

# Warburg Hypothese

Warum normale Zellen sich zu Krebszellen entwickeln – die Rückbildung zu embryonalen Eigenschaften der Krebszellen beruht auf der evolutionsbiologisch programmierten Inaktivierung der Mitochondrien

Vor einem drei viertel Jahrhundert machte der deutsche Biochemiker Otto Warburg eine entscheidende Entdeckung: Er hatte erkannt, dass Krebszellen abweichend von normal differenzierten Zellen das universelle Energieträgermolekül Adenosintri-phosphat (ATP) überwiegend nicht mithilfe des molekularen Sauerstoffs in den Zellsymbionten, den Mitochondrien, produzierten. Warburg hatte zuvor als Erster das "Atmungsferment" in den Mitochondrien dargestellt. Dieser deutsche Terminus für eines der unverzichtbaren Enzyme der mitochondrialen Atmungskette ist bis heute auch in der angelsächsischen Wissenschaftssprache gebräuchlich geblieben.

Das Frappierende an Warburgs Entdeckung war jedoch, dass die von ihm studierten Krebszellen das ATP grösstenteils ausserhalb der Mitochondrien im Zellplasma aus Abbauprodukten des Zuckers (Glukose) mithilfe von Enzymen synthetisierten, auch wenn Sauerstoff vorhanden war (Warburg 1924). Dieser Befund widersprach der von dem französischen Chemiker und Entdecker der Mikroben Louis Pasteur Mitte des 19. Jahrhunderts erkannten Gesetzmässigkeit, dass der enzymatische Zuckerabbau durch Mikroben gehemmt wurde bei Zutritt von Sauerstoff (Pasteur 1876). Da die ATP-Produktion der Krebszellen direkt aus den Abbauprodukten der Glucose der Stoffwechselkette bis zum Pyruvatprodukt vor Eintritt des Pyruvats in die Mitochondrien erfolgte, nannte er diesen Prozess aerobe Glykolyse (in Anwesenheit von Sauerstoff, während der von Pasteur beobachtete fermentative Zuckerabbau unter Sauerstoffabschluss als anaerobe Glykolyse bezeichnet wird).

Warburg und seine Mitarbeiter am Kaiser-Wilhelm-Institut in Berlin folgerten aus der Abweichung vom Pasteurschen Gesetz in Krebszellen, dass der Sauerstoff in der Atmungskette aufgrund eines Defektes der Atmungsfermente nicht mehr verwertet werden konnte (Warburg 1949, 1956). Diese ursächliche Begründung des "Warburg-Phänomens" löste jahrzehntelange Kontroversen und erbitterte Wissenschaftsfehden aus, ohne dass das eigentliche Problem des Krebsstoffwechsels befriedigend erklärt werden konnte. Einige Jahre vor Warburgs Tod kam es zu einer letzten historischen Konfrontation beim alljährlichen Zusammentreffen der Nobelpreisträger in Lindau am Bodensee. Warburg hatte für seine Entdeckung des Atmungsfermentes als auch für den Nachweis der aeroben Glykolyse des Krebsstoffwechsels 1931 bzw. während des Zweiten Weltkrieges den Nobelpreis erhalten. Warburg hielt 1966 in Lindau einen

Vortrag zur "Primären Ursache und Prävention von Krebs", der bei seinen Kollegen heftige Kritik auslöste:

"Sauerstoffgas, Energiespender in Pflanzen und Tieren, ist entthront in den Krebszellen und durch eine Form der Energiegewinnung, nämlich die Fermentation der Glukose, ersetzt ... Aber niemand kann heute behaupten, dass man nicht sagen kann, was Krebs ist und was seine primäre Ursache ist. Im Gegenteil, es gibt keine Krankheit, deren Ursache besser bekannt ist, sodass Unwissenheit heute nicht länger als Entschuldigung dienen kann, dass man nicht mehr für die Prävention tun kann. Dass die Prävention gegen Krebs kommen wird, daran gibt es keinen Zweifel, da die Menschen ,berleben wollen. Aber wie lange die Prävention versäumt wird, hängt davon ab, wie lange die Propheten des Agnostizismus fortfahren werden, die Anwendung der wissenschaftlichen Erkenntnisse auf dem Gebiet der Krebsforschung zu verhindern. In der Zwischenzeit müssen Millionen Menschen unnötigerweise an Krebs sterben" (Warburg 1967, Werner 1996).

Es gibt verschiedene objektivierte Gründe, die gegen die Annahme sprechen, das "Warburg-Phänomen" werde durch einen primären Strukturdefekt der Atmungskette in den mitochondrialen Zellsymbionten verursacht. Aber 1966 konnten die Hypothesen von Warburg zur strukturellen Blockade des Systems der oxidativen Phosphorkopplung (OXPHOS-System) aufgrund der damaligen Forschungstechniken noch nicht hinreichend widerlegt oder bestätigt werden. Stattdessen wurde Warburg mit der Vorhaltung konfrontiert, er habe die krebserzeugende Rolle der Retroviren (damals noch als RNA-Tumorviren bezeichnet) nicht hinreichend berücksichtigt (Racker 1981).

Das Postulat der RNA-Tumorviren datiert aus dem Jahre 1911. Der Krebsforscher Peyton Rous filterte einen zellfreien Extrakt aus einem Muskeltumor durch ein Gewebe mit äusserst feinen Poren mit einem Durchmesser unter 120 Nanometer. Das Filtrat injizierte er Hühnchen und konnte maligne Sarkome (Krebs von Bindegewebszellen) hervorrufen. Seitdem spricht man vom Rous-Sarkomavirus (griechisch: virus = Gift). Rous selbst hatte Bedenken, sein Filtrat als infektiöse Zellen anzusehen: "Zunächst hat man die Tendenz, diese Entität, die sich selbst aktiv fortpflanzt in diesem Hühnchen-Sarkom, als einen winzigen parasitischen Organismus anzusehen. Die Analogie mit verschiedenen infektiösen Krankheiten des Menschen und niederer Tiere, verursacht durch ultramikroskopische Organismen, unterstützt diese Sicht der Befunde, und die gegenwärtige Forschungsarbeit ist darauf gerichtet, diese experimentell zu bestätigen. Aber ein Wirkmechanismus anderer Art steht noch nicht ausser Frage. Es ist vorstellbar, dass ein biochemischer Wirkfaktor, von den Tumorzellen abgesondert, den Sekundärtumor in einem anderen Wirtstier verursacht und

als Folge die weitere Produktion des selben Wirkfaktors hervorbringt" (Rous 1911).

Die Entdeckung von Rous wurde in zahllosen Untersuchungen an Vögeln und Mäusen bestätigt. Bei der folgenden Entwicklung des Elektronenmikroskops in den dreissiger Jahren spielte die Möglichkeit, solche übertragbaren Virus-Partikel sichtbar zu machen, eine wichtige Rolle. Als Claude nach dem Zweiten Weltkrieg elektronenmikroskopische Bilder von Virus-Partikeln in Rous-Sarkoma von Hühnchen demonstrierte, "gab die direkte Beobachtung von Virus-Partikeln in diesen experimentellen Tumoren einen enormen (heute würden wir vielleicht sagen, einen exzessiven) Impuls für die Virusforschung in der Krebsmedizin" (Claude 1947, De Harven 1998 b, 1998 c). Äuss erst intensive und aufwendige Untersuchungen, Virus-Partikel zu demonstrieren, die mit menschlichen Krebszellen hätten assoziiert sein können, blieben nämlich völlig ohne Ergebnis:

"Über '\*virusähnliche Partikel\*' wurde gelegentlich berichtet, aber diese überzeugten niemand. Typische Viren wurden niemals eindeutig demonstriert. Diese Tatsache stand in scharfem Kontrast mit der hoch reproduzierbaren Demonstration, von Viren in einer Vielfalt von Leukämien und Tumoren bei Mäusen und Vögeln", mittels Elektronenmikroskopie, (De Harven 1998 b, De Harven 1965).

Zum Zeitpunkt, als Warburg von seinen Kollegen belehrt wurde, dass RNA-Tumoviren die voraussichtliche Ursache von menschlichen Krebszellen seien, hatte sich die Retrovirus-Krebs-Forschungsszene entscheidend gewandelt:

"Publikationen dieser negativen Befunde (über fehlenden EM-Nachweis von Retroviren in Tumorzellen beim Menschen) konnten fanatische Virusjäger nicht entmutigen...Unglücklicherweise bildeten viele virusähnliche Partikel Bruchstücke aus Zellmüll mit und ohne Hülle, ähnlich aussehend wie ‚geschwänzte‘ Strukturen, wenn sie für die negative Färbetechnik luftgetrocknet wurden. Die Interpretation solcher ‚geschwänzter‘ Partikel als RNA-Tumoviren wurde deshalb eine Bonanza für Virusjäger!

Wir hatten jedoch demonstrieren können, dass \*geschwänzte\* Virionen Laborartefakte waren, die bei sauberer Kontrolle der Osmolarität und durch Osmium-Fixierung vor der Negativ-Färbung vermeidbar waren, oder durch die Critical-Point-Färbetechnik. Das Chaos, das durch Berichte über \*geschwänzte\* Partikel geschaffen wurde, schadete der Glaubwürdigkeit der Elektronenmikroskopie bei der Suche nach Viren, die mit Krebs verbunden waren. Kuhmilch und Muttermilch wurden nach \*geschwänzten\* Partikeln durchforscht, und Sol Spiegelman (damals ein bekannter Retrovirus-Krebsforscher) war sehr beredsam bei der Warnung vor den möglichen Risiken beim Säugen mit Muttermilch ..." (De Harven 1998 b).

Ab diesem Zeitpunkt wurde die kombinierte elektronenmikroskopische und biochemische Identifizierung von Retroviren nach exakt vorgegebenen Standardregeln mehr und mehr verdrängt und ersetzt durch "molekulare Marker" (De Harven 1998 c) zum "Nachweis, Isolation und Produktion" (Popovic 1984) von Retroviren in menschlichen Tumor-, Leukämie- und schliesslich Lymphzellen.

Nach der neuesten Zählung von "Viren als Ursachen von Tumoren" beim Menschen des deutschen Krebsforschungszentrums soll es heute rund 220 verschiedene Viren geben, die "das Wachstum menschlicher Zellen fördern" (Kohlstädt 2000), beinahe doppelt so viele wie es menschliche Krebsformen gibt. Entscheidende Erkenntnisse zum Verständnis des Krebsrätsels sollten jedoch erst rund 30 Jahre später (seit Einführung von "molekularen Markern" als Ersatz für echte Retrovirus-Isolation) durch die bahnbrechenden Befunde der Stickoxid(NO)-Forschung und Zellsymbiose-Forschung gewonnen werden, welche die Forschungsdaten zahlreicher anderer Forschungsgebiete zu einem plausiblen Gesamtkonzept integrieren können.

Die Hypothese von Warburg, dass die primäre Ursache der Transformation von differenzierten Zellen zu undifferenzierten Krebszellen durch einen primären Strukturdefekt in den Komplexen der oxidativen Atmungskette der Mitochondrien bedingt sei, war logisch nahe liegend, da Krebszellen trotz gegebener normaler Sauerstoffspannung in den Zellen diesen nur in stark vermindertem Umfang zur Produktion von ATP nutzen. Warburgs Annahme hat sich aber als unzutreffend herausgestellt:

"Im Gegensatz zu der Annahme von Warburg sind solche Zelllinien weniger krebserzeugend, die Defekte in der Atmungskette aufweisen als Zelllinien mit aktiver Atmungskette" (Mazurek 1997).

Diese Feststellung ist von fundamentaler Bedeutung, da sie frühere Forschungsbefunde bestätigt, dass sich menschliche Zellen ohne nachweisbare Strukturdefekte der mitochondrialen DNA (übersicht bei Cuezva 1997) bzw. ohne Strukturdefekte der DNA im Zellkern (Lijinsky 1973, 1992)

zu Krebszellen transformieren . Diese Forschungsdaten erschüttern jedoch die bis heute vorherrschende Lehrmeinung, dass die Transformation zu Krebszellen ausgelöst werde durch Strukturdefekte von DNA-Sequenzen im Zellkern (Zufallsmutationen, Virusinfektionen, toxische DNA-Schädigung, Strahlenschäden u. a.).

