obwohl die Strahlungs-induzierte Karzinogenese scheinbar das Ergebnis der Schädigung des Genoms durch direkte Absorption von Energie durch die DNA ist, entstehen die schädlichsten Effekte durch die Ionisierung des Wassers und Bildung von ROS. Das erzeugte Hydroxylradikal ($^{\cdot}OH$) greift die DNA an und führt zur Bildung von modifizierten Purin- und Pyrimidin-Basen. Zusätzlich ergibt der Angriff auf die Desoxyribose eine Vielzahl von Produkten. Möglicherweise ist eine fehlerhafte DNA-Reparatur der Genschäden verantwortlich für dessen karzinogene Aktivität.

Unterschiedliche Wellenlängen verursachen verschiedene Arten von DNA-Schäden und Mutationen. Die UVB-Strahlung (290 bis 320 nm) erzeugt Pyrimidin-Dimere durch direkte Anregung des DNA-Moleküls. UVA (320 bis 400 nm) kann die DNA nur indirekt über die Reaktion eines Photosensibilisators schädigen. Diese indirekte Wirkung wird hauptsächlich durch Singulett-Sauerstoff vermittelt, der Purin-Basen modifiziert. Vermutlich gibt es unterschiedliche Reparaturmechanismen für direkte und indirekte UV-induzierte DNA-Schäden in menschlichen Zellen (80).

Eisen und Mineralien

Eisen ist an vielen biologischen Reaktionen beteiligt und für alle bekannten Lebensformen essentiell. Eisenhaltige Proteine der Atmungskette sind am Elektronentransport beteiligt, der die Energie für die zellulären Funktionen bereitstellt (108). Eisen wird auch für Zellwachstum und Zellteilung benötigt. Man weiß, dass es eine wichtige Rolle für die Aktivität der Ribonucleotid-Reductase spielt – ein Schlüsselenzym der DNA-Synthese, das für die Reduktion von Ribonucleotiden zu Desoxyribonucleotiden zuständig ist (108). Dieses Enzym hat einen hohen Turnover und ist auf einen kontinuierlichen Eisennachschub angewiesen.

Andererseits werden Metallionen, besonders Eisen, für die Bildung von Hydroxylradikalen benötigt, die die durch H_2O_2 and O_2- induzierten DNA-Schäden vermitteln. So könnte Eisen auch ein Verbindungsglied zwischen Krebs und Entzündungsvorgängen sein, da während einer Entzündung das transportierende Protein Transferrin und dessen Sättigung im Blut abnehmen, während gleichzeitig Eisen in Leber, Milz und Knochenmark kumuliert (36). In Tumoren wiederum ist die Konzentration des gesamten Eisens sowie die Sättigung des Transportproteins Ferritin niedriger als in Normalzellen. Es gibt jedoch Ausnahmen wie Brustkrebs, der Eisen zu akkumulieren scheint, und die Hodgkin-Krankheit, bei der Eisen und Ferritin sich um die tumorartigen Knoten anhäufen (36).

Die inflammatorischen und karzinogenen Effekte von Asbest hängen mit dessen Eisengehalt zusammen (63), wahrscheinlich über die Bildung von H_2O_2 und O_2^- innerhalb der Zellen. Der Prozess der durch Asbest induzierten und durch ROS vermittelten Schädigung schließt auch die Peroxidation von Lipiden ein und kann durch den Komplexbildner Desferroxamin gehemmt werden. Auf ähnliche Weise verursachen eisenhaltige Karzinogene oft die Bildung von 4-Hydroxynonenal (HNE), womit die Lipidperoxidation als ein möglicher Stoffwechselweg für die karzinogene Aktivität von Eisenionen erscheint (28).

Andererseits ist Krebs oft mit Anämie assoziiert. Die experimentelle Verabreichung des eisenhaltigen antianämischen Fe(III)-Sorbitol-Citrat-Komplexes hemmt die Proliferation verschiedener kultivierter Krebszellen der Maus (Melanom B16, KB und GHC Zellen) und führt zu einer Regression von Tumoren in vivo, ohne die Proliferation nicht-maligner Zellen (L929 Fibroblasten, HBS und Vero-Zellen) zu beeinflussen (27, 77). Eine erhöhte Zahl von Zellen in der G1- und frühen S-Phase des Zellzyklus legt nahe, dass ein Überschuss an Eisen den Zellzyklus vor Beginn der DNA-Synthese bremst (27). Darüber hinaus könnte Eisen die Atmungskette blockieren oder die Umwandlung des schwach toxischen Superoxid-Radikals O_2^- in stärker toxische freie Radikale katalysieren (73, 108), die zur Bildung von HNE führen könnten (23). Sowohl HNE als auch der Fe(III)-Sorbitol-Citrat-Komplex stören die DNA-Synthese und Zellproliferation durch noch ungeklärte Mechanismen (76, 117).

