

MISTILTEINN 2001/2

Sonderdruck

| | |
|-----------|---|
| Jahrgang | 2 |
| Seite | 34-43 |
| Autor | Eva Kovacs |
| Titel | Zur Rolle der DNA-Reparatur in der Karzignogenese und der Effekt von Iscador auf die DNA-Reparaturfähigkeit bei Krebspatienten |
| Copyright | Verein für Krebsforschung, Arlesheim/Schweiz |
| ISSN | 1660-1173 |
| Verlag | Kooperative Dürnuu |

Zur Rolle der DNA-Reparatur in der Karzinogenese und der Effekt von Iscador auf die DNA-Reparaturfähigkeit bei Krebspatienten

Einleitung

Veränderungen am genetischen Material (DNA) einer Zelle – spontan auftretend oder ausgelöst durch exogene Einflüsse wie ionisierende Strahlen oder Chemikalien – galten früher im allgemeinen als irreversibel. Die Fähigkeit der Beseitigung genetischer Schäden im Sinne von Reparaturvorgängen wurde erstmals nach Einwirkung von UVC-Licht auf Mikroorganismen erkannt (Boyce und Howard-Flanders 1964).

Wenige Jahre später stellte sich heraus, dass auch normale Säugetierzellen in der Lage sind, durch das UVC-Licht bewirkte Schäden der DNA-Matrize zu beseitigen. Es wurde weiterhin erkannt, dass die Reparaturvorgänge sich nicht nur auf UVC-Lichtwirkung beschränken, sie bestehen ebenfalls nach Angriffen chemischer Noxen oder wegen Schädigung durch ionisierende Strahlung. Mit dem Begriff „DNA-Reparatur“ werden enzymatische Mechanismen zusammengefasst, welche die Fähigkeit haben, die ursprüngliche Struktur an der DNA-Matrize wieder herzustellen. Dennoch können nach dem „Korrekturlesen“ einige Veränderungen (Mutationen) an der DNA zurückbleiben, welche an die Tochterzellen weiter vererbt werden. Mutationen erscheinen so als Folge – qualitativ oder quantitativ – unzureichender Reparaturprozesse: qualitativ, wenn im Reparatursystem selbst Defekte vorkommen, die einen effizienten Reparaturprozess verhindern; quantitativ, wenn infolge exogener Noxen (z.B. Chemo-/Radiotherapie) das Reparatursystem überlastet ist. Es ist nämlich bekannt, dass die Häufigkeit der Mutationen durch exogene Noxen erhöht wird. Chemische Substanzen und ionisierende Strahlen können zu Mutationen und als Folge zur malignen Entartung einer Zelle führen, wenn die durch ihre Einwirkung verursachten Schäden nicht vollkommen repariert werden. In diesem Sinne sind diese exogenen Noxen als Karzinogene eingestuft. Es wird angenommen, dass ungefähr 5–10 Faktoren zur malignen Entartung einer Zelle nötig sind. Die DNA-Reparaturdefekte sind eine davon und als Initiator (Anreger) in der Tumorentstehung zu betrachten. Demzufolge spielt der DNA-Reparaturprozess in der Karzinogenese eine entscheidende Rolle.

Reparaturprozesse nach Einwirkung chemischer Karzinogene und nach Gammastrahlen.

Die enzymatischen Prozesse der DNA-Reparatur unterscheiden sich je nach dem spezifischen Effekt der Noxen.

Durch die chemischen Karzinogene werden die DNA-Basen (Adenin, Thymin, Guanin, Cytosin) alkyliert, meistens in Form des Einbaus von einer Methyl-Gruppe (Abb. 1). Ein wesentlicher Teil der in der Krebschemotherapie verwendeten Zytostatika sind alkylierende Stoffe, deren Haupteffekt die Proliferationshemmung der malignen entarteten Zellen ist. Zusätzlich tritt als ein unerwünschter Nebeneffekt die Alkylierung der DNA-Basen auf. Der generell wichtigste Mechanismus zur Reparatur dieses Schadens ist das „Herausschneiden“ (Excision) des veränderten DNA-Stückes und dessen anschließende Resynthese mit der Wiederherstellung der korrekten Basenfolge. Sofern der dem zu eliminierenden DNA-Anteil gegenüberliegende DNA-Strang völlig intakt geblieben ist, kann er als Matrize für eine korrekte Neubildung des ausgeschnittenen DNA-Stückes benützt werden.