Die ursprüngliche Entdeckung von Warburg aus den zwanziger Jahren, dass Krebszellen ihre Betriebsenergie überwiegend aus dem Glukoseabbau im Zellplasma ohne Nutzung des vorhandenen Sauerstoffs gewinnen, also aus aerober Glykolyse, wurde in vielen Untersuchungen in Krebszellkulturen und in Tierexperimenten immer wieder bestätigt (Warburg 1929, Crabtree 1929, Burk 1967, Krebs 1972, Racker 1976, Weinhouse 1976, Eigenbrodt 1980, Racker 1981, Argiles 1990, Bagetto 1992, Mathupala 1997, Mazurek 1997, Bannasch 1997, Brand 1997 a, Capuano 1997).

Die aerobe Glykolyse als Energiequelle muss für transformierte Zellen jedoch nicht die einzige und obligatorische Energiequelle sein, unter Bedingungen des Glukosemangels können Krebszellen auch andere Nährsubstrate nutzen, beispielsweise durch Oxidation von Glutamin oder Abbau von Galaktose (McKeehan 1982, Mazurek 1997). Das Ablösen und Auswandern von Tumorzellen als Tochterzellen (Metastasen) benötigt allerdings die aerobe Glykolyse als Betriebsenergie und für Biosynthesen (Mazurek 1997). Die erheblich um das 18- bis 38-fache gesteigerte Rate des aeroben Glukoseabbaus bis zur Pyruvat- und Laktat-Stufe bei gleich bleibender oder verminderter Basisoxidation von Pyruvat im Zitronensäure-Zyklus der Mitochondrien (Golshani-Hebroni 1997, Brand 1997 a, 1997 b) gleicht die geringe Energieausbeute der aeroben Glykolyse von lediglich 5 % der in der Glukose verfügbaren Energie aus (Mazurek 1997). Der erhöhte Glukoseumsatz und die daraus resultierende Zunahme der Milchsäureproduktion (Laktat) um etwa das 19-fache gegenüber normalen Zellen im Ruhezustand galt seit der Entdeckung durch Warburg bis vor wenigen Jahren als "metabolisches Rätsel" (Mathupala 1997, Brand 1997 b).

Entscheidend für die Lösung des Krebsrätsels ist die Tatsache, dass bei Leberkrebszellen, ebenso wie bei anderen Tumorzellen, genau die Umkehrung der Differenzierung und Proliferation der Mitochondrien demonstriert werden konnte. Die Anzahl der Mitochondrien und die Aktivität der Mitochondrien in den Leberkrebszellen nimmt stark ab. Es zeigt sich jedoch (genau wie bei den fötalen Zellen kurz vor der Geburt) das scheinbare Paradox, dass die Transkripte der RNA-Botschaften für die Synthese der Eiweisskomplexe der Atmungskette und für den Komplex V für die ATP-Synthese (OXPHOS) im Vergleich zu erwachsenen Leberzellen in erhöhtem Masse synthetisiert werden ohne in Eiweissynthese umgesetzt zu werden.

Dieser Befund gilt gleichermaßen für die RNA-Botschaften der entsprechenden Zellkern-Gene wie auch für die RNA-Transkripte der mitochondrialen Gene.

Im Gegensatz dazu ist die Synthese der Enzyme für die glykolytische ATP-Produktion im Zellplasma (Warburg-Phänomen) im Vergleich zu den erwachsenen Leberzellen wesentlich gesteigert. Diese Enzyme sind jedoch in den Krebszellen identisch mit Isoformen der fötalen Enzyme für die Glykolyse (vor allem Hexokinase II, dessen genetische Expression um das 5-fache erhöht ist). Ebenso wie in den fötalen Zellen ist die Synthese von Nukleinsäuren, Enzymen und Co-Enzymen sowie anderen Molekülen für den forcierten DNA-Aufbau für die stark erhöhte Zellteilung um ein Vielfaches gesteigert. Diese Moleküle werden aus Komponenten des Glukoseabbaus über einen besonderen Stoffwechselweg (Pentose-Phosphat-Stoffwechselweg) synthetisiert. Umgekehrt bleibt analog zu fötalen Zellen in den Leberkrebszellen der Zufluss von Glukosabbauprodukten zur Oxidation im Citratzyklus der Mitochondrien moderat. Analog ist der Transport von Wasserstoff-Ionen für das mitochondriale OXPHOS-System mittels molekularen Fähren (Glycerol-3-Phosphat-shuttle und malate-aspartate-shuttle), ebenso wie in den fötalen Zellen, eingeschränkt oder blockiert. Der Wasserstoff wird in normal differenzierten Zellen mit aktivem OXPHOS-System von dem in der glykolytischen Stoffwechselkette gebildeten  $\text{NADH} + \text{H}^+$  auf die Fähren übertragen und von diesen in die Mitochondrien geschleust.

Auf der genetischen Ebene ergeben sich ebenso frappierende Übereinstimmungen zwischen fötalen und Krebszellen. Es werden in beiden Zelltypen redoxabhängig veränderte Transkriptionsfaktoren stimuliert. Diese schalten Promoter-Regionen (Promoter bestimmen, welche Gen-Abschnitte für die Biosynthese von Eiweißen und Enzymeiweißen exprimiert werden) und Gen-Sequenzen an, die in der differenzierten erwachsenen Zelle sensitiv sind für Glykose, Hypoxie, Pseudohypoxie, Insulin und Glukagon. Aufgrund der Summe der genetischen, metabolischen und bioenergetischen Übereinstimmungen zwischen fötalen und Krebszellen ist der zutreffende Terminus der "Re-Fötalisierung" der Tumorzellen geprägt worden (Übersicht bei Cuezva 1997, Capuano 1997, Brand 1997 b, Mathupala 1997, Mazurek 1997, Bagetto 1997, Bannasch 1997, Dorward 1997, Dang 1997, Golshani-Hebroni 1997).

Die bioenergetische Kooperation der mitochondrialen Zellsymbionten mit den fötalen Zellen (Cuezva 1997), den sich replizierenden Zellen in der späten S-Teilungsphase (Brand 1997 b), den sich bei der Wundheilung regenerierenden Zellen (Capuano 1997) und den Tumorzellen mit unterschiedlich rascher Reproduktionsrate (Cuezva 1997) gehorcht offensichtlich den gleichen Gesetzmässigkeiten. Der elementare Unterschied

zwischen den Aktivitätszuständen der Zellformen ist dadurch gegeben, dass die fötalen Zellen mit den Zellsymbionten bis zur Geburtsstunde noch nicht, die sich in der S-Teilungsphase replizierenden Zellen sowie die Zellen im frühen Regenerationsstadium der Wundheilung zeitweilig nicht und die Tumorzellen überdauernd nicht mehr über das OXPHOS-System reguliert werden.

Zum Verständnis der Re-Fötalisierung und des Warburg-Phänomens sollen hier folgende Annahmen eingeführt werden:

- Das menschliche Genom ist wie in allen eukaryoten Zellformen aus der Integration von zwei Genom-Kulturen, dem archaebakteriellen und proteobakteriellen Genom, entwickelt worden. Die informationellen Gene stammen überwiegend von den archaebakteriellen Genen ab, die operativen Gene primär von den proteobakteriellen Genen (Gray 1999).

- Das Energiegewinnungssystem der archaebakteriellen Stammzelle in der archaischen Zellsymbiose ist die Glykolyse zur enzymatischen ATP-Produktion. Das Reduktionsprodukt ist das Laktat. Die genetische Ausstattung für die glykolytischen Enzyme ist evolutionsbiologisch konserviert worden. Das ursprüngliche Energiegewinnungssystem der Proteobakterien, der Vorläuferzellen der Mitochondrien (vor Installation der Atmungskette), ist die Energiebereitstellung mit Wasserstoff als reduziertes Endprodukt (mittels der Hydrogenosomen). Zusätzlich konnte die Oxidation von Glutamin (Glutaminolyse) im Citratzyklus der Proteobakterien, der metabolisch und evolutionsgeschichtlich dem Aufbau der Atmungskette und des OXPHOS-Systems vorgeschaltet ist, als Energiequelle genutzt werden. Das Oxidationsprodukt ist das Glutamat.

- Das glykolytische Replikationssystem (Zellteilung) wird dominant vom archaebakteriellen Genomanteil gesteuert, die Biogenese der Mitochondrien vermutlich dominant vom proteobakteriellen Genomanteil (im Zusammenspiel zwischen archaebakteriellen sowie proteobakteriellen Genen im Zellkern und den proteobakteriellen Genen in den Mitochondrien). Während der Aktivitätsphase der Zellteilung (S-Phase der physiologischen Zellteilung, frühe Wundheilungsphase, fötale Zellteilung, Tumorzellteilung) ist eine ausreichende Produktion von glykolytischer Energie und von Phosphometaboliten für die Zellteilung gegeben. Primärer Antrieb für die glykolytischen Enzyme (Hexokinase II u. a.) ist die Wasserstoffionen-Diffusion aus der Mitochondrien-Membran. Die "quantendynamische Tiefe" (Komplexität) der Photonen-Oszillation ist geringer als in der aktiven OXPHOS-Phase der respiratorischen Zellsymbiose. Diese reduzierten quantendynamischen Zustände werden in den Tumorzellen bisher als "Entdifferenzierung" interpretiert.

Die quantendynamischen Zustände sind jedoch keine linearen Ein-Aus-Schalter, sondern unterliegen in ihren Grenzphasen nicht-linearen, quasi-

deterministischen Gesetzmäßigkeiten, die von komplexen zellulären und zellübergreifenden Einflussgrößen moduliert werden (Waliszewski 1998).

- Die gesteigerte "quantendynamische Tiefe" der aktivierten Zellsymbiose ermöglicht eine höhere Fluidität durch die Produktion vermehrter Mengen fluider Oxide (nitrogene Oxide, Superoxide, Peroxide). Das Peroxinitrit als Produkt aus gleichen Mengen Stickstoffmonoxid (NO) und Superoxid-Anion (O<sub>2</sub><sup>-</sup>) scheint eine Schlüsselrolle für die Aufrechterhaltung und Variabilität des bioenergetischen Potentials der Mitochondrien-Membran zu spielen. Letztere dient als Checkpoint für das Ca<sup>2+</sup>-Cycling. Zu hohe Oxidmengen führen zum Absinken des Membranpotentials und zur erhöhten Membrandurchlässigkeit (als Auslöser für Apoptose und Nekrose), zu geringe Oxidmengen zur Stabilisierung des Membranpotentials und verminderter Membrandurchlässigkeit (als Auslöser für Degeneration und Transformation). Die archaebakteriellen Genomanteile sind als informationstragende Gene sensibler gegen erhöhte Oxid-Produktion als die proteobakteriellen Genomanteile. Über redoxabhängige Transkriptionsfaktoren wird bei oxidativem und nitrosativem Stress auf der genetischen Ebene die Expression der Biosynthese von Gegenregulatoren aktiviert. Teil des Systems der Gegenregulation ist die Biosynthese der Cytokin-Eiweiße vom Typ2, welche die Synthese der Stickstoffmonoxide sowie der Superoxide und der Peroxide hemmen und weitere komplexe Kaskaden von Gegenregulationen auslösen (zusammenfassend hier als TypII-Gegenregulation der Zelldysymbiose bezeichnet).

- Die TypII-Gegenregulation, die übergeordnet über Steroidhormone, Insulinhormon, Thyroidhormon und andere Hormone moduliert wird, drosselt die OXPHOS-Aktivität, erhöht das mitochondriale Membranpotential und vermindert die mitochondriale Membrandurchlässigkeit sowie die Sensitivität von Immun- und Nicht-Immunzellen für externe Stress-Stimuli. Diese redoxabhängige Umschaltung zum TypII-Status ist u. a. bestimmt von Stärke, Dauer und Art der externen und internen Stress-Stimulation sowie vom Zelltyp, der Vorschädigung der Zellsymbiose und der Erschöpfung des antioxidativen Thiol-Pools sowie anderer enzymatischer und nicht-enzymatischer Antioxidantien.

- Phasen exzessiver nitrosativer Stress-Zustände führen infolge Bindung von NO und seinen Derivaten an Nicht-Eiweißthiole (Nitrosation von Glutathion (GSH) zu GSNO, Cystein zu SNO-Cys u. a.) zur Bildung von Nitrosothiolen. Nach Erschöpfung des Thiol-Pools binden NO und seine Derivate an thiolhaltige Eiweiße (Nitrosylation von R-SH zu RSNO). Infolgedessen werden funktionsregulierende Eigenschaften der zellulären Kontrolle von Membraneiweißen der Rezeptoren und Ionenkanäle, signalübertragenden Eiweißsubstanzen, Transkriptionseiweißen und Enzymeiweißen verändert (übersicht bei Stamler 1995).

