


Sonderdruck
aus Heft-Nr. 2007/121

OM & Ernährung

Gesundheitsforum für Orthomolekulare Medizin

Fachorgan für den Arzt, Therapeuten, Apotheker und Patienten



Übergangsmetalle in der Pathogenese des Mammakarzinoms

Internationales Journal für orthomolekulare und verwandte Medizin
International Journal of orthomolecular and related medicine
Journal International de la médecine orthomoléculaire et analogue

Unabhängig • Independent • Indépendant

Übergangsmetalle in der Pathogenese des Mammakarzinoms

John G. Ionescu¹, Jan Novotny², Vera Stejskal³, Anette Lätsch¹, Eleonore Blaurock-Busch⁴, Marita Eisenmann-Klein⁵



Univ. Doz. Dr. John G. Ionescu

Zusammenfassung

Hohe Konzentrationen von Übergangsmetallen wie Eisen, Nickel, Chrom, Kupfer und Blei sind eng verbunden mit einer erhöhten Produktion freier Radikale, Lipidperoxidation, DNA-Spaltung und Mutationen sowie Tumorwachstum in zellulären Systemen. Um die Zusammenhänge mit malignen Wachstumsprozessen beim Menschen zu erschließen, wurde die Akkumulation von Schwermetallen in 8 gesunden und 20 Brustkrebsbiopsien von onkologischen Patienten untersucht.

¹ Forschungsabteilung der Spezialklinik Neukirchen, Neukirchen b.Hl.Blut, Deutschland

² Inst. für Pathophysiologie and Onkologie, 1. Medizinische Fakultät der Charles-Universität, Prag, Tschechien

³ Abteilung für Klinische Chemie, Danderyd Hospital and Karolinska Institut, Stockholm, Schweden

⁴ Laboratorium für Mikrospurenelemente, Hersbruck, Deutschland.

⁵ Caritas Hospital St. Josef, Regensburg, Deutschland

Die Konzentration der Übergangsmetalle in den Brustgewebeproben wurde mit Hilfe einer standardisierten AAS-Technik mit Königswasser-Aufschluss zur Probenvorbereitung gemessen. Um systematische Fehler auszuschließen, wurden die Metallanalysen bei den Kontrollbiopsien zusätzlich mittels der ICP-MS-Technik überprüft. Für die statistische Auswertung der Ergebnisse wurde der Mann-Whitney U-Test verwendet.

Bei den Tumorproben wurde im Vergleich zur Kontrollgruppe eine hoch signifikante Akkumulation von Eisen ($p < 0.0001$), Nickel ($p < 0.00005$), Chrom ($p < 0.00005$), Zink ($p < 0.001$), Cadmium ($p < 0.005$), Quecksilber ($p < 0.005$) und Blei ($p < 0.05$) festgestellt. Kupfer und Silber zeigten keine signifikanten Unterschiede zur Kontrollgruppe, während Zinn, Gold und Palladium in keiner Probe nachgewiesen werden konnten.

Diese Ergebnisse weisen darauf hin, dass die graduelle Akkumulation von Schwermetallen im Brustgewebe eng mit dem malignen Proliferationsprozess verbunden ist, und lassen die tumorhemmende Wirkung aktueller Therapieansätze mit hochdosierter Ascorbinsäure bzw. substituierten Phenolen erklären.

Schlüsselwörter

Brustkrebs, Schwermetalle, Eisen, Nickel, Chrom, Zink, Quecksilber, Blei, Cadmium, Kupfer, AAS

Abkürzungen

EDDA Ethylendiamine N,N'-diacetat

NTA Nitritoltri-Essigsäure

AAS Atom-Absorptions-Spektrophotometrie

ICP-MS Inductive Coupled Plasma - Massenspektroskopie

MELISA Memory Lymphocyte Immunostimulation Assay

Einleitung

In den letzten beiden Jahrzehnten wird die Anwesenheit von Übergangsmetallen wie Eisen oder Kupfer in Zusammenhang mit der Produktion freier Radikale über Fenton / Haber-Weiss-Reaktionen, Autoxidation von Ascorbat, Peroxidationsprozessen von Fettsäuren und Bildung von DNA-Strangbrüchen gebracht [2, 13, 15, 20]. Die durch Lipidperoxidation induzierten Malondialdehyd-DNA-Adukte können sich wiederum in großer Menge im Brustgewebe von Frauen mit Brustkrebs anhäufen, verbunden mit endogenen DNA-Veränderungen [25].