Wie die Zytostatika, verursachen auch die Gammastrahlen, die in der Krebstherapie verwendet werden, Defekte am DNA-Strang. Diese Defekte unterscheiden sich von jenen der Zytostatika. Die Gammastrahlen führen hauptsächlich zu einfachen oder doppelten Brüchen des DNA-Stranges (Abb. 1). Die Reparatur erfolgt im Falle eines einfachen Bruches durch das Schließen des offenen Stranges oder das Ausschneiden und die Neusynthese der betreffenden Stellen. Doppelte Strangbrüche an der DNA sind nicht mehr reparierbar, sie führen zum Tod der Zelle.

Einer der wichtigsten, für den Menschen gefährlichen, kanzerogenen Stoffe ist Benzpyren, das beim Zigarettenrauchen entsteht und wesentlich zur Genese humaner Bronchialkarzinome beiträgt. Untersuchungen haben gezeigt, dass beim Menschen das individuelle Risiko, durch diese Noxe einen Bronchialtumor zu bekommen, Unterschiede aufweist. Das lässt sich darauf zurückführen, dass die Empfindlichkeit der peripheren Lymphozyten und des Bronchialepithels gegenüber Benzpyren unterschiedlich ist und dass auch die Fähigkeit zur Reparatur der DNA-Schäden im Bronchialepithel der untersuchten Patienten sehr variiert.



Abb.1 Die Wirkung von chemotherapeutischen Substanzen und therapeutischer γ -Strahlung auf die Erbsubstanz (DNA).

Die DNA-Reparaturfähigkeit bei Krebspatienten

Die Krebserkrankung tritt hauptsächlich bei älteren Leute auf. Die DNA-Reparaturfähigkeit ist bei diesen geringer als bei jüngeren Personen (Kovacs et al. 1984). Weiterhin wurde beschrieben, dass bestimmte genetische Krankheiten, wie *Xeroderma pigmentosum* (XP), *Ataxia teleangiectasia* (AT), *Bloom syndrom*, mit einer defekten DNA-Reparaturfähigkeit assoziiert sind (Kraemer 1983, Lehmann 1981). Die Patienten, die an solchen Krankheiten leiden, haben ein stark erhöhtes Risiko, an Krebs zu erkranken.

Konsequenterweise stellte sich die Frage: Haben Krebspatienten – ohne die oben erwähnten genetischen Krankheiten – eine herabgesetzte DNA-Reparaturfähigkeit?

Es wurden 41 Brustkrebspatientinnen vor ihren operativen Eingriffen untersucht. 27 Patientinnen (66 %) hatten die exogenen Schäden an der DNA ihrer Lymphozyten mangelhaft repariert, in Vergleich zu 3 von 27 der Kontrollen (11%). Sehr wichtig zu beobachten war, dass sich bei einigen Patientinnen im Laufe der Zeit nach dem operativen Eingriff die Reparaturfähigkeit normalisiert hat. Dies bedeutet, dass die Tumoren die DNA-Reparaturfähigkeit negativ beeinflussen (Kovacs et al. 1986).

Um diese Hypothese zu stützen, wurden Patienten mit aplastischer Anämie in partieller (n=14) und in kompletter Remission (n=5) untersucht (Kovacs et al. 1988). Signifikant mehr Patienten in partieller Remission (71 %) hatten eine reduzierte Reparaturkapazität im Vergleich zu den Patienten in kompletter Remission (20 %).

Wie beeinflusst Chemo-/Radiotherapie die DNA-Reparatur?

Die Schulmedizin verwendet bei Krebspatienten häufig Chemo-/Radiotherapie, die sich an die chirurgischen Eingriffe anschließen. Wie bereits erwähnt wurde, verursachen chemotherapeutische Substanzen und ionisierende Strahlen DNA-Reparaturdefekte. Es stellte sich die Frage bezüglich der Fähigkeit der Zellen, diese Defekte zu reparieren sowie die Frage, ob ein Unterschied zwischen Kontrollen und Patienten in Bezug auf den Verlauf dieses Reparaturprozesses besteht.