Unter der begründeten Annahme unterschiedlicher Sensitivitätsschwellen der archaebakteriellen und proteobakteriellen Genomanteile gegen nitrosative



Stress-Zustände ist in diesem Falle eine Dissoziation des Zusammenspiels der evolutionsbiologisch unterschiedlich strukturierten Genomanteile zu erwarten. Einerseits wird unter diesen Bedingungen über archaebakterielle Genaktivitäten eine massive TypII-Gegenregulation ausgelöst, um den nitrosativen Stress zu minimieren. Andererseits werden die proteobakteriellen Genaktivitäten weiterhin Transkripte für die Biosynthese der Eiweißkomplexe der Atmungskette und des OXPHOS-Systems synthetisieren. Wegen der weitgehenden Blockade der Durchgangspassage der Mitochondrien-Membranen infolge erhöhter Membranpotentiale (Golshani-Hebroni 1997) für Eiweiße und Ionen (vor allem Calcium-Ionen) können die Eiweiße für die Komplexe der Atmungskette und das OXPHOS-System nicht mehr optimal geliefert werden.

Dieses vernetzte Funktionsmodell erklärt das scheinbare Paradox der Bereitstellung von Transkripten für die Mitochondrien-Eiweiße ohne ausreichende Umsetzung in Eiweißsynthese sowie den Schwund der Anzahl und der Aktivität der Mitochondrien in den vorübergehenden Aktivitätsphasen der Zellteilung (fötale Zellen, späte Phase der physiologischen Zellteilung, frühe Wundheilungsphase) und den überdauernden Zellteilungsphasen der Tumorzelle.

Im Falle der Tumorzellen sind diese an der Exekution des programmierten Zelltods (Apoptose) bzw. des plötzlichen Zelltods (Nekrose) gehindert, da diese die Absenkung des mitochondrialen Membranpotentials und die Öffnung der Mitochondrien-Schleusen voraussetzen. Stattdessen wird die aerobe Glykolyse zur enzymatischen ATP-Produktion im Zellplasma forciert. Antriebselement ist der aus den Mitochondrien diffundierende Wasserstoff. Die Glukoseabbauprodukte der Glykolyse werden über den Pentose-Phosphat-Stoffwechselweg in die Nukleinsäure- und DNA-Synthese zur Zellteilung investiert. Ein erhöhter Anfall von Phosphormetaboliten aus dem Pentose-Phosphat-Stoffwechselweg hält die Zellteilungszyklen in Gang. Die glykolytischen Zellen transformieren sich zu Tumorzellen und bleiben im Zellteilungszyklus gefangen.

Die Tumorzelle ist also die überdauernde Rückbildung (Regression) der oxidativen Zellsymbiose in das evolutionsbiologische Frühstadium der Zellsymbiose zwischen Archaebakterien und Proteobakterien, in das Stadium der ersten Eukaryotenzellen, die als Protista bezeichnet werden (Kremer 1997 b, 1998 d, 1999). In diesem Symbiose-Stadium (Proto-Zellsymbiose der Protista) profitierten die Eukaryoten von der Wasserstoff-Diffusion der Proteobakterien (übersicht bei Gray 1999). Erst die spätere Entwicklung einer Atmungskette als Elektronentransportweg für den elektromotorischen Antrieb der Wasserstoffionen-Kompressionspumpen ermöglichte die Umkehr des Wasserstoffantriebs der Hydrogenosomen für die oxidative

Phosphorkopplung (OXPHOS) zur stark erhöhten ATP-Synthese in den Mitochondrien.

Unter pathophysiologischen Bedingungen kann der "Hybrid-Antrieb" der Zellsymbiose in zwei Richtungen übersteuert bzw. untersteuert werden: Einerseits kann unter Einfluss vielfältiger akuter Stressoren die Produktion von oxidativen / nitrogenen Oxiden, Superoxiden und Peroxiden zu stark erhöht sein und die Gegenregulation durch den Thiol-Pool und andere antioxidative Systeme versagen. Die Folge ist eine zu hohe Fluidität und "akute Infektion" durch die Zellsymbionten. Das Membranpotential der Mitochondrien sinkt unter einen kritischen Schwellenwert ab, die Durchlässigkeit der Schleusen der Mitochondrien-Membran (englisch: permeability transition, PT) ist gesteigert, es werden zu viel  $\text{Ca}^{2+}$ -Ionen und induzierende Eiweiße aus den Zellsymbionten freigesetzt, die Zellkern-DNA und andere Zellstrukturen werden durch eine Kaskade von eiweißspaltenden Enzymen abgebaut. Abhängig von der Geschwindigkeit des Abfalls der oxidativen ATP-Produktion tritt der programmierte Zelltod oder Nekrose ein (übersicht bei Richter 1996, Kroemer 1997, Zamzami 1997). Die mitochondrial ausgelöste Apoptose und Nekrose sind Ausdruck einer dekompensierten Dysregulation der Zellsymbiose, die abhängig ist von einer Dominanz der Typ1-Cytokin-Muster. Diese Reaktionsform der Zellsymbiose wird deshalb hier als TypI-Überregulation der Zelldyssymbiose bezeichnet (TypeI-AEDS). Klinische Manifestationen sind Akutinfektionen, inflammatorische Prozesse und, nach nekrotischem Zellverfall, Autoimmunreaktionen und Autoimmunerkrankungen (übersicht bei Mosmann 1996, Abbas 1996, Lucey 1996).

Andererseits kann unter Einfluss vielfältiger chronischer Stressoren eine zu hohe Nitrosation von Nicht-Eiweiß-Thiolen und sekundär Nitrosylation von Thiol-Eiweißen die Produktion von nitrogenen Oxiden, Superoxiden und Peroxiden stark hemmen. Die Folge ist eine zu geringe Fluidität und "chronische Infektion" durch die Zellsymbionten: Das Membranpotential der Mitochondrien ist auf hohem Niveau fixiert, die Durchlässigkeit der PT-Schleusen stark eingeschränkt, das behinderte  $\text{Ca}^{2+}$ -Cycling führt zur Hemmung der Biogenese der Anzahl und Aktivität der Mitochondrien. Der bioenergetische "Hybrid-Antrieb" kehrt sich um, die Zufuhr von Wasserstoff-Ionen durch die Glycerol-3-Phosphat- und malate-aspartate-shuttle vom Zellplasma in die Mitochondrien ist gestört, die Kompression von Wasserstoff-Ionen durch den Elektronentransfer in der Atmungskette für das OXPHOS-System der Mitochondrien ist behindert. Die Zellsymbionten produzieren vermindert ATP zur Eigenversorgung. überschüssige Wasserstoffionen diffundieren in das Zellplasma und verstärken den "antioxidativen Stress" der sich transformierenden Zelle infolge der kritischen Phasenverschiebung des negativen Redox-Potentials. Die Folge ist die fortgesetzte genetische Expression der fötalen Isoform des glykolytischen

Enzyms Hexokinase II, das die Stoffwechselkette zur überwiegenden ATP-Produktion durch aerobe Glykolyse anschaltet.

Die Abbauprodukte des Zuckerstoffwechsels werden über den Pentose-Phosphat-Stoffwechselweg in die forcierte Zellteilung investiert. Die Zellen sind re-fötalisiert, die Wechselschaltung der zuvor intakten Zellsymbiose funktioniert nicht mehr, die transformierten Zellen bleiben im Teilungszyklus gefangen (übersicht bei Cuezva 1997, Capuano 1997, Brand 1997 b). Ohne Ausgleich des Thiol-Pools und die Phasenumkehr zum adäquaten negativen Redox-Potential kann die aerobe Glykolyse nicht mehr abgeschaltet werden. Die präventive und therapeutische Konsequenz kann deshalb primär nur die biologische Ausgleichstherapie des Thiol-Pools sein.

Nach diesem Erklärungsmodell der untersteuerten TypII-Zelldyssymbiose (identisch mit der archaischen Zellsymbiose der wasserstoffspendenden Proto-Mitochondrien) ist zu erwarten, dass hoch glykolytische Tumorzellen am stärksten gegenreguliert sind und eine geringe NO-Synthese aufweisen. Aus diesem Grunde dürften NO-unsensible Tochterzellen von hoch glykolytischen Tumorzellen die beste Chance haben auf ihrem metastatischen Wanderweg zu überleben, da sie gleichzeitig wegen ihrer hohen Laktatproduktion vermehrt proteolytische (eiweißspaltende) Enzyme, Metalloproteinasen und andere Proteinasen absondern, sich ihren Weg durch die extrazelluläre Matrix bahnen und Anschluss an kapillare Blutgefäße finden. Andererseits dürften Chemotherapeutika, welche die cytotoxische NO-Synthese aktivieren, wie beispielsweise Cisplatin (Kröncke 1995, Son 1995) oder Taxol (Jun 1995) die Gefahr erhöhen, selektiv in Tumorzellen die TypII-Gegenregulation noch zu verstärken und resistente Metastasen-Bildung zu begünstigen.

Um das optimale Gasmisch aus NO, ROS und Peroxinitrit für das Mikro-Gaia-Milieu der intakten Zellsymbiose zu gewährleisten, bedarf es deshalb vom ersten Atemzug an der ständigen Feinregulierung durch den Thiol-Pool und andere enzymatische und nicht-enzymatische Antioxidantien. Unter diesen Bedingungen oxidiert das Peroxinitrit anscheinend benachbarte Schwefel-Wasserstoff-Gruppen (SH-Gruppen) in Eiweißen der inneren Mitochondrien-Membran und schließt die SH-Gruppen kurz. Auf diese Weise wird die Öffnung der Mitochondrien-Membran ohne Verlust des Membranpotentials erleichtert. Analog oxidiert Peroxinitrit SH-Gruppen von Mitochondrien-Eiweißen und ermöglicht die enzymatische Spaltung durch Wasseraufnahme (Hydrolyse) von oxidiertem NAD<sup>+</sup>. Das Spaltprodukt von NAD<sup>+</sup>, ADP-Ribose, aktiviert die spezifische Freisetzung von Ca<sup>2+</sup> aus den Mitochondrien in das Zellplasma. Beteiligt an der Hydrolyse des NAD<sup>+</sup> (in ADP-Ribose und Nicotinsäureamid) ist das Enzym Cyclophilin (Peptidyl-prolyl-

cis-trans-isomerase), das gleichfalls die PT-Schleusen für den  $Ca^{2+}$ -Stoffwechselweg öffnet (Richter 1996, Zamzami 1997, Kroemer 1997).

Die medikamentöse Blockade des Cyclophilin-Enzyms durch Langzeitmedikation mit Cyclosporin A ist ein aufschlussreiches Modell für die Krebsgenese infolge Umkehr der bioenergetischen und metabolischen Differenzierung und Reifung der Zellsymbionten und die damit verursachte Re-Fötilisierung der Tumorzelle (Typ II der Gegenregulation der Zelldyssymbiose). Diese aus einem Bodenpilz gewonnene Substanz (ein Undekapeptid) wird seit 1983 bei organtransplantierten Patienten zur Hemmung von Abstoßungsreaktionen, aber auch bei Patienten mit Autoimmunkrankheiten eingesetzt. Diese Medikation hat bei einem nicht unerheblichen Teil der transplantierten Patienten die Entwicklung von Lymphomen (Krebs der B-Lymphzellen) und anderen lymphoproliferativen Folgekrankheiten sowie von Karzinomen und opportunistischen Infektionen hervorgerufen (Penn 1991). Diese klinische Manifestation gleicht in fataler Weise dem Auftreten von Kaposi-Sarkomen, Lymphomen, Karzinomen und opportunistischen Infektionen nach Medikation von Azathioprin bei organtransplantierten Patienten seit den sechziger Jahren, wie bereits dargestellt (Krikorian 1978, Penn 1979, Penn 1981).

Cyclosporin A bildet einen Komplex mit Cyclophilin, das in Immunzellen als Immunoophilin bezeichnet wird. Dieser Komplex bindet an Calcineurin (Serin-Threonin-Phosphatase) und hemmt dessen Aktivität. Calcineurin wird in T-Helferzellen vom Typ 1 aktiviert, wenn diese mit ihren Rezeptoren auf Signale eines passenden Antigen-MHC-Komplexes einer Antigen-präsentierenden Zelle reagieren. In diesem Falle wird der Calcium-Spiegel in den TH1-Immunzellen erhöht und Calcineurin spaltet einen Phosphorsäureester ab von einem bestimmten Transkriptionsfaktor im Zellplasma. Dieser wandert dann in den Zellkern und löst die Transkription (Umschreibung eines Gens in Boten-RNA) für die Biosynthese des Typ 1-Cytokins, Interleukin-2 (IL-2) aus. IL-2 induziert die Synthese von Interferon- $\gamma$ , das wiederum die Synthese von cytotoxischem NO-Gas zur Antigenabwehr auslöst.