Darüberhinaus wurde bewiesen, dass Eisen-EDDA- und -NTA-Komplexe bei Wistar-Ratten freie Radikale und Nierentumore verursachen, was auf die Schlüsselrolle von Übergangsmetallen bei abnormalen Proliferationsprozessen hinweist [10, 17].

Da wiederholte DNA-Mutationen in den Mitochondrien und Zellkernen zu malignem Wachstum führen kann, untersuchten wir den Schwermetallgehalt in Brustkrebsbiopsien, die uns vom Institut für Pathophysiologie der Charles-Universität in Prag zur Verfügung gestellt wurden.

Materialien und Methoden

Die Schwermetallanalysen wurden in 20 tiefgefrorenen Brustkrebsbiopsien und 8 gesunden Gewebeproben durchgeführt, die uns von der Abteilung für Onkologie der 1. Medizinischen Fakultät der Charles-Universität Prag, Tschechien, und vom Caritas Krankenhaus St. Josef, Regensburg, Deutschland zur Verfügung gestellt wurden. Die histopathologischen Charakteristika der untersuchten Tumoren sind in Tab. 1 beschrieben.

Die Studie wurde von der örtlichen Ethikkommission genehmigt und alle Teilnehmer gaben vor der

Histologischer Typ	
Duktalkarzinom	12
Lobuläkarzinom	4
Andere	4
Grad	
I	5
II	12
III	1
Unbekannt	2
Hormoneller Rezeptorstatus	
ER+	13
ER-	7
ER unbekannt	0
PR+	17
PR-	1
PR unbekannt	2
HER2/ Farbintensität	
HERCEPTTEST 0	1
HERCEPTTEST 1	6
HERCEPTTEST 2	3
HERCEPTTEST 3	3
ND*	7

* nicht durchgeführt

Tab. 1 Grundlegende histopathologische Charakteristika der Brusttumoren.

Durchführung ihr schriftliches Einverständnis.

Die Konzentrationen von Eisen, Cadmium, Blei, Chrom, Zinn, Nickel, Kupfer, Quecksilber, Silber, Gold, Palladium und Zink in den Biopsien wurden mit Hilfe eines standardisierten Perkin Elmer SIMAA 6000 Atomabsorptions-Spektrometers mit Graphitrohrtechnik und einem Königswasseraufschluss zur Probenvorbereitung gemessen [18]. Zusätzlich wurden die Schwermetallanalysen in allen Kontrollbiopsien mit Hilfe einer ICP-MS Methodik im Labor für Spurenelemente, Hersbruck, Deutschland, untersucht.

Die Untersuchungsergebnisse werden als Mittelwert von 3 Einzelmessungen in µg/kg Gewebe dargestellt.

Zur statistischen Auswertung der Ergebnisse wurde der Mann-Whitney U Test verwendet.

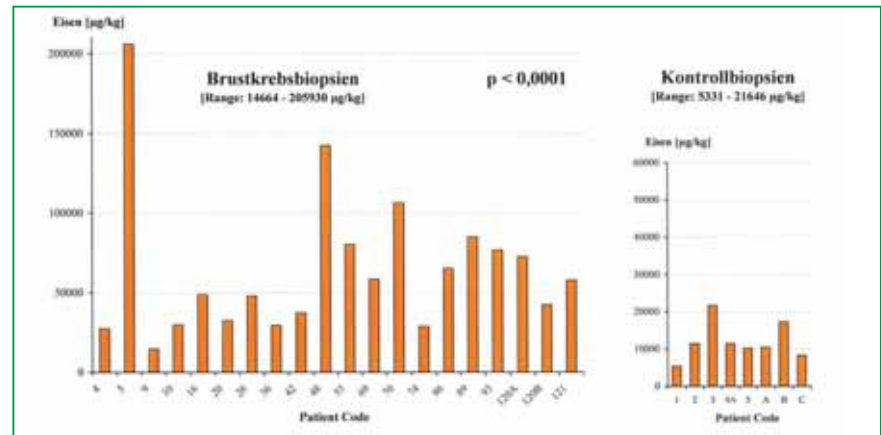


Fig. 1 Eisengehalt von 20 Brustkrebs- und 8 Kontrollbiopsien. Graphitrohr-AAS Technik.