In einer Studie (Kovacs et al. 1992) wurden 15 Brustkrebspatientinnen untersucht. Bei ihnen wurde die DNA-Reparatur vor der Operation, nach der Operation und 3 bis 5 Jahre nach der abgeschlossenen Chemo-/Radiotherapie geprüft. Die Resultate haben gezeigt, dass die Operation die Reparaturfähigkeit der Lymphozyten nicht wesentlich beeinflusst. Dagegen führte die Chemo-/Radiotherapie bei allen Patientinnen zu einer Verminderung der Reparaturfähigkeit (Abb. 2). Es ist von grosser Wichtigkeit, dass die durch Chemo-/Radiotherapie negativ beeinträchtigte DNA-Reparatur 3 bis 4 Jahre nach dem Abschluss dieser Therapien noch immer Defekte aufweist.

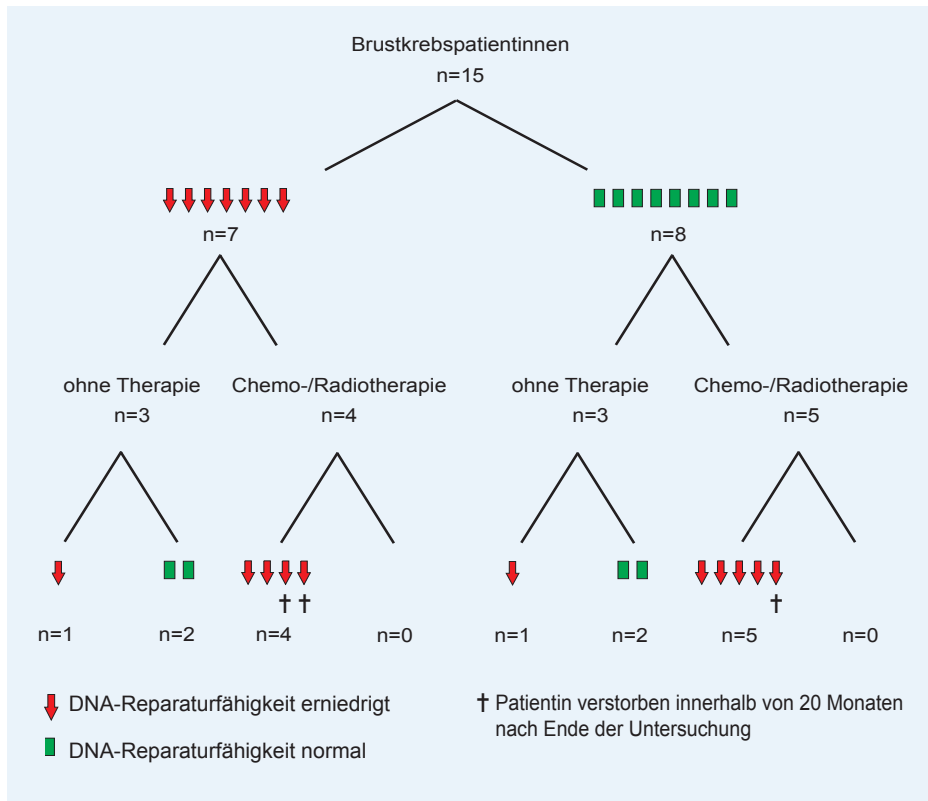


Abb. 2 DNA-Reparaturfähigkeit bei Brustkrebspatientinnen.

Eine weitere Studie (Kovacs und Langemann 1991) stellte dar, dass die Lymphozyten von Krebspatienten die DNA-Schäden langsamer reparieren als diejenigen gesunder Personen. Wenn den Lymphozyten wiederholte Schäden zugefügt werden, zeigte sich auch eine signifikant verminderte Aktivität in der Reparatur zwischen gesunden Probanden und Krebspatienten. Es ist auch bekannt, dass bei der postreplikativen Reparatur häufiger Fehler entstehen als bei der präreplikativen Reparatur. Postreplikative Reparatur bedeutet, dass die DNA-Defekte bis und während der DNA-Replikation erhalten bleiben und erst nach der nächsten DNA-Verdoppelung die normale Struktur wieder ausgebildet wird.