Durch die Bindung des Cyclophilin-(CSA)-Komplexes an Calcineurin wird letzteres nicht aktiv und die Synthese von IL-2 unterbleibt (Clipstone 1992, Schreiber 1992, Bierer 1993). Die durch IL-2-Hemmung hervorgerufene mangelnde Produktion von cytotoxischem NO bei organtransplantierten Patienten, die mit CSA behandelt wurden, erklärt die erworbene Immunschwäche (= Transplantations-AIDS) dieser Patienten gegen intrazelluläre opportunistische Erreger (Pilze, Parasiten und Mykobakterien). Der Wirkmechanismus des CSA greift auf zwei verschiedenen Ebenen an:

- Der erste CSA-Effekt ist die gehemmte Synthese von Typ 1-Cytokin-Mustern, dieser Effekt begünstigt den TH1-TH2-switch. Folglich fördert CSA

die Gegenregulationen vom TypII der Zelldyssymbiose. Es werden vermehrt Typ2-Cytokine wirksam, wenn die gegenseitige Balance zwischen Typ1- und Typ2-Cytokinen gestört ist (übersicht bei Del Prete 1998, London 1998, D'Elios 1998, O'Gara 1998, Murphy 1998, Carter 1998, Morel 1998, Muraille 1998, Viola 1999, Coffman 1999). Das Typ2-Cytokin TGF stimuliert die Bildung von Prostaglandin (PGE<sub>2</sub>), das wiederum die NO-Synthese hemmt und damit den Peroxinitrit-Spiegel senkt (übersicht bei Lincoln 1997). Die Peroxinitrit-Funktion für die Offenhaltung der PT-Schleusen ist behindert. Die Folge ist die Einschränkung der zentralen Funktionen der Mitochondrien als Ausgleichs-Pool für die Modulation und Aufrechterhaltung der zellulären Ca<sup>2+</sup>-Homöostase (übersicht bei Richter 1996). Die überschießigen Calcium-Ionen werden durch die überexpression von Eiweißen aus der Bcl-2-Familie an Membranen von Zellstrukturen gebunden. Dies geschieht u. a. an der äußeren Membran der Mitochondrien, der Effekt ist die erhöhte Undurchlässigkeit der Mitochondrien-Membran. Bcl-2 wirkt auf diese Weise mit, die Apoptose/ Nekrose bei zu hohen Oxid-Mengen zu verhindern. Die überexpression von Bcl-2-Eiweißen ist in vielen Tumorzellen nachgewiesen (Mazurek 1997). Die Expression der Bcl-Gene als so genannte Onko-(krebserzeugende) Gene ist bisher auf einen Mutationseffekt zurückgeführt worden, ihre evolutionsbiologisch programmierte Funktion kann jedoch erst durch das Verständnis der Evolutionsgeschichte der Zellsymbiose ausreichend verstanden werden. Die erhöhte Bildung von TGF und PGE löst zugleich die Produktion von Polyaminen aus, die in Tumorzellen in gesteigertem Maße vorhanden sind. Polyamine forcieren Zellteilungsprozesse und Reparaturmechanismen der DNA (übersicht bei Lincoln 1997).

- Der zweite CSA-Effekt spielt sich innerhalb der Mitochondrien ab und kombiniert sich mit dem ersten CSA-Effekt. In der Mitochondrien-Matrix befindet sich das Cyclophilin D. Es aktiviert einen Eiweißkomplex in der inneren Mitochondrien-Membran (Adenosin-Nukleotid-Translokator, ANT), der die Öffnung der PT-Schleusen erleichtert. CSA verbindet sich mit Cyclophilin D, ANT wird nicht aktiviert. Gleichzeitig blockiert CSA die Hydrolyse des oxidierten NAD<sup>+</sup>, sodass das spezifische Ca<sup>2+</sup>-Cycling zwischen Mitochondrien und Zellplasma unterbrochen wird. In Kombination mit dem verminderten Peroxinitrit-Spiegel durch den CSA-Effekt im Zellplasma schaukelt sich der CSA-Effekt in den Mitochondrien auf. Die PT-Schleusen der Mitochondrien öffnen sich unzureichend oder gar nicht mehr. Da das Energiepotential der Mitochondrien aufrecht erhalten bleibt oder noch gesteigert wird, kann auch der programmierte Zelltod oder Nekrose nicht mehr ausgelöst werden (übersicht bei Richter 1996, Kroemer 1997, Zamzami 1997). (Siehe Tafel XII: Modell der Mitochondrien-Schleusen - Öffnen durch Cyclophilin und Peroxinitrit, Schließen durch CSA und Peroxinitrit-Mangel und Tafel XIII: Der Schleusenrhythmus im Mitochondrium)

Die CSA-Effekte sind keineswegs nur selektiv in T-Helferimmunzellen wirksam, sondern auch in anderen Immunzellen und Nicht-Immunzellen.

Neben toxischen Schäden in den Nieren und anderen Organen können die bei CSA-behandelten Transplantationspatienten aufgetretenen Tumoren also durch die Provokation einer TypII-Zelldyssymbiose (Proto-Zellsymbiose) erklärt werden.

Faktum ist, dass Immunzellen und Tumorzellen bei organtransplantierten Patienten (Kaposi-Sarkome, Lymphome, Carzinome) sowie bei AIDS-Patienten (Kaposi-Sarkome, Lymphome) auffallende Gemeinsamkeiten aufweisen:

- Typ1-Typ2-switch
- Hemmung der cytotoxischen und Calcium-abhängigen NO-Synthese sowie der Peroxinitrit-Bildung durch Typ2-Cytokin-Muster
- Schließung der PT-Poren der Mitochondrien wegen fehlender Oxidation durch Peroxinitrit von Schwefelwasserstoff-Gruppen des ANT-Eiweißkomplexes (oder anderer Eiweißkomplexe) der inneren Membran der Mitochondrien
- Mangelnde NAD<sup>+</sup>-Hydrolyse in den Mitochondrien wegen zu geringer Peroxinitrit-Bildung, infolgedessen keine Ca<sup>2+</sup>-Freisetzung bei Aufrechterhaltung des Energiepotentials der Mitochondrien-Membran
- Mangelnde Durchlässigkeit der Mitochondrien-Membran für Calcium-Ionen und für die in der Zellkern-DNA kodierten Eiweiße für die Komplexe der Atmungskette und des OXPHOS-Komplexes
- Erhöhte Bereitstellung der RNA-Transkripte für die Biosynthese der Eiweiße der Komplexe der Atmungskette und des OXPHOS-Komplexes (Hemmung der Umsetzung bei fötalen Zellen bis zum ersten Atemzug, bei Tumorzellen überdauernde Hemmwirkung)
- Fehlender Ausgleichspool der Mitochondrien für Calcium-Ionen des Zellplasmas wegen erhöhter Undurchlässigkeit der Mitochondrien-Poren
- Hemmung der von den Mitochondrien normalerweise, infolge erhöhter NO<sup>-</sup>, ROS- und Peroxinitrit-Mengen, ausgelösten Apoptose/Nekrose, gleichzeitige Aufrechterhaltung oder Erhöhung des Energiepotentials der Mitochondrien-Membran
- Hemmung der Biogenese der Mitochondrien, starke Verringerung der Anzahl und Aktivität, Verlust an Differenzierung und Reifung der Zellsymbionten
- Wasserstoffionen-Diffusion aus den Mitochondrien ins Zellplasma
- Forcierte aerobe Glykolyse zur enzymatischen ATP-Produktion, stimuliert durch die Expression des fötalen Isoenzym Hexokinase II, das an der äußeren Mitochondrien-Membran lokalisiert ist, bei Tumorzellen immer Expression von Hexokinase II, unabhängig vom Hexokinase-Typ der differenzierten Ursprungszelle (Hexokinase Typ I bis IV)
- Enzymatische ATP-Synthese überwiegend durch aerobe Glykolyse und Investition der Glukosestoffwechselprodukte über den Pentose-Phosphat-Stoffwechselweg in erhöhte Teilungsraten

- Produktion hoher Laktat-Mengen und erhöhter Mengen an fötalen Metalloproteinasen und anderen Proteinasen

Cuezva und Kollegen haben die Prozesse der Re-Fötalisierung von Tumorzellen auf der Transkriptionsebene (Umschreibung von DNA-Sequenzen im Zellkern und im Mitochondrien-Genom aufgrund von Signalen durch Transkriptionsfaktoren in Boten-RNA) und auf der Translationsebene (Übersetzung von Boten-RNA in die Eiweißsynthese für die Biogenese der Mitochondrien) demonstriert. Aufgrund der auffallenden Übereinstimmungen zwischen den genetischen Prozessen in den fötalen Zellen kurz vor der Geburt und in Tumorzellen stellen sie schließlich fest:

"Die 1-Million-Dollar-Frage hier lautet: Wer orchestriert diese zelluläre Antwort?"

Und nach Erörterung der Rolle der genetischen Faktoren für die Expression der Tumorzellen ziehen sie das Resümee: "Wir sind weit entfernt von der erwarteten Antwort, welche den veränderten energetischen Stoffwechsel der Tumorzellen erklären könnte, eine Herausforderung der wissenschaftlichen Forschungsgemeinde seit mehr als 70 Jahren" (Cuezva 1997).

In dem Beitrag von Cuezva und Kollegen wird kein Bezug genommen auf die Erkenntnisse der NO-Forschung. Die Frage nach dem Dirigenten, der die Transformationsprozesse der Tumorgenese auf der genetischen und nicht-genetischen Ebene orchestriert, ist falsch gestellt. Die plausible Antwort lautet:

Es gibt keinen Dirigenten. Das populäre Dogma, dass die Gene das Programm des Lebens abrufbar gespeichert haben, ist ein biologischer Mythos. Das Netzwerk der Energieflüsse ist das Programm, das sich selbst organisiert. Die Informationsmuster lebender Zellen und Zellsysteme werden moduliert abhängig von der Fluidität und "quantendynamischen Tiefe". Die makromolekularen Komponenten (Gene, Proteine, Transkriptionsfaktoren, Enzymeiweiße und viele andere) haben eine "Halbleiterfunktion" zur Auf- und Abregulation des komplexen supragenetischen Netzwerks der Zellsymbiose. Physikalisch verändert sich der Elektronenfluss in einem Halbleiter nicht wie in einem Metall linear mit der Spannung, sondern in "Staustufen". Die Elektronen müssen Energielücken überwinden, um, physikalisch gesprochen, vom Valenzband in das Leitungsband gelangen zu können, in welchem sie

sich frei bewegen können. Biophysikalisch weisen Makromoleküle eine relativ große Energielücke von einigen Millivolt auf, die eine entsprechende Modulationsbreite ermöglicht.

Eine solche "Staustufe" der Energieflüsse ist der makromolekulare Eiweiß-Komplex der PT-Schleuse der Mitochondrien-Poren. Es gibt variable physiologische und pathophysiologische Zustände des Öffnens und Schließens der PT-Schleusen. Diese bestimmen über das Schicksal der Zellsymbiose und werden über das Verhältnis des fluiden Stickstoffmonoxids (NO) und der oxigenen Superoxid-Anionen (O<sub>2</sub><sup>-</sup>) bzw. des Diffusionsproduktes aus beiden Oxiden, das fluide Peroxinitrit, geregelt (Mikro-Gaia-Milieu). Zu hohe nicht tolerable Mengen der Komponenten des fluiden Oxidgemisches (Chloroxidierung) führen zum programmierten oder unprogrammierten Zelltod (Apoptose / Nekrose) (Richter 1996) durch Energieverlust des Membranpotentials der Zellsymbionten. Die Folge ist die nicht mehr regelbare Öffnung der PT-Schleusen und Ausflutung/Rückflutung (Ca<sup>2+</sup>-Cycling) von hohen Mengen Calcium-Ionen, die eine Kaskade von energetischen und metabolischen Kettenreaktionen bis zum Zelltod induzieren. Zu niedrige Mengen des Diffusionsproduktes Peroxinitrit können in teilungsaktiven Zellen die Transformation zur Tumorzelle auslösen (überdauernde Rückbildung zum Zustand der Proto-Zellsymbiose vor Installation der Atmungskette in den Mitochondrien). In nicht mehr teilungsaktiven Zellen (reife Nervenzellen und Muskelzellen sowie die Retina des Auges) werden analog Degenerationszustände verursacht. Die Synthese und Regelungsaufgaben der fluiden Oxide sind mit allen energetischen, metabolischen und informatorischen Vorgängen der Gesamtzelle und des Gesamtorganismus hoch komplex vernetzt.