Als Reaktion auf einen DNA-Schaden oder eine fehlerhafte Aktivierung bestimmter Onkogene kann das verstärkt gebildete Tumor-supprimierende Protein p53 das Zellwachstum blockieren, und zwar primär in der G1-Phase des Zellzyklus und bis zu einem gewissen Grad auch in der G2-Phase (70). Wenn die DNA-Reparatur nicht vollständig gelingt, kann p53 zur Apoptose, dem programmierten Zelltod, führen, der auch durch ROS induzierbar ist (51, 54, 79).

Persistierender oxidativer Stress bei Krebs

Einige Krebsgewebe enthalten erhöhte Mengen von 7,8-Dihydro-8-oxo-2'-desoxyguanosin (8-OH-dG), das Mutationen auslöst (G:C in A:T Transversionen) (99). Es ist eines der Hauptprodukte unter den modifizierten DNA-Basen.

Hydroxylradikale, Singulett-Sauerstoff oder eine photodynamische Reaktion sind für die Bildung von 8-OH-dG verantwortlich (44). Höhere Konzentrationen von 8-OH-dG wurden zum Beispiel bei menschlichem Nierenzell-Karzinom, Brust-Karzinom, Schuppenzell-Karzinom der Lunge und Leberzell-Karzinom gefunden (55). Dies spricht dafür, dass die DNA in malignen Zellen ständig einem höheren oxidativen Stress ausgesetzt ist als in nicht-malignen Zellen. Es ist jedoch unklar, ob die ROS in den Krebszellen selbst gebildet werden oder in den nicht-malignen Bindegewebszellen im tumorösen Gewebe.

Ebenso ist noch offen, ob Krebszellen größere Mengen an ROS produzieren als nicht-neoplastische Zellen oder ob die antioxidativen Systeme im Krebs unterdrückt sind. Für die erste Möglichkeit sprechen Befunde über große Mengen an Wasserstoffperoxid, die von verschiedenen malignen Zellen in vitro spontan produziert werden (96). Wahrscheinlich wird 8-OH-dG in solchen Fällen über $^{\cdot}OH$ produziert, das aus H_2O_2 in Gegenwart von Metallionen (Eisen oder Kupfer) entsteht (34). In der Tat konnte die $^{\cdot}OH$-Bildung in Krebszellen nachgewiesen werden durch ein Spektrum von modifizierten DNA-Basen, die durch einen $^{\cdot}OH$-Angriff induziert wurden. Andererseits ist die Expression des Gens, das für eines der wichtigsten antioxidativen Enzyme, die Katalase, kodiert, zumindest in einigen Krebszellen (Hepatome) vermindert (81). Dazu passt, dass Tumoren oft eine geringe

SOD-Aktivität aufweisen, während der Metabolismus des Glutathions und der daran beteiligten Enzyme sehr variabel ist (95). Wahrscheinlich sind beide Mechanismen relevant: Krebszellen können größere Mengen an ROS produzieren und ihre antioxidativen Systeme können reduziert sein.

Leider überleben Krebszellen oft solchen oxidativen Stress. Dies könnte ein Grund sein für die relative Widerstandsfähigkeit mancher Krebszellen gegenüber einer Chemotherapie, die auf der ROS-Produktion beruht (67). Die Mechanismen der Resistenz sind unbekannt. Sie dürften teilweise auf der Produktion von Glutathion durch die Tumorzellen beruhen (71) sowie auf "komplementären" Mechanismen, an denen noch nicht gut untersuchte humorale Faktoren beteiligt sind (30, 116).

Die Bedeutung von fortgesetztem oxidativen Stress könnte in der kontinuierlichen Aktivierung von Transkriptionsfaktoren liegen, die durch eine veränderte Expression der Gene c-fos, c-jun und c-myc zu einer intensiven Proliferation führen (85). Zusätzlich können ROS auch Proteinase-Inhibitoren durch Oxidation von Methionin-Resten im aktiven Zentrum zerstören (alpha-1-Proteinase-Inhibitor, alpha-1-Macroglobulin, alpha-1-Plasmin) (43).

Es ist offensichtlich, dass ROS nicht nur eine bedeutende Rolle bei der Krebsinduktion und -promotion spielen, sondern auch bei dessen Progression. Folglich stellt Krebs selbst einen Zustand des oxidativen Stresses dar. Tabelle 2 fasst Faktoren des oxidativen Stresses zusammen, die für ein erhöhtes Krebsrisiko oder für eine bessere Prävention und Therapie wichtig sein können.