Die Chemo-/Radiotherapie führt bei Krebspatienten, die ohnehin eine beeinträchtigte DNA-Reparatur haben, zu zusätzlichen Defekten, die erst nach der nächsten Replikation korrigiert werden. Damit besteht die Möglichkeit für eine erhöhte Mutationsrate, die zu einer neuen zweiten Tumorbildung führen kann.

Die DNA-Reparaturfähigkeit unterliegt genetischer Regulation

Aus der klinischen Praxis ist bekannt, dass Frauen, deren Mütter oder Schwestern Brustkrebs hatten, einem erhöhten Risiko ausgesetzt sind, auch an diesem Tumorleiden zu erkranken.

In einer Studie (Kovacs und Almendral 1987) wurden 64 Frauen bezüglich der DNA-Reparaturfähigkeit untersucht. Alle Frauen ohne bisherige Tumoranamnese hatten familiäre Brustkrebsbelastung ersten Grades, d.h. entweder ihre Mutter oder ihre Schwester(n) oder alle beide hatten Brustkrebs. 79% respektiv 70% der Frauen mit mütterlicher respektiv mit schwesterlicher Krebsbelastung wiesen Defekte in der DNA-Reparaturfähigkeit auf. Wie erwartet, zeigten 90 % der Frauen mit mütterlicher und schwesterlicher Krebsbelastung eine verminderte Reparaturfähigkeit (Abb. 3).

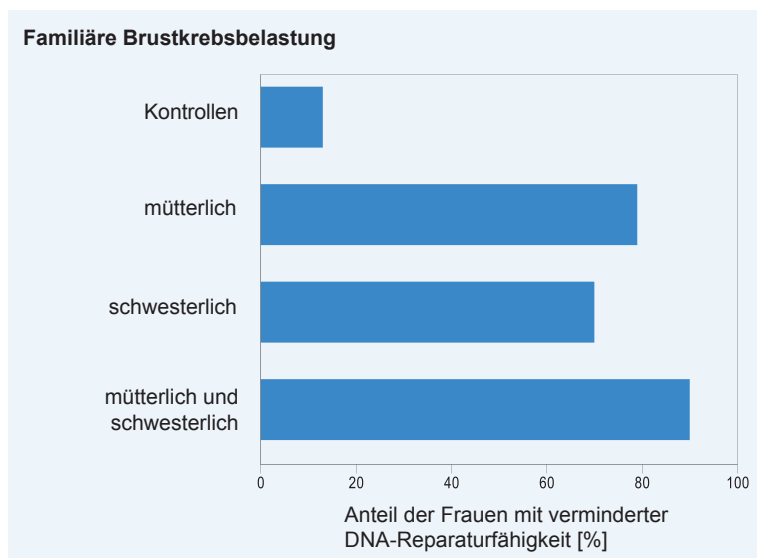


Abb. 3 Anteil der Frauen mit verminderten DNA-Reparaturfähigkeit bei 64 Frauen ohne Tumoranamnese, jedoch mit familiärer Brustkrebsbelastung, im Vergleich zu 38 Kontrollpersonen.

Die Resultate legen eine genetische Regulation der DNA-Reparaturfähigkeit nahe. Um diese nachzuweisen, wurde die DNA-Reparaturfähigkeit bei einer Grossfamilie mit gehäuften kanzerösen Erkrankungen untersucht. Aus väterlicher Seite sind 5 von 8 Personen an verschiedenen Tumorarten gestorben. 18 Familienmitglieder aus drei Generationen konnten an der Untersuchung teilnehmen. 13 von 18 (72 %) hatten eine defekte DNA-Reparaturfähigkeit, ohne bisherige Tumoranamnese (Kovacs und Langemann 1988). (Abb. 4)