Auf der zellulären Ebene ist von großer Bedeutung, dass die Cyclophiline Isomerasen sind. Es handelt sich um Enzyme, welche die Isomerie (griechisch: isos = gleich, meron = Teil) von Molekülen katalysieren. Isomerie ist das Phänomen, dass molekulare Substanzen bei gleicher Ausstattung mit diversen Atomen (Summenformel) eine unterschiedliche Strukturanordnung der Atome annehmen können. Beispielsweise hat die Milchsäure die gleiche Summenformel wie Glycerinaldehyd und Dihydroxyaceton, aber eine unterschiedliche Strukturformel. Zusätzlich kann bei gleicher Summen- und Strukturformel die räumliche Anordnung der gleichen Moleküle verschieden sein. Durch Isomerie können sich die biochemischen und biophysikalischen Eigenschaften, einschließlich der Halbleitereigenschaften der Makromoleküle, erheblich verändern. Isomerase-Enzyme wie das Cyclophilin können also durch Aktivierung oder Hemmung in entscheidendem Maße die Energieflüsse und Informationsmuster beeinflussen. Das offensichtliche Zusammenspiel der Cyclophilin-Isomerasen mit dem Calcium-Cycling, der NO-Synthese, Oxid-Synthese, Peroxinitrit-Bildung sowie der NAD<sup>+</sup>-Hydrolyse zur Regelung der intakten Zellsymbiose



und die pathologische Hemmung dieser Regulationsprozesse durch CSA-Manipulation der Cyclophilin-Isomerasen demonstrieren das Grundmodell der Tumorgenese.

Die Erklärung der Forschungsgruppe von Brand (Brand 1997 b) für die archaische Rückbildung der energetischen und metabolischen Prozesse während der Fötalentwicklung, der späten Phase des Zellteilungszyklus und der frühen Wundheilungsphase mit der Notwendigkeit des Schutzes vor oxidativem Stress auf Kosten der Energieausbeute kann für sich allein nicht ganz überzeugen, da die Mitochondrien-Gene seit etwa 1,5 bis 2 Milliarden Jahren im oxidativen Milieu ohne Schutzproteine in der Regel schadlos überlebt haben, dagegen während der Fötalentwicklung und auch in Tumorzellen besonders inaktiv sind, trotz eigener Energieversorgung durch Glutaminolyse und oxidative Rest-ATP-Produktion. Wahrscheinlicher ist die Möglichkeit, dass während der gesteigerten Zellteilungsphasen die Kooperation der archaebakteriellen und proteobakteriellen Genomanteile im Zellkern verändert ist und die konkurrenzfreie, symbiotische Kooperation mit den proteobakteriellen Genen in den Mitochondrien in dieser Phase nicht gewährleistet ist. Offensichtlich ist in diesen Zellteilungsphasen eine geregelte Funktion des archaebakteriellen Genoms nur möglich auf niedrigem Niveau bei gleichzeitiger Drosselung der Synthese der nitrogenen und oxidativen Oxide auf Kosten der Mitochondrien-Aktivität.

Diese Annahme ergibt sich auch logisch aus der Tatsache, dass der Zellteilungsapparat nach der symbiotischen Fusion funktionieren musste, bevor das OXPHOS-System in den Mitochondrien installiert war, und später dem OXPHOS-System nicht angepasst werden konnte. Stattdessen war die Wechselschaltung zwischen der aeroben Glykolyse in der späten Teilungsphase und dem OXPHOS-System in der aktiven Leistungsphase die erfolgreiche Lösung. Diese Aufgabenteilung ist immerhin seit 1,5 bis 2 Milliarden Jahren funktionstüchtig gewesen.

Im Falle der Überpflanzung eines Fremdorgans wird die massive Provokation durch die Alloantigene des Transplantats mit exzessivem nitrosativem und oxidativem Stress beantwortet. Dieser wird medikamentös durch die Komplexbildung von Cyclosporin A mit der Cyclophilin-Isomerase unterdrückt. Der Effekt ist die Synthesehemmung von Typ1-Cytokinen und die kompensatorische Synthesesteigerung von Typ2-Cytokin-Mustern. Diese lösen eine Kaskade von Gegenregulationen vom TypII aus. Die Folge ist die Drosselung der NO-Synthese, der Synthese von reaktiven Sauerstoffspezies sowie der Peroxynitrit-Bildung, die Hemmung des Calcium-Cycling, die starke Aktivitätsminderung der Mitochondrien und die Schließung der Mitochondrien-Membran bei erhaltenem oder erhöhtem Energiepotential. Abhängig von der Dosis und Dauer der Medikation sowie der Disposition des Patienten wird auf diese Weise für besonders sensitive Zellen das Redox-

Milieu so manipuliert, wie es aus physiologischen Gründen während der Funktionsphasen des gesteigerten Zellteilungszyklus der Fall ist. Im Ergebnis wird im supragenetischen Netzwerk derselbe bioenergetische Zustand signalisiert, der auch der Tätigkeit des Zellteilungszyklus vorausgeht. Dieser Zustand entspricht einer Pseudohypoxie (scheinbarer Sauerstoffmangel durch mangelnde Verwertbarkeit des Sauerstoffs) und kann deshalb so bezeichnet werden, weil die OXPHOS-Maschinerie der Mitochondrien lediglich die Leistung wie im Ruhezustand erbringt (Brand 1997 b) trotz ausreichend vorhandenen Sauerstoffs, so als wären die Zellsymbionten im realen Sauerstoff-Notstand.

Geht man von der begründeten Annahme aus, dass die ursprünglichen Archaeobakterien fakultative Anaerobier gewesen sind mit nicht-oxidativer Energiegewinnung und die Atmungskette mit oxidativer Phosphor-Bindung für die ATP-Produktion erst zu einem späteren Zeitpunkt nach dem Symbioseakt komponiert wurde (Gray 1999), so ist zu erwarten, dass im Zustand der Pseudohypoxie die evolutionsbiologisch konservierten Programme zum Überleben ohne Sauerstoff reaktiviert werden können.

Die Forschungsgruppe von Pedersen hat demonstrieren können, dass die Promoter-Region für das Hexokinase II-Gen in Tumorzellen reguliert wird durch verschiedene Signalübertragungswege, u. a. durch Glucose, Insulin und Glukagon. Obwohl Insulin und Glukagon gegensinnig arbeitende Hormone sind, stimulieren sie ungewöhnlicherweise die gleichen Gene. Das Antwort-Element des Promoters für das Hexokinase II-Gen in Tumorzellen überlappt sich mit dem Element, das auf Hypoxie anspricht. Die Pseudohypoxie bei Diabetes bei gleichzeitiger NO-Hemmung (übersicht bei Lincoln 1997) kann mit der erhöhten Krebsinzidenz bei Diabetikern (übersicht bei Bannasch 1997) assoziiert werden. Das Hexokinase II-Enzym, lokalisiert an der äußeren Mitochondrien-Membran, katalysiert den Abbau von Glucose zum ersten Phosphor-Stoffwechselprodukt und ist in schnell wachsenden Tumorzellen um das 5-fache erhöht gegenüber normal differenzierten Zellen. Die genetischen Untersuchungen ergaben weiterhin, dass die Promoter-Region für das Hexokinase II-Gen in Tumorzellen zu 99 % Ähnlichkeit aufweist im Vergleich mit der Promoter-Region des Hexokinase II-Gens für normal differenzierte Zellen. Aus diesem und anderen Befunden schlussfolgerten die Forscher, dass das Hexokinase II-Gen normalerweise stumm bleibt, aber nicht durch Mutationen angeschaltet wird, sondern durch die Art der Kombination von Transkriptionsfaktoren auf verändertem Level: "Deshalb können mutierte DNA-Sequenzen innerhalb der entsprechenden Promoter-Regionen nicht an den Veränderungen beteiligt sein, die während der Reporter-Genexpressionsstudien beobachtet wurden" (Mathupala 1997).

Diese Aussage steht in fundamentalem Gegensatz zu den vorherrschenden Theorien der Tumorgenese durch Zufallsmutationen. Die Befunde stützen

aber die hier vorgetragene Auffassung, dass Krebs entsteht durch eine primäre Gesamtumschaltung im Mikro-Gaia-Milieu auf dem Niveau der frühen Proto-Zellsymbiose (TypII-Zelldyssymbiose) und die Aktivierung von evolutionsbiologisch konservierten Genprogrammen sekundär ausgelöst wird. Pedersen und seine Kollegen bestätigen mittelbar dieses Pathogenese-Modell der Tumoren, indem sie abschließend zu den genetischen Befunden feststellen:

"Alle beschriebenen Studien zeigen den Einsatz einer Strategie durch hoch maligne Tumoren, im Wirtsorganismus zu überleben und zu gedeihen mittels einer bemerkenswerten Anzahl von koordinierten molekularen Mechanismen. Diese Mechanismen, die solchen sehr ähnlich sind, die von hoch erfolgreichen Parasiten eingesetzt werden, zeigen eine ausgeklügelte Strategie, entwickelt von Tumoren, um auch in einer sehr unwirtlichen Umgebung innerhalb des Wirtes zu überleben" (Mathupala 1997).

Mit anderen Worten: "Hoherfolgreiche Parasiten" (Protozoen und Pilzmikroben) sind solche, welche unter überdauernden Bedingungen der Hypoxie/ Pseudohypoxie, analog zu re-fötalisierten Krebszellen, auf die TypII-Gegenregulation der Zelldyssymbiose umschalten konnten (Regression in das frühe Protisten-Stadium, Kremer 1999). Sie können deshalb in der "sehr unwirtlichen Umgebung innerhalb des Wirtes" quasi als gegenregulierte Krebs-Parasiten mit erhöhter Proliferationsrate der körpereigenen Immunabwehr widerstehen (Hemmung der cytotoxischen NO-Gassynthese in den umgebenden Immun- und Nichtimmun-Zellen durch Typ2-Cytokin-assoziierte Krebszellen analog zu Parasitenzellen) und auch chemotherapeutische Zielangriffe als "resistente Erreger" überleben (= analog wie Pilz- und Parasitenmikroben beim Vollbild AIDS).

Der Begriff der Strategie ist allerdings irreführend, jede eukaryote Zelle hat die evolutionsbiologisch programmierte Fähigkeit zur Rückschaltung auf die archaische Proto-Zellsymbiose, wie die physiologischen Reproduktionsphasen demonstrieren. Es sind sehr komplexe Bedingungen im Mikro-Gaia-Milieu innerhalb der Zelle sowie in mehrzelligen Lebewesen zwischen den Zellen und im Kontext des Gesamtorganismus sowie seiner Umwelt, die im selbstorganisierten Netzwerk der Energieflüsse Anpassungen fördern oder hemmen. Man sollte besser von einer evolutionsbiologisch konservierten Option sprechen, die aufgrund der Nicht-Linearität bioenergetischer Prozesse nur mit hoher Selektivität realisiert werden kann. Das heißt, nicht jede individuelle Parasiten- oder Krebszelle kann willkürlich eine "ausgeklügelte

Strategie" wählen, um "auch in einer sehr unwirtlichen Umgebung innerhalb des Wirtes zu überleben". Von abgesiedelten Tochterzellen eines Primärtumors in menschlichen Organen beispielsweise überlebt im Blutstrom etwa eine von 10.000 Zellen, die ein anderes Organ potentiell neu besiedeln kann (metastatische Zellen, von griechisch: meta = anders, stasin = stellen, sinngemäß an anderer Stelle ansiedeln). Die weitaus größte Anzahl von abgesiedelten Tumorzellen stirbt ab. Da die meisten Krebspatienten nicht an ihrem Primärtumor sterben, sondern an Kachexie (Auszehrung) und Metastasenbildung, hat diese Tatsache größte Bedeutung. Es ist jedoch kein Zufall, ob wandernde Krebszellen überleben oder absterben. Metastatische Zellen sind Zellklone, d. h. sie stammen von einer einzigen Krebszelle ab, die einen Tumorzellhaufen bildet. Dieser enthält heterogene Subpopulationen von Zellen. Um herauszufinden, worin der Unterschied von metastatischen und nicht-metastatischen Tochterkrebszellen besteht, wurde die Stimulierbarkeit des Enzyms für die Synthese des cytotoxischen NO (iNOS) in diesen Krebszellen untersucht (Xie 1996).