Relevante Faktoren des oxidativen Stresses für erhöhtes Krebsrisiko und/oder Krebsprävention und -therapie

Faktor	**Zielorgane (Organsysteme)**	**Wirkprinzip für**	
		Karzinogenese	**Krebsprävention oder –therapie**
Rauch (Zigaretten, Luftverschmutzung)	Atmungssystem, Urogenitaltrakt	vollständige chemische Karzinogene und mechanische Irritation durch Teerpartikel, Hypoxie, Immunsuppression	keine
Mineralien (Asbestose, Luftverschmutzung**)**	Atmungssystem, Gastrointestinaltrakt	oxidative Aktivität des Eisens und Siliziumoxides kombiniert mit mechanischer Irritation	mögliche Fänger-Aktivität einiger Mineralien für freie Radikale oder verschiedene Antikrebs-Effekte aufgrund ungeklärter Mechanismen
Ionisierende Strahlung (UV, Röntgenstrahlen)	Haut, Knochenmark, Urogenitaltrakt	direkte und indirekte DNA-Schäden	Strahlentherapie infolge Toxizität (DNA-Schäden speziell proliferierender Zellen)

Toxische Chemikalien (Farbstoffe, Konservierungsmittel)	Haut, Gastrointestinaltrakt, Atmungssystem, Urogenitaltrakt	mehrfache Effekte, einschließlich Prooxidantien und vollständige Karzinogene	mögliche Zunahme der ROS-Entgiftungssysteme (ungewiss)
Diät (Nahrungsmittel -Missbrauch)	Gastrointestinaltrakt, Urogenitaltrakt	meist verursacht durch pflanzliche Tumor fördernde Substanzen, Mukosa- Irritation und metabolische Störungen (Fett-, Fleisch- oder Glukose-Missbrauch)	pflanzliche Antioxidantien (ein möglicher Weg für die natürliche Chemoprävention und Therapie)
Medikamente (Arzneimittel, komplementäre Behandlungen)	Gastrointestinaltrakt, Urogenitaltrakt, Knochenmark	meist Cytochrom P450 der Leber betreffend, Chemotherapeutika (Zytostatika)	Chemotherapie infolge DNA-Schäden, Phototherapie, mögliches Aktivitätsprinzip einiger Pflanzenextrakte
Erbliche Faktoren (Xeroderma pigmentosum, Down-Syndrom)	Haut, Knochenmark	verringertes DNA-Repair-System nach mutagenen Effekten der ROS, verminderte antioxidative Kapazität	unbekannt
Entzündung* (chronisch)	Unspezifisch	zelluläre Produktion von ROS kombiniert mit Gewebeschäden	Blockierung der Tumor-Progression durch hemmende Effekte suppressiver Zytokine (TGF-beta, TNF-alpha), unspezifische Immunreaktion, Veränderung des Tumorstromas (Fibrose)

*: unsicher und nicht vollständig verstanden, dürfte jedoch mit mechanischer Irritation oder Reaktion auf eine spezielle Gewebsschädigung zusammenhängen, zum Beispiel entzündliche Reaktion auf Schäden, die durch Strahlung, Asbestose oder Rauchen verursacht wurden.

Lipidperoxidation und Geweberegeneration

Reaktionen freier Radikale in Geweben werden vom oxidativen Abbau poly-ungesättigter Fettsäuren in Membranlipiden begleitet (25). Dieser Prozess führt zur Produktion hochreaktiver Aldehyde, die als sekundäre toxische Botenstoffe (second toxic messengers) für die primären freien Radikale bezeichnet werden (24, 82). Der hochaktive Aldehyd 4-Hydroxynonenal (HNE) scheint eines der zytotoxischen Hauptprodukte zu sein, das unter normalen physiologischen Bedingungen in Geweben gefunden wird (24, 83).

Die physiologische Rolle von HNE ist noch nicht aufgeklärt, aber es scheint für die Kontrolle des Zellwachstums wichtig zu sein (6, 50, 113). Anders als freie Radikale oder die anderen ROS besitzt HNE die einzigartige Eigenschaft, nach Bindung an Makromoleküle wie etwa Proteine relativ stabil zu bleiben. Solche hochmolekularen

HNE-Konjugate kann man durch monoklonale Antikörper nachweisen. Sie könnten sogar für die biologischen Aktivitäten des HNE erforderlich sein (3, 111, 112). Weiterhin legen neuere Ergebnisse nahe, dass die Beeinflussung des Zellwachstums in vitro in Gegenwart physiologischer Konzentrationen von HNE (1mM) von der Anwesenheit gewisser Serumfaktoren abhängen könnte; dabei handelt es sich nicht um Albumin, das mit HNE reagiert und so die zytotoxischen Effekte des Aldehyds verringert (49, 113, 116).