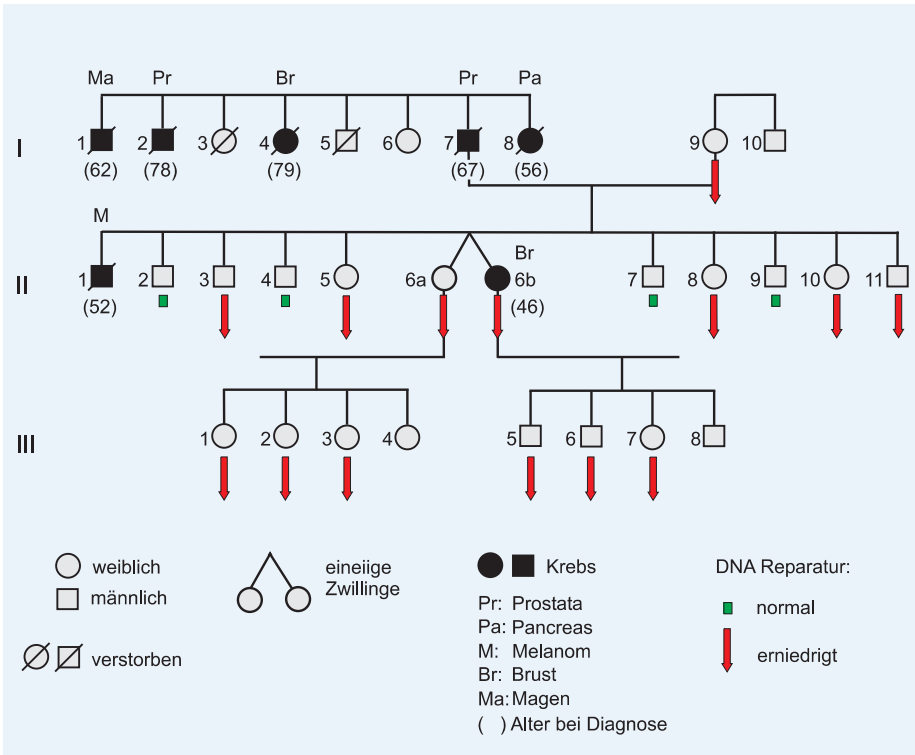


Abb. 4 Diese Darstellung zeigt den Stammbaum einer Grossfamilie mit häufigem Auftreten verschiedener Krebserkrankungen. Die Mutter (erste Generation) ist 82 Jahre alt. Das Alter der zweiten Generation liegt zwischen 34 und 54 Jahren, das Alter der dritten Generation zwischen 20 und 23 Jahren. Die DNA-Reparaturfähigkeit wurde in den Lymphozyten der Familienmitglieder gemessen.

Die Rolle von Iscador als Immunomodulator in der DNA-Reparatur

Vor 15 Jahren wurde postuliert (Agrell 1986), dass das Immunsystem eine sehr wichtige Rolle in der DNA-Reparatur spielt. Da Iscador zur erhöhten Produktion verschiedener Zytokine führt, interessierte uns, ob Iscador fähig ist, die bei den Krebspatienten vorhandene beeinträchtigte DNA-Reparatur zu verbessern. In einer *in vitro* Untersuchung wurden Lymphozyten von Brustkrebspatientinnen mit Gamma-Strahlung und mit Zytostatika (H-Cyclophosphamid) geschädigt. Das *in vitro* zugesetzte Iscador hat die durch diese Noxen verminderte DNA-Reparatur positiv beeinflusst (Tab. 1). Die IFN-gamma-Produktion war durchschnittlich auf das 2.2-fache erhöht (Kovacs et al. 1996).

| Patient | Stadium | DNA-Reparatur | | | | IFN- γ Produktion | |
|---------|---------|--------------------|------------------------------|----|--------------|--------------------------|-------------|
| | | γ -Strahlen | Iscador + γ -Strahlen | HC | Iscador + HC | ohne Iscador | mit Iscador |
| 1 | II/b | ✓ | | — | ✓ | 109 | 156 |
| 2 | III/a | — | ✓ | — | ✓ | 78 | 186 |
| 3 | II/b | — | ✓ | — | ✓ | 65 | 168 |
| 4 | II/b | ✓ | | — | (✓) | 75 | 157 |
| 5 | II/a | ✓ | | — | — | 100 | 94 |
| 6 | III/b | ✓ | | — | ✓ | 108 | 320 |
| 7 | III/a | ✓ | | — | ✓ | 27 | 45 |
| 8 | III/b | ✓ | | — | — | 53 | — |
| 9 | II/a | ✓ | | — | — | 65 | 160 |
| 10 | II/b | — | ✓ | — | ✓ | 95 | 216 |

Tab. 1 Mit Mitogen stimulierte Lymphozytenkulturen wurden am 3. Tag für 20 Stunden und am 4. Tag für eine Stunde vor Gamma-Strahlung oder H-Cyclophosphamid (HC) mit Iscador M spez. in der Konzentration von $0.5 \mu\text{g}/5 \times 10^6$ Zellen inkubiert. Diese Dosis entspricht ungefähr der in vivo verabreichten Dosis.