Es wurden metastatische Melanom-Krebszellen von Mäusen, die Lungenmetastasen bilden, mit verschiedenen Typ1-Cytokinen und bakteriellen Lipopolysacchariden (LPS) zur Stimulation der iNOS behandelt. Es zeigte sich keine iNOS-Aktivität und keine cytotoxische NO-Produktion. Dieselbe Prozedur mit nicht-metastatischen Zellen aus demselben Mäusetumor aktivierte jedoch hohe iNOS-Spiegel und cytotoxische NO-Mengen. In der Zellkultur zeigte sich, dass die nach Stimulation cytotoxisches NO produzierenden Krebszellen durch Apoptose zugrunde gingen.

Dieses Experiment zeigt anschaulich, dass Krebszellen sich energetisch und metabolisch unterscheiden von normaldifferenzierten Zellen durch Minderproduktion von NO und O<sub>2</sub>- bzw. des Produktes aus beiden, Peroxynitrit. Dieser Mangel führt zur Schließung der PT-Poren der Mitochondrien und verhindert die normale Wechselschaltung zwischen aerober Glykolyse und OXPHOS. Gleichzeitig ist damit auch der programmierte Zelltod blockiert. Die Stimulation mit Typ1-Cytokinen bzw. LPS in nicht-metastatischen Krebszellen stimuliert dagegen die iNOS-Synthese und O<sub>2</sub>--Synthese und damit auch die Peroxynitrit-Bildung. Die plötzliche Öffnung der PT-Schleusen setzt das Ca<sup>2+</sup>-Cycling in Gang und löst Apoptose aus. Um herauszufinden, warum aber die metastatischen Krebszellen nicht auf die Stimulation mit iNOS-Aktivität reagierten, manipulierte die gleiche Forschungsgruppe metastatische Melanome durch genetische Transfektion (Einschleusung von Genen) auf dreierlei Art:

Die erste Zellgruppe wurde mit einem funktionstüchtigen iNOS-Gen, die zweite mit einem funktionsuntüchtigen iNOS-Gen und die dritte mit

Neomycin-Resistenzgenen best\_ckt. Eine vierte, nicht-manipulierte metastatische Zellgruppe diente als Kontrollgruppe.

Alle Zellgruppen blieben hoch metastatisch, au\_er der ersten Gruppe mit dem funktionst\_chtigen iNOS-Gen. Nach Einpflanzung der vier Zellgruppen in Nacktmäuse, die besonders tumorzellsensibel sind, entwickelte die erste Zellgruppe langsam wachsende Tumoren unter der Haut und die metastatischen Zellgruppen schnell wachsende Tumoren.

In einem weiteren Experiment demonstrierten die Forscher an metastatischen Sarkom-Krebszellen in der Lunge eines anderen Mäusestamms, dass durch die wiederholte Injektion von synthetischen Lipopeptiden (analog zur Stimulation mit bakteriellen Lipopolysacchariden) auch in den metastatischen Zellen die genetische Expression des Enzymeiwei\_es der iNOS aufgeschaltet wurde und cytotoxisches NO produziert wurde. Die Metastasen bildeten sich völlig zur\_ck. Die Forscher schlussfolgerten: "Diese Daten demonstrieren, dass die Expression der iNOS in Tumorzellen assoziiert ist mit Apoptose, Unterdr\_ckung der Tumorentstehung, Annullierung von metastatischen Eigenschaften und R\_ckbildung von ausgeprägten Lebermetastasen" (Xie 1996).

(Siehe Schaubilder: Programmierter Zelltod in metastatischen Krebszellen nach <bertragung eines funktionst\_chtigen iNOS-Gens (siehe Tafel XIV) und nach wiederholter Injektion von synthetischen Lipopeptiden (siehe Tafel XV))

Die Tatsache, dass auch zunächst metastatische Zellen bei wiederholter und starker Stimulation iNOS-Aktivität zeigen und absterben, weist darauf hin, dass in metastatischen Zellen die Sensitivität der Transkriptionsschwelle der Expression der iNOS-Gene verändert ist. Solche f\_nderungen des Transkriptionsverhaltens von iNOS-Genen in Tumorzellklonen können selektiv wegen der Nicht-Linearität (Waliszewski 1998) der hoch komplexen Gegenregulationen vom TypII ohne weiteres eintreten. Sie können aber auch durch Chemotherapie selektiv ausgelöst werden und werden dann als "Resistenz" der Tumorzellen bezeichnet. Von den Gegenregulationen scheint der erhöhte Expression des Typ2-Cytokins Transforming-Growth-Factor (TGF-\_) f\_r die Kontrolle der NO-Produktion in Tumorzellen (Vodovotz 1997) sowie f\_r die Wanderung von metastatischen Krebszellen mittels Proteinase (Zvibel 1993) eine besondere Bedeutung zuzukommen. Die Rolle des NO-Gases in Tumorzellen ist in zahlreichen experimentellen und klinischen Studien untersucht worden in Hinblick auf die Hemmung des Tumorwachstums und der Neubildung von Kapillaren durch Einsatz von NO-spendenden und NO-hemmenden Substanzen. Die Resultate sind widerspr\_chlich. Im Ergebnis hat sich jedoch gezeigt, dass Tumorzellen eine niedrige Calcium-abhängige NO-Synthese f\_r das Einsprossen neuer Kapillaren benötigen und eine höhere NO-Synthese das Tumorwachstum

hemmt (Chinje 1997). Bei systemischer Behandlung von Krebspatienten mit Interleukin-2 traten Leckagen in Kapillargefäßen auf, die auf erhöhte cytotoxische NO-Stimulation zurückgeführt wurden und durch gleichzeitige Gabe von NO-Hemmern gebremst werden konnten. Andererseits konnten NO-blockierende Substanzen allein Tumorwachstum und Metastasenbildung reduzieren, sodass angenommen werden kann, dass Krebszellen eine feine Balance von niedrigen Calcium-abhängigen NO-Spiegeln benötigen (Orucevic 1998), die aber nicht (mehr) ausreichen, um eine intakte Zellsymbiose aufrecht zu erhalten. Dieser Annahme entspricht andererseits die sehr niedrige Lipidperoxidation in Krebszellen (Horrobin 1990).

Die altbekannte klinische Beobachtung, dass nicht selten Pilz- und Parasiteninfektionen einer Krebserkrankung vorausgehen, kann ihre Erklärung darin finden, dass chronische Infektionen zu einer erhöhten cytotoxischen NO-Produktion führen, die zur Hemmung der Typ1-Cytokin-Muster führt, während Typ2-Cytokin-Muster verstärkt synthetisiert werden. Die Kreuzregulation zwischen Typ1-Cytokinen und cytotoxischem NO verhindert offensichtlich überschießende TH1-Immunzellreaktionen und inflammatorische Prozesse (siehe bei Lincoln 1997). Andererseits kann die chronische Überproduktion von NO nach Erschöpfung des Thiol-Pools und S-Nitrosylation (NO-Bindung an Schwefel-Wasserstoff-Gruppen in Funktionseinheiten und Enzymeinheiten (siehe bei Stamler 1995)) zu erheblichen Gegenregulationen führen (TypII-Zelldysymbiose).

Chronische Parasiteninfektionen (und wahrscheinlich auch Pilzinfektionen) können die Absonderung von Substanzen seitens der Erreger (beispielsweise Glykosinotol-Phospholipide) auslösen, welche die NO-Synthese zu hemmen vermögen (Liew 1994). Dieser Effekt ist vergleichbar der Wirkung des aus einem Bodenpilz gewonnenen Cyclosporin A auf die Cyclophilin-Isomerasen und die dadurch auslösbare Hemmung der Interleukin-2-Synthese mit der Folge der cytotoxischen NO-Synthesehemmung sowie der Blockade der NAD<sup>+</sup>-Hydrolyse und Schließung der PT-Schleusen der Mitochondrien.

Der ursächliche Zusammenhang zwischen chronischen Infektionen und chronischen inflammatorischen Prozessen ist vielfach belegt worden und mit der Nitrosamin-Bildung aus endogenem NO assoziiert worden (siehe bei Tannenbaum 1994, Oshima 1994, Kerwin 1995). Die Nitrosamin-Forschung hat darüber hinaus in umfassenden experimentellen und klinischen Untersuchungen eine Unzahl von exogenen Nitrosamin-Quellen, beispielsweise in der Nahrung, im Trinkwasser, im Tabak, am industriellen Arbeitsplatz, aber auch durch Antibiotika, Chemotherapeutika, Analgetika, Kosmetika usw. zweifelsfrei nachgewiesen. Eine große Anzahl von N-Nitroso-Verbindungen sowie ähnlich wirkende Alkylhydrazin-, Alkylazoxi- und Alkyltriazino-Verbindungen sind in einer Vielzahl von Tierarten einschließlich Affen als stark Krebs erregende (carcinogene) Substanzen demonstriert

worden. Carcinogene Nitroso-Verbindungen werden gebildet durch N-Nitrosationsreaktionen zwischen verschiedenen sekundären und tertiären Aminen und Nitriten oder anderen zur Nitrosation fähigen Substanzen. Diese können in der Umwelt und innerhalb des Organismus ablaufen (übersicht bei Lijinsky 1992, Loeppky 1994 a).

Als Indiz für die carcinogene Wirkung der Nitrosamine und verwandter Substanzen beim Menschen werden "Fingerabdrücke" dieser Chemikalien in der DNA diskutiert. Es handelt sich um Veränderungen in den Basen, der Grundbausteine der DNA, wie sie auch in der DNA bei Tumorbildung durch UV-Licht in der Haut und durch das Pilzgift Aflatoxin in Leber- und anderen Tumoren festgestellt wurden. Es handelt sich dabei um Veränderungen des Tumorsuppressor-Gens p53, das ein Eiweiß exprimiert, das den programmierten Zelltod fördert und als Gegenspieler des Onkogens (Krebsgen) Bcl-2 angesehen wird, dessen Eiweißprodukt Ca<sup>2+</sup>-Ionen an Membranen bindet und die Schließung der PT-Schleusen der Mitochondrien forciert (Vogelstein 1992, Oshima 1994). Zu diesem Indizienbeweis stellt einer der Pioniere der Nitrosamin-Forschung, der amerikanische Pharmakologe Magee vom Jefferson-Krebsforschungsinstitut der Universität Philadelphia, nach 40 Jahren Forschung über den Zusammenhang von Nitrosaminen als Krebsursache fest:

"N-Nitroso-Verbindungen sind toxisch beim Menschen. Sie verursachen akute und subakute pathologische Veränderungen, die sehr ähnlich sind den Befunden in Tierexperimenten. Es gibt überzeugende Beweise, dass das Krebs-Chemotherapeutikum Semustin, ein Nitroso-urea-Derivat, ein menschliches Carcinogen ist. Aufgrund der plausiblen Annahme, dass alle N-Nitroso-Verbindungen, einschließlich der N-Nitrosamine, als Carcinogene wirken durch die Bildung der selben aktiven Zwischenprodukte im Stoffwechsel, wahrscheinlich Alkyldiazonium-Ionen, erscheint es als vernünftig zu schlussfolgern, dass alle carcinogenen Nitroso-Verbindungen menschliche Carcinogene sind. Ob die Verbindungen einen spezifischen Part spielen bei der Ursache der menschlichen Krebserkrankungen, bleibt zu problematisieren. Der Vorschlag ist attraktiv wegen ihres ubiquitären Vorkommens in der Umwelt, obwohl in kleinen Mengen, und wegen ihres Potentials für ihre Bildung im Organismus aus Amin-Bausteinen, Nitrit und anderen Substanzen, die zur Nitrosation (Bindung an Thiole) führen. Definitiver Beweis könnte erbracht werden durch die Demonstration von Mutationen in Onkogenen, die spezifisch für Nitroso-Carcinogene sind, wie bei Aflatoxinen und UV-Licht gezeigt worden ist. Bisher ist dies nicht erreicht worden und weitere Forschung auf diesem Gebiet könnte sich lohnen. Auch wenn ein schlüssiger Beweis nicht gewonnen wurde, dass die N-Nitroso-Verbindungen bedeutende Ursachen für Krebs beim Menschen sind, ist es klar wünschenswert, dass ihr Vorkommen in der Umwelt und ihre Bildung im Körper reduziert wird auf das niedrigste praktikable Niveau" (Magee 1996).