Diese Beobachtung könnte bedeutend sein für das Verständnis des Mechanismus der biologischen Effekte von ROS. Eines der wesentlichen Charakteristika des oxidativen Stoffwechsels von Tumorzellen ist nämlich deren Widerstandsfähigkeit gegenüber Induktoren der ROS, was zu einer relativen Homöostase (steady state) endogener Produkte der Lipidperoxidation meist unter den normalen Werten führt (58). In ähnlicher Weise ist in rasch proliferierendem und nicht-differenziertem embryonalen Gewebe die endogene Lipidperoxidation erniedrigt, ebenso wie die Empfindlichkeit gegenüber prooxidativen Effekten von Agentien, die die Lipidperoxidation induzieren (7, 18). Da sich teilende Leberzellen in partiell hepatektomierten Ratten alpha-Tocopherol während der DNA-Replikation akkumulieren, liegt die Vermutung nahe, dass die Abnahme der Empfindlichkeit gegenüber der Lipidperoxidation eher ein Kennzeichen normaler Zellteilung als von Krebszellen ist (10). Damit übereinstimmend findet man in der Leber partiell hepatektomierter Tiere eine erhöhte Produktion des Tripeptids Glutathion (GSH) (41).

Veränderungen im Lipoprotein-Metabolismus während der Leberregeneration ähneln dem gestörten Lipoprotein-Stoffwechsel, der mit der Krebsentwicklung zusammenhängt (115), wie man aus Tierversuchen weiß (114). Es ist noch zu untersuchen, ob oxidativer Stress, der die Geweberegeneration begleitet, das Tumorwachstum durch Induktion der LDL-Peroxidation beeinflussen kann (19, 29). Dann könnten erhöhte Mengen von HNE mit Zytokinen und Wachstumsfaktoren interferieren, zum Beispiel dem Epidermalen Wachstumsfaktor (EGF), dem Plättchen-abhängigen Wachstumsfaktor (PDGF) oder dem transformierenden Wachstumsfaktor beta (TGF-beta), sowie mit anderen humoralen Faktoren (16, 49, 113, 116), die sowohl die Gewebsregeneration als auch das Krebswachstum beeinflussen. Folglich sollte es möglich sein, die Proliferation und Differenzierung von Krebszellen zugunsten einer Regression zu verändern, und zwar speziell durch die Induktion des programmierten Zelltods (54). Solche erwünschten Effekte von oxidativem Stress könnten durch Antioxidantien vermindert werden (100).

Entzündung und Krebs

Sowohl die Regeneration von Gewebe als auch Krebs stehen in enger Beziehung zu akuter und/oder chronischer Entzündung (98). Das wahrscheinlichste (patho-)physiologische Verbindungsglied sind aus Phagozyten stammende ROS, die die "oxidative Explosion" (oxidative burst) von Leukozyten (Entzündungszellen) vermitteln und in kultivierten Säugerzellen zytogenetische Veränderungen auslösen können (106). Möglicherweise werden auch Karzinogene während des oxidative burst durch Leukozyten aktiviert, besonders weil Cytochrom P450 eines der wichtigsten Enzyme ist, die an der Metabolisierung verschiedener Pharmaka beteiligt

sind (20, 90).

Andererseits sollten humorale Faktoren (Zytokine) untersucht werden, die in beiden Prozessen mitwirken. Das ist für jene Progressionsstufe besonders relevant, in der sich prämaligne ("Vor-Krebs") Läsionen in Krebs umwandeln. Das aggressive Verhalten des Krebses sollte eine Entzündungsreaktion des Organismus provozieren, um dessen Ausbreitung zu verhindern oder den Tumor zu zerstören. In diesem Zusammenhang sind die pro-inflammatorischen Zytokine Granulozyten-Makrophagen-Kolonie-stimulierender Faktor (GM-CSF), Tumor-Nekrose-Faktor alpha (TNF-alpha) und Interleukin-6 (IL-1) von besonderem Interesse (53, 60, 84). Die Promotorregion der Gene, die für diese Zytokine kodieren, enthält nämlich eine Bindungsstelle für den nuklearen Faktor kappa B (NF-kB), ein zytosolisches Gen-Enhancer-Protein, das durch ROS aktiviert wird (85).