Die DNA-Reparatur wurde mittels Sedimentationsanalyse der DNA-Strangbrüche gemessen. Die Reparatur wurde als vollständig betrachtet, wenn sie derjenigen ohne induzierten Schaden entsprach. IFN-gamma-Werte in U/ml/ 0.5×10^6 Zellen.

✓ vollständige DNA-Reparatur

— unvollständige DNA-Reparatur

Um diese Resultate zu bestätigen, wurde die Untersuchung auf in vivo Verhältnisse erweitert (Kovacs et al. 1991). Es hat sich gezeigt, dass sich die vor der Iscador Behandlung erniedrigte DNA-Reparaturfähigkeit bei 65 % der behandelten Brustkrebspatientinnen deutlich verbessert hat. Die Werte waren im Durchschnitt 2.7-mal höher als diejenigen vor der Therapie. Es ist bemerkenswert, dass die Werte erst ab dem 2. Tag nach Beginn der Behandlung anstiegen. Sie erreichten das Maximum 5 bis 7 Tage später. Zu diesem Zeitpunkt sprachen 80% der Patientinnen auf die Therapie an (Abb. 5). Ein Monat nach Beginn der Iscador-Therapie haben die Werte bei allen Patientinnen das Niveau der Kontrollen erreicht. Die Zahl der NK-Zellen und Lymphozyten korrelierte signifikant mit der positiven Veränderung der DNA-Reparaturfähigkeit (Kovacs et al. 1996).

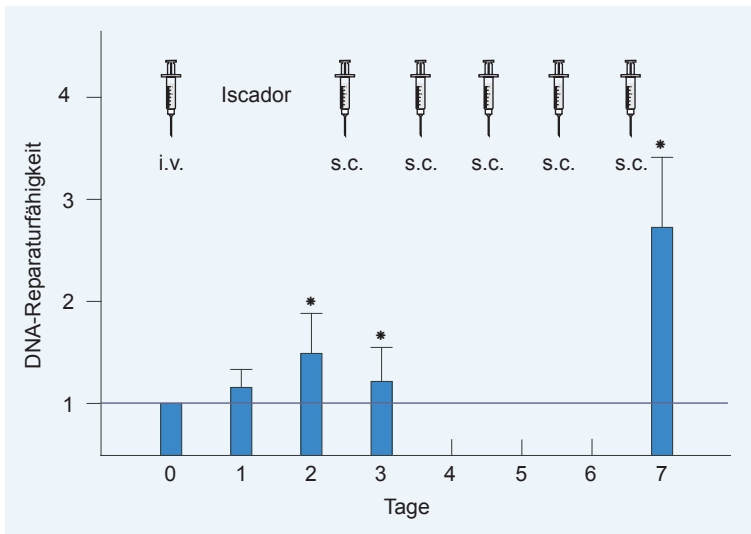


Abb. 5 Erhöhte DNA-Reparaturfähigkeit der Lymphozyten bei Brustkrebspatientinnen während Iscador-Therapie. Die Werte sind bezüglich des Tages 0 (vor Therapie) mit dem Wert 1 dargestellt.

* Signifikanz: $p < 0.05$ (U-Test von Mann-Whitney).

i.v. = intravenöse Verabreichung

s.c. = subcutane Verabreichung

Zusammenfassung und Schlussfolgerung

- Die DNA-Reparaturdefekte sind als Initiator in der Karzinogenese zu betrachten. Die Fähigkeit, die durch exogene oder endogene Noxen verursachten Schäden zu reparieren, ist genetisch festgelegt und erblich.
- Chemo-/Radiotherapien führen zu Defekten in der DNA-Reparaturfähigkeit. Als Folge treten Mutationen auf, die zur Tumorbildung führen können.
- Iscador-Therapie verbessert die DNA-Reparaturfähigkeit bei Patienten mit oder ohne Chemo-/Radiotherapie. Es scheint, dass IFN-gamma in diesem Prozess eine bedeutende Rolle spielt. Es wurde bestätigt, dass Iscador zur erhöhten Produktion der T Helfer-1 Zytokine wie IFN-gamma führt (Kovacs 2000). Für den Effekt von Iscador bestehen die folgenden beiden Interpretationsmöglichkeiten: entweder werden die enzymatischen Prozesse der DNA-Reparatur beschleunigt, oder die Zellen werden von den Schäden geschützt. In beiden Fällen kann die Zahl der Defekte am Erbgut und damit die Mutationsrate verringert werden. Wie schon erwähnt, führen gehäufte Mutationen zur Tumorentstehung. In diesem Sinne könnte Iscador der Tumorbildung entgegenwirken respektive Metastasen und/oder die Entstehung eines zweiten Tumors verhindern.