Die Ambivalenz, die aus diesen Worten nach 40 Jahren Nitrosamin-Forschung spricht, drückt die Ratlosigkeit einer ganzen Generation von Krebsforschern aus, die in zahllosen Experimenten mit mehr als 300 Nitrosamin-Verbindungen bei einer großen Bandbreite von Tierarten und in allen möglichen menschlichen Zellkulturen immer wieder eindeutig die Transformation zu Tumorzellen beobachtet haben. Entsprechend der vorherrschenden Denkschule in der gesamten Krebsforschung haben die Forscher offenbar die primäre Krebsursache am falschen Tatort gesucht. Die Fixierung auf Genmutationen aufgrund des Dogmas, dass das Zellkern-Genom die Regiezentrale der lebenden Zelle sei, hat den Krebsforschern den Blick dafür verstellt, dass das bioenergetische Netzwerk das selbstorganisierte (autopoetische) Programm ist. Die Denkmöglichkeit, dass die Krebszelle eine überdauernde Rückbildung darstellen könnte in das archaische Stadium der Proto-Symbiose, wie sie sich kontrolliert auf Zeit in fötalen Zellen und in bestimmten Zellteilungsphasen vollzieht, konnten die Krebsforscher ohne die fundamentalen Erkenntnisse der NO-Forschung, der Cytokin-Forschung und der Zellsymbiose-Forschung nicht realisieren. Nun sind diese Befunde seit einem Jahrzehnt jedermann zugänglich und die Beobachtung renommierter Nitrosamin-Forscher bereits vor 30 Jahren, dass Genmutationen weder hinreichend noch notwendig sind, um die Transformation zur Tumorzelle auszulösen, da Krebs auch ohne nachweisbare Genveränderungen auftritt (Lijinsky 1973, 1992), sind wieder höchst aktuell. Auch Mitochondrien-Forscher haben seit längerem bestätigt, dass Krebs sich sogar eher entwickelt bei intakter Mitochondrien-DNA als nach gentoxischen Veränderungen (übersicht bei Mazurek 1997).

Die vermuteten "Fingerabdrücke" der Nitrosamin-Effekte, das veränderte p53-Gen in Tumorzellen (Vogelstein 1992) können aufgrund des Konzeptes der TypII-Dyssymbiose, einer durch langfristige oder zu starke Aktivierung von NO und seinen Derivaten erzwungenen überdauernden Gegenregulation zur evolutionsbiologisch programmierten Proto-Symbiose (Zustand der Pseudohypoxie = scheinbarer Sauerstoffmangel), anders erklärt werden, ohne dass "mutierte DNA-Sequenzen innerhalb der entsprechenden Promoter" (Mathupala 1997) beteiligt sein müssen:

"Jüngste Studien haben eine andere interessante Beobachtung für den TypII-Hexokinase-Promoter innerhalb von Tumorzellen gezeigt. Funktionale p53-Elemente wurden identifiziert innerhalb der gleichen Promoter-Region, die Antwort-Elemente enthalten für Glucose und bei Hypoxie. Dieses Faktum korreliert mit der Anwesenheit eines p53-Eiweißes mit einer erhöhten Lebenszeit, das exprimiert wird in den selben Tumorzellen. Die Co-Expression dieses Eiweißes mit dem TypII-Hexokinase-Promoter während der Reporter-Gen-Analyse resultiert in erhöhter Transkription. Die Nachbarschaft dieses p53-Elements zu den Hypoxie- und Glucose-Elementen als auch die



jüngste Beobachtung, dass Tumorzellen innerhalb hypoxischer Regionen mit einer hohen Rate p53-Veränderungen forcieren, impliziert eine bedeutsame Beziehung zwischen

- der TypII-Hexokinase-Expression,
  - der Expression des veränderten p53,
  - Hypoxie,
  - erhöhtem Glucose-Abbau,
  - der Progression des Zellteilungszyklus,
  - oder der Proliferationsgeschwindigkeit der hoch glykolytischen, rapide wachsenden Tumoren"
- (Mathupala 1997).

Mit anderen Worten: Die veränderten Genexpressionen sind nicht die Ursache, sondern die Antwort auf den Verlust an Fluidität und der "quantendynamischen Tiefe" aufgrund der erzwungenen Drosselung der Synthese nitrogener und oxygener Oxide (NO, O<sub>2</sub>-, Peroxinitrit) und der Schließung der PT-Schleusen der Mitochondrien.

Das Bcl-2-Gen, das p53-Gen und ihre Eiweißprodukte sind Komponenten eines immer größer werdenden Ensembles von Genen und Eiweißen, die an der Öffnung und Schließung der PT-Schleusen der Mitochondrien beteiligt sind (Richter 1996, Zamzami 1997). Abhängig von der Sensitivität der Expression der Gene werden Eiweiß-Muster synthetisiert, die gegenseitig entweder die Öffnung oder die Schließung der PT-Schleusen forcieren. Die Art und Variabilität der Genexpression und folglich die Synthese der Eiweiß-Muster ist abhängig von der Fluidität des Redox-Milieus. Auf diese Weise können die Halbleiter-Eigenschaften der makromolekularen DNA, also die Schwellenwerte der Elektronenflüsse, welche die Transkriptionsmuster bestimmen, variabel moduliert werden. Die Redox-abhängige Modulation der Gene regelt also, ob und welche RNA-Botschaften für die Biosynthese der Funktions-, Struktur-, Signal- und Enzympotein vermittelt werden. Die Gene müssen also nicht durch Mutationen im Sinne eines biochemischen Strukturdefekts verändert sein.

Das mehr als 70 Jahre lang nicht verstandene "Warburg-Phänomen" der aeroben Glykolyse wird angeschaltet als Überlebensstrategie im Zustand der "Pseudohypoxie" nach dem Szenario der archaischen Proto-Symbiose. Die "Pseudohypoxie" (scheinbarer Sauerstoffmangel) beruht also auf einer sekundären NO-/Peroxinitrit-Verminderung, die zur Zelldyssymbiose vom TypII führt.

"Diese Mechanismen, welche sehr ähnlich sind im Vergleich mit solchen, die eingesetzt werden von einigen hoch erfolgreichen Parasiten" (Mathupala 1997) sind nicht nur sehr ähnlich, sondern die Tumorzellen sind tatsächlich im Teilungszyklus von fakultativ anaeroben Parasiten (Protista) gefangen und

versuchen nach jedem Zellteilungszyklus vergeblich, ihren verkümmerten Zellsymbionten (Mitochondrien) die Transkripte für die Eiweiße der Atmungskette und des OXPHOS-Systems anzubieten (Cuezva 1997), um die Mitochondrien-Atmung wieder auf Touren zu bringen.

Da das unveränderte p53-Eiweiß an der Öffnung der Mitochondrien-Schleusen beteiligt ist, ist das veränderte p53-Gen durch Co-Expression in der hypoxischen Region, die dem archaebakteriellen Genomanteil zugerechnet werden kann, mitverantwortlich für die Blockade der Rückschaltung auf das OXPHOS-System. Die Transkripte für die Synthese der Eiweiße der Atmungskette und des OXPHOS-Komplex könnten demgegenüber im proteobakteriellen Anteil des Zellkern-Genoms codiert werden. Diese Annahme würde das Paradox erklären, dass diese Transkripte weiterhin bereitgestellt werden. Bei den fötalen Zellen macht dagegen das Verhalten der Transkripte Sinn, weil sofort mit dem ersten Atemzug die nötigen Eiweiße für die Atmungskette und OXPHOS umgesetzt werden können. Regelgröße für diese evolutionsbiologisch programmierte Umschaltung des bioenergetischen und metabolischen Netzwerks ist also der durch Nitrosation erschöpfte Thiol-Pool (Glutathion, Cystein u. a.) und die Nitrosylation lebenswichtiger Enzyme und Signaleiweiße (übersicht bei Stamler 1995).

Dieser Kausalzusammenhang erklärt die Tatsache der Tumorgenese durch Nitrosamine und andere Nitroso-Verbindungen vor den Augen der ratlosen Krebsforscher wesentlich plausibler als irgendwelche Mutationstheorien und fiktive Retrovirus-Theorien. Er erklärt aber auch die relative Erfolglosigkeit der Elimination von Tumorzellen durch Operation, Bestrahlung und Chemotherapie. Denn ohne Ausgleich der exzessiven Nitrosation und Nitrosylation werden durch gesteigerten nitrosativen und oxidativen Stress die erzwungene Gegenregulation der TypII-Dyssymbiose auf Dauer in noch mehr Zellsystemen verschärft und selektive Subpopulationen von metastatischen Tumorzellen forciert. Das epidemiologische Ergebnis, dass die Lebenserwartung von konventionell behandelten Krebspatienten durchschnittlich erheblich kürzer war als die von unbehandelten Patienten (Abel 1990) spiegelt die Denkverkürzung wider in der vorherrschenden Tumorforschung und Krebsmedizin.

Sicherlich demonstriert die exzessive Belastung mit nitrogenen Verbindungen nur einen Ausschnitt aus dem breit gefächerten Ursachenspektrum der Krebsursachen, da im Prinzip an jedem Knotenpunkt im selbstorganisierten bioenergetischen Netzwerk im Grenzbereich zwischen fester und fluider Phase überdauernde Störungen auftreten können. Im Prinzip wird aber die Antwort auf Extrembelastungen stets nach den gleichen archaischen evolutionsbiologischen Gesetzmäßigkeiten ablaufen. Insofern ist die Entwicklung des Kaposi-Sarkoms als TypII-Dyssymbiose (Rückbildung zur

Proto-Symbiose) infolge primärer NO-Überbelastung und sekundärer NO-, O<sub>2</sub>- und Peroxinitrit-Drosselung ein plausibles Verständnismodell für die Tumorgenese.

Während der langen Zeit der Evolution war der menschliche Organismus im Wesentlichen mit biologischen Quellen der Belastung mit nitrogenen Oxiden konfrontiert. Hauptfaktor dürfte die endogene NO-Stimulation durch mikrobielle Toxine und Antigene gewesen sein (akute und chronische infektiöse und inflammatorische Prozesse vor allem durch Parasiten, Pilze, Würmer, Bakterien und Viren). Daneben konnten durch nitritbildende Bakterien verseuchtes Trinkwasser und mit Nitrosamin kontaminierte Nahrungsmittel (in der späteren Kulturgeschichte auch mit Nitrit und Nitritsalzen konservierte Fleisch- und Wurstwaren) eine Rolle spielen. Die erhöhte Bindung von schwefelhaltigen Thiolen und Thiol-Eiweißen durch Nitrosothiol-Bildung konnte jedoch dramatisch verschärft werden durch Hungerzustände und Fehlernährung. Diese bedingen einen beschleunigten Verbrauch des Thiol-Pools und der antioxidativen Kapazität durch Mangel an thiolhaltigen Aminosäuren (Cystein, Methionin), Folsäuremangel, Defizite an antioxidativen Vitaminen, essentiellen Fettsäuren, Polyphenolen, Polyanionen, Mineralien und Spurenelementen.

In den industrialisierten Ländern konnten akute und chronische infektiöse und inflammatorische Prozesse als Hauptkrankheits- und Todesursache im Zeitraum von Mitte des 19. Jahrhunderts bis zur Mitte des 20. Jahrhunderts kontinuierlich vermindert werden durch verbesserte Ernährung, Hygiene, Wohnverhältnisse, Trinkwasserreinigung, Abwasserentsorgung, Ungeziefer-Desinfektion, Bildung und Aufklärung sowie die Erkenntnisfortschritte der modernen Medizin und Naturwissenschaft (Sagan 1987, 1992). Dieser drastische Rückgang der Infektionsraten und Sterblichkeitsfälle konnte erreicht werden vor Einführung der Schutzimpfungen, Chemotherapeutika und Antibiotika (Siehe Schaubilder: Beispiele des kontinuierlichen Rückgangs der Krankheits- und Sterberaten durch infektiöse Erkrankungen von Mitte des 19. bis Mitte des 20. Jahrhunderts (siehe Tafel XVI)).