In ähnlicher Weise aktiviert oxidativer Stress ein anderes potentes Genaktivator-Protein, Aktivator-Protein 1 (AP-1) (1). AP-1 schaltet Gene an, die für Wachstumsfaktoren, zum Beispiel die fibrogenen Zytokine TGF-beta und PDGF, kodieren; diese fördern mesenchymales Wachstum, was zur Bildung von Blutgefäßen und Bindegewebe führt. Beides wird sowohl bei der Entzündung als auch bei der Krebsentwicklung benötigt (47). Entzündung und Krebs können also als interferierende Prozesse betrachtet werden, die zwei allgemeine pathophysiologische Mechanismen gemeinsam haben: das Zytokin-Netzwerk und den oxidativen Stress.

An beiden Prozessen ist die Lipidperoxidation beteiligt. So ist oxidiertes Low Density Lipoprotein (oxLDL) ein potenter zytotoxischer, immunogener und pro-inflammatorischer Faktor, der die Produktion von Zytokinen durch Stromazellen (Fibroblasten, Endothelzellen, Makrophagen) anregt (78, 93). Das erhöht den oxidativen Stress und fördert die Ausbreitung der Entzündung, verbunden mit weiterer Lipidperoxidation und Bildung von HNE (75). HNE aktiviert AP-1, gefolgt von der Synthese von TGF-beta und der Fibrogenese (Bildung von Bindegewebe) (52). HNE könnte gleichzeitig die Fibrogenese fördern und das Krebswachstum hemmen.

Zum molekularen Mechanismus der Wachstums-modifizierenden Effekte des HNE gehört das c-fos-Gen (49,50). HNE erhöht die DNA-Bindungsaktivität des Transkriptionsfaktors AP-1 (12). Das c-Fos-Protein (das Produkt des c-fos-Gens) ist ein Transkriptionsfaktor in Säugetieren, der mit dem Transkriptionsfaktor c-Jun das heterodimere AP-1 bildet. Man nimmt an, dass die Existenz solch heterodimerer Faktoren eine neue Dimension zur Feinabstimmung der Transkriptionskontrolle schafft (88). Die entsprechenden Gene c-fos und c-jun gehören zur Gruppe der Gene der frühen Antwort (early response genes), deren Induktion ohne vorausgehende Proteinsynthese erfolgen kann. Es ist dazu nur die Modifikation prä-existenter Transkriptionsmodulatoren erforderlich. Zu den Agentien, die das c-fos-Gen (11) induzieren können, gehören der Epidermale Wachstumsfaktor und der Plättchen-abhängige Wachstumsfaktor oder einfach Serum.

Das c-fos-Gen ist für die Zellproliferation notwendig, weil c-Fos den Zellzyklus hinaufregulieren kann, indem es das Zyklin D1 induziert, das ein Bestandteil des

"Hauptschalters" des Zellzyklus ist (2, 72). HNE kann die c-fos-Genexpression sowohl stimulieren als auch hemmen und modifiziert außerdem die Effekte humoraler Faktoren, die die c-fos-Transkription fördern, was zu einer Hemmung des Krebswachstums führt; daher könnte dieser Aldehyd eine wesentliche Rolle spielen, um die Entzündung "gegen den Krebs zu wenden". Damit übereinstimmend fanden Poli und Mitarbeiter kürzlich eine Abnahme von HNE und TGF-beta in Patienten mit Dickdarmkrebs, während die Crohn´sche Erkrankung, eine aggressive entzündliche Darmerkrankung, mit einer erhöhten Produktion von HNE und TGF-beta assoziiert war (16).

Weitere Untersuchungen könnten zu neuen Verfahren in der Krebstherapie führen, die auf der Biomodulation des Krebses und auf der Reaktion des Organismus (Tumor-Wirt-Beziehung) beruhen. Diese Verfahren werden sicherlich die Entzündung als einen Schlüsselweg der Immunreaktion auf Krankheiten einbeziehen sowie bioregulative Mediatoren des oxidativen Stresses wie etwa HNE berücksichtigen (26, 33, 82, 117).

Literatur für Teil I und II beim Verfasser; Teil II erscheint als Titelbeitrag in der PZ 6/2000.

Anschrift des Verfassers:
Dr. med. Dr. rer. nat. Neven Zarkovic,
Arbeitsgruppenleiter im Rudjer Boskovic Institut,
Abteilung für Molekulare Medizin,
HR-10000 Agram (Zagreb),
Kroatien,
E-Mail: zarkovic@rudjer.irb.hr

© 1999 GOVI-Verlag
E-Mail: redaktion@govi.de