Literatur

- Agrell U. (1986) Draft of general stochastic theory of cancer and its possible experimental verification with monoclonal multiplication of repairing and immunological systems. *Medical Hypotheses* **20**, S. 261–270.
- Boyce RP. und Howard-Flanders P. (1964) Release of ultraviolet light-induced thymine dimers from DNA in *E. coli* K-12. *Proceedings of the National Academy of Science* (Washington) **51**, S. 293–300.
- Kovacs E., Weber W. und Müller HJ. (1984) Age-related variations in the DNA-repair synthesis after UV-C irradiation in unstimulated lymphocytes of healthy blood donors. *Mutation Research* **131**, S. 231–237.
- Kovacs E., Stucki D., Weber W. und Müller HJ. (1986) Impaired DNA-repair synthesis in lymphocytes of breast cancer patients. *European Journal of Cancer and Clinical Oncology* **22**, S. 863–869.
- Kovacs E. und Almendral A. (1987) Reduced DNA repair synthesis in healthy women having first degree relatives with breast cancer. *European Journal of Cancer and Clinical Oncology* **22**, S. 1051–1057.
- Kovacs E., Nissen C., Speck B. und Signer E. (1988) Repair of UV-induced DNA damage in aplastic anaemia: Changes after treatment with antilymphocyte globulin (ALG). *European Journal of Haematology* **40**, S. 430–436.
- Kovacs E. und Langemann H. (1988) Defective DNA repair in a large family having a high occurrence of cancer. *Oncology* **45**, S. 444–447.
- Kovacs E. und Langemann H. (1991) Differences in the kinetics of DNA repair in cancer patients and healthy controls. *Oncology* **48**, S. 312–316.
- Kovacs E., Hajto T. und Hostanska K. (1991) Improvement of DNA repair in lymphocytes of breast cancer patients treated with *Viscum album* extract (Iscador). *European Journal of Cancer* **27**, S. 1672–1676.
- Kovacs E., Langemann H. und Ludwig H. (1992) Do chemo- and radiotherapy affect the DNA repair ability of lymphocytes? *Archives of Gynecology and Obstetrics* **251**, S. 121–126.
- Kovacs E., Kuehn JJ., Werner M. und Hoffmann J. (1996) Die Wirkung von *Viscum album* (Iscador®) auf die DNA-Reparatur in peripheren Lymphozyten nach Gammastrahlen- und Cyclophosphamid-Exposition. Korrelation zur IFN-Gamma-Produktion. In vitro-Ergebnisse. In: R. Scheer, H. Becker und P.A. Berg (Hrsg.), *Grundlagen der Misteltherapie* Hippokrates Verlag Stuttgart, S. 197–205.
- Kovacs E., Kuehn JJ., Werner M. und Hoffmann J. (1996) Effect of Iscador treatment on DNA repair in cancer patients. Correlation with immunological parameters. *Annals of Hematology* **73**, Supplement II, S. 148.

- Kovacs E. (2000) Serum levels of IL-12 and the production of IFN-gamma, IL-2 and IL-4 by peripheral blood mononuclear cells (PBMC) in cancer patients treated with *Viscum Album* extract. *Biomedicine & Pharmacotherapy* **54**, S. 305–310.
- Kraemer KM. (1983) Heritable diseases with increased sensitivity to cellular injury. In: Generoso, Shelby, de Seres, *Dermatology in general medicine*, McGraw-Hill, New York, S. 113–142.
- Lehman AR. (1981) Cancer-associated human genetic diseases with defects in DNA repair. *Journal of Cancer Research and Clinical Oncology* **100**, S. 117–124.