In den Armutsländern spielt Fehl- und Mangelernährung in Kombination mit hoher Mikroben-Exposition, begünstigt durch Trinkwasserverseuchung, Hygienemangel, ungünstigen Wohnverhältnissen, geringem Bildungsstand, fehlender medizinischer Infrastruktur usw. nach wie vor die dominierende Rolle für die ursächliche Entwicklung von akuten und chronischen infektiösen und inflammatorischen Prozessen einschließlich opportunistischer Erkrankungen (nutritional AIDS, Beisel 1992, 1996). In den industrialisierten Ländern entwickeln sich jedoch völlig neue Belastungsprofile der schleichend chronischen nitrosativen und oxidativen Stresszustände durch Zivilisationsprodukte. Dieser in der Evolutionsgeschichte in dieser Kombination erstmalige chronisch nitrosative und oxidative Belastungsdruck

kann von der archaischen Zellsymbiose nicht anders beantwortet werden als durch die gleichen Gegenregulationen wie im Falle chronischer nitrosativer und oxidativer Stimulation durch Parasiten oder Würmer. Das Ergebnis ist die Typ2-Cytokin-Dominanz und unter den beschriebenen Bedingungen die fixierte Umschaltung zur TypII-Dyssymbiose. Diese evolutionsbiologisch programmierte, unveränderbare Option, auf Störungen des Mikro-Gaia-Milieus infolge chronischer Nitrosation, im Extremfall lediglich durch Drosselung der zelleigenen Synthese der nitrogenen und oxygenen Oxide antworten zu können, ist die Ursache für die Umkehrung des Verhältnisses der akuten zu den chronischen Erkrankungen in den vergangenen 50 Jahren, manifestiert durch degenerative und Krebserkrankungen als Haupttodesursache. Diese Auffassung wird gestützt durch den Nachweis mehrerer Forschungsgruppen, dass maligne Tumoren mit Typ2-Cytokin-Dominanz assoziiert sind (Clerici 1998).

Einzigartig in der Menschheitsgeschichte ist jedoch die nitrosative und prooxidative Belastungskombination bei ungeschütztem promiskuitivem, analrezeptivem Geschlechtsverkehr einer Minderheit homosexueller Männer mit langfristigem Sexdoping durch Inhalation von Nitritgasen (poppers), exzessivem Missbrauch von potentiell nitrosativen Antibiotika, Antiparasitika, Antimykotika, Virustatika, einer Vielzahl von "recreational drugs" u. a., langjähriger Multiinfektiösität und massiver Aufnahme von Alloantigenen, durch nitrosatierende und oxidierende Fremdsamenflüssigkeit (übersicht bei Root-Bernstein 1993).

1985 wurde im Tierversuch demonstriert, dass die gleichzeitige Administration von Nitriten und Antibiotika die Bildung von Tumoren hervorruft (Brambilla 1985). Der amerikanische Pharmakologe Ignarro, der zeitgleich mit seinem amerikanischen Forscherkollegen Furchgott als Erster die Existenz des gasförmigen NO-Moleküls und seine physiologischen Funktionen in menschlichen Zellsystemen nachweisen konnte, hat demonstriert, dass NO aus Nitrit in Endothelzellen der Blutgefäßwände gebildet wird. NO-Gasmoleküle, die nicht unmittelbar zur Blutdruckregulation an das Eisen in dem Enzym Guanylatcyclase binden, werden gespeichert in besonderen Zellorganellen, den Lysosomen mittels Nitrosation von Molekülen aus dem Thiol-Pool als Nitrosothiole sowie mittels Nitrosylation als Nitrosoproteine (Ignarro 1992). Ist der Thiol-Pool durch exogene Nitrit-Zufuhr erschöpft, werden über den Thiol-Sensor dieselben Regulationen ausgelöst wie bei zu lang anhaltender und starker NO-Synthese bei Stimulation durch mikrobielle Toxine, mikrobielle Antigen-Belastung oder nicht-mikrobieller Alloantigen-Belastung. Der Thiol-Pool erschöpft sich umso rascher, wenn NO aus exogenem Nitrit und anderer NO-Synthese (durch mikrobielle Stimulation, Alloantigen-Belastung und Abbau von nitrosativen Pharmaka) synchron verstoffwechselt werden muss. Die zelleigene NO-, O<sub>2</sub>--

, Peroxinitrit-Produktion wird unter diesen Bedingungen gedrosselt, das veränderte Redox-Milieu bewirkt einen switch von Typ1-Cytokin-Mustern zu Typ2-Cytokin-Mustern und das OXPHOS-System der Zellsymbionten schaltet um auf aerobe Glykolyse. Die Sensitivität der Signalübertragungsebene, Transkriptionsfaktoren und der Transkriptionsgene verändert sich. Bleibt das bioenergetische und metabolische Netzwerk dekompenziert und kann die Balance auf der nicht-genetischen und genetischen Ebene nicht wieder ausgeglichen werden, transformieren sich die Endothelzellen zum Kaposi-Sarkom (TypII-Gegenregulation der Zelldyssymbiose).

Zahlreiche Studien haben bestätigt, dass so genannte HIV-positive Patienten im frühesten Stadium der Serokonversion (Umschlag des Laboreffektes "HIV-negativ" nach "HIV-positiv") eine drastische Absenkung des Thiol-Pools aufweisen. Es ist sowohl der Cystein- wie der Glutathion-Spiegel im Blutplasma wie auch intrazellulär stark vermindert (übersicht bei Herzenberg 1997, Dröge 1997 a).

Ebenso ist in vielen Studien eindeutig die Verschiebung der intrazellulären Cytokin-Muster von Typ1-Cytokin- zu Typ2-Cytokin-Mustern (switch) im frühesten Stadium der Serokonversion von "HIV-positiven" Patienten sowie ein identischer Immunstatus wie bei Wurminfektionen, chronischen Parasiten- und Pilzinfektionen sowie chronischen Mykobakterien- und Spirochäteninfektionen (tertiäres Stadium III der Syphilis) demonstriert worden (übersicht bei Lucey 1996).

Klinisch ist in westlichen Ländern das Auftreten des Kaposi-Sarkoms praktisch exklusiv bei analrezeptiven Homosexuellen mit langfristiger Nitritinhalation diagnostiziert worden. Seit Rückgang des Nitritkonsums unter Homosexuellen wird ebenfalls eine rückläufige Inzidenz des Kaposi-Sarkoms beobachtet statt einer zunehmenden Inzidenz wie von der HIV/AIDS-Theorie prognostiziert (überblick bei Levine 1982, Marmor 1982, Lauritsen 1986, Haverkos 1988, 1990, Papadopoulos-Eleopoulos 1992 b, Duesberg 1996, Kremer 1998 a, 1998 c). Die klinische HIV/AIDS-Forschung hat auch dissoziierte Kaposi-Sarkoma-Fälle publiziert, es wurden Patienten als KS-Fälle diagnostiziert, bei denen der Laboreffekt "HIV-positiv" nicht gegeben war und der Immunstatus nicht charakteristisch verändert war. Diese Beobachtung entspricht der Tatsache, dass Endothelzellen isoliert transformiert sein können durch Gegenregulation nach Nitrit-Abusus ohne den häufigen synchronen TH1-TH2-Immunezell-switch. Aufgrund dieser und anderer klinischer und Labordaten haben orthodoxe HIV/AIDS-Forscher den Schluss gezogen, dass HIV nicht die Ursache des Kaposi-Sarkoms und dass KS nicht die Folge einer sexuell übertragenen Retrovirus-Infektion sein kann (Beral 1990).

Insgesamt bestätigen die klinischen, anamnestischen, epidemiologischen und Labordaten nach 20 Jahren KS-Forschung das bioenergetische, metabolische und genetische Konzept der Tumorgenese infolge dekompenzierter Rückbildung der Zellsymbiose zum archaischen Stadium der Proto-Zellsymbiose aufgrund exzessiver Nitrosation und Erschöpfung des Thiol-Pools.

Die Prognose hinsichtlich des "faszinierenden Rätsels" (Friedman-Kien 1984 a) des Kaposi-Sarkoms auf der historischen Konferenz der Retrovirus-Krebsforscher vom März 1983, dass man durch die Erforschung des Kaposi-Sarkoms nützlich Informationen gewinnen könnte für das Studium von Krebs im Allgemeinen (Thomas 1984), hat sich als richtig herausgestellt. Allerdings haben die Erkenntnisse der Retrovirus-AIDS- und Retrovirus-Krebsforschung in eine völlige Sackgasse geführt, auch wenn das Dogma der Krankheitstheorie "HIV verursacht AIDS" mit allen Mitteln, am Leben erhalten durch riesige Forschungsbeträge und die allgegenwärtige Mediendiktatur, zäh verteidigt wird. Die entscheidenden Erkenntnisse, die niemand bei der Propagation der HIV/AIDS-Theorie 1983/84 kannte, wurden außerhalb der Retrovirus-AIDS-Forschung und Retrovirus-Krebsforschung vor allem von der bioenergetischen Zellsymbiose-Forschung gewonnen.

Das evolutionsmedizinische Konzept der TypII-Zelldyssymbiose der Tumorgenese auf der Grundlage der bioenergetischen Erforschung des Mikro-Gaia-Milieus konnte alle entscheidenden Forschungsdaten, gewonnen seit der stillen Revolution der medizinischen Grundlagenforschung Ende der achtziger Jahre, widerspruchsfrei integrieren.

Zwei Statements der international prominentesten Retrovirus-Krebsforscher beleuchten schlaglichtartig, wie sie selbst die von ihnen jahrzehntelang propagierte Theorie, dass Retroviren die Ursache von Krebs sind, als Beitrag zur Lösung des Krebsrätsels einschätzen.

Baltimore, 1970 gemeinsam mit Temin Entdecker der reversen Transkription von RNA in DNA, mit welcher er den entscheidenden Impuls für die Retrovirus-Krebsforschung im Rahmen der "Kriegserklärung gegen den Krebs" des Präsidenten Nixon im Jahre 1971 gab, Nobelpreisträger 1975 für Retrovirus-Krebsforschung, äußert sich 1988 als Präsident der Rockefeller-Universität in New York:

"Ich habe keine Vorstellung, wann wir genug wissen werden, um irgendetwas zu entwickeln (für die Krebsmedizin), das klinisch anwendbar ist und ich weiß nicht, wer im Begriff ist, dies zu tun ... Das hat keine hohe Priorität in meinem Denken" (Angier 1988).

Varmus, 1989 Nobelpreisträger f<sub>ü</sub>r Retrovirus-Krebsforschung, Chef der Nationalen Institute f<sub>ü</sub>r Gesundheit der USA, der obersten Forschungsbehörde f<sub>ü</sub>r das gesamte US-Gesundheitswesen einschlie\_lich des Nationalen Krebsforschungsinstituts, ä\_u\_ert sich 1988:

"Man kann keine Experimente machen, um zu sehen, was Krebs verursacht. Das ist kein zugängliches Problem, und das ist nicht die Art von Dingen, die Wissenschaftler leisten können" (Angier 1988).

In Wirklichkeit haben Retrovirus-Krebsforscher, zu Retrovirus-AIDS-Forschern auf dem historischen Kongress im März 1983 in New York mutiert, genau solche Experimente an den immungeschwächten AIDS-Patienten, von denen einige auch ein Kaposi-Sarkom entwickelt hatten, vorgeschlagen: Die in der Folge praktizierten millionenfachen Behandlungen der als „HIV-Positiv“ stigmatisierten und AIDS-Patienten mit immunotoxischen und zelltoxischen Chemo-Antibiotika und Chemotherapeutika haben im Ergebnis das „Krebsrätsel“ nicht lösen können. Allerdings hat die Aufklärung der tödlichen Irrt\_ü\_mer und Täuschungspraktiken der Retrovirus-AIDS-Krebsforscher zum tiefgreifenden Erkenntniswandel \_ber die Natur der Krebszellen und folglich \_ber die wirksame Therapie und Prävention der Krebsleiden beigetragen.

Warburg hatte im Prinzip Recht: Die ungeplanten und geplanten pharmakotoxischen Experimente am Menschen beweisen, dass Krebs verursacht wird infolge der primär funktionellen und sekundär strukturellen Inaktivierung der mitochondrialen Zellsymbionten. Die funktionelle Blockade der Zellatmung aktiviert im Falle des verhinderten Zelltods die evolutionsbiologisch programmierte <berlebenskonkurrenz des archaebakteriellen Genoms und inaktiviert die Kooperation mit den proteobakteriellen Genomanteilen im Zellkern und in den Mitochondrien. Die Folge ist die \_berdauernde TypII-Gegenregulation der Zelldyssymbiose.