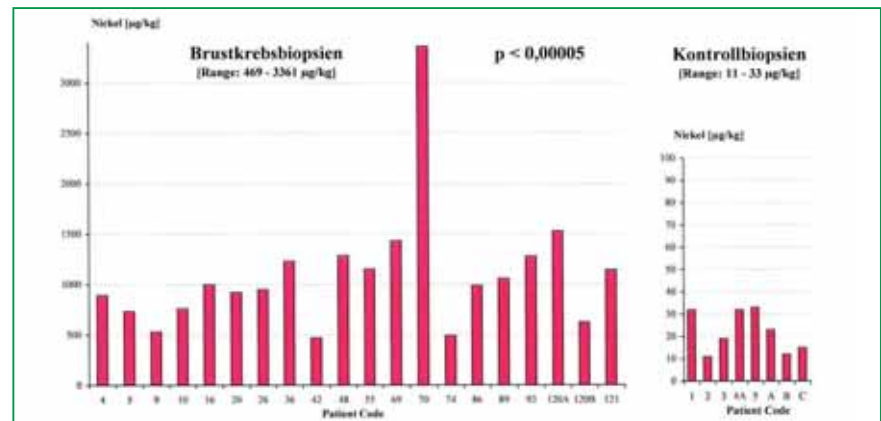


Fig. 2 Nickelgehalt von 20 Brustkrebs- und 8 Kontrollbiopsien. Graphitrohr-AAS Technik.

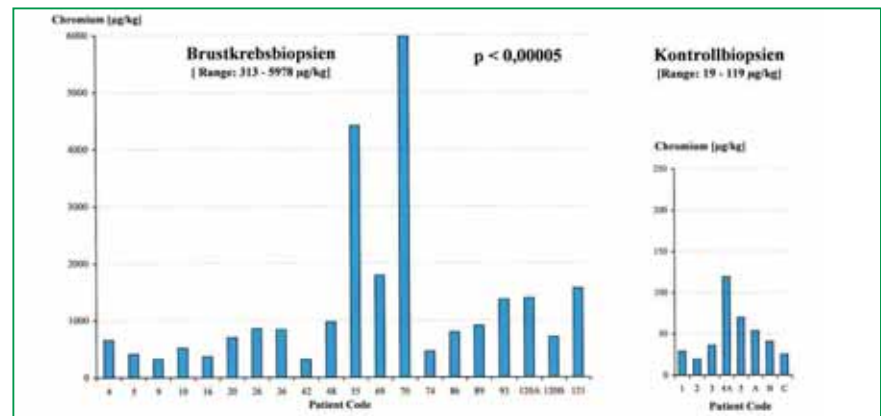


Fig. 3 Chromgehalt von 20 Brustkrebs- und 8 Kontrollbiopsien. Graphitrohr-AAS Technik.

Ergebnisse

Die Datenanalyse zeigte eine hoch signifikante Akkumulation von Eisen, Nickel, Chrom, Cadmium, Quecksilber, Zink und in einem geringeren Ausmaß Blei im malignen Brustgewebe, im Vergleich zum gesunden Brustgewebe.

Die Eisen-Werte in der Brustkrebsgruppe (Median: 53173.5 µg/kg, Bereich: 14664 - 205930 µg/kg) zeigten eine sehr deutliche Erhö-

hung im Vergleich zur Kontrollgruppe (Median: 10937 µg/kg, Bereich: 5331 - 21646 µg/kg) (p < 0.0001) (Fig. 1).

In den Patientenbiopsien wurde eine starke Nickel-Akkumulation (Median: 994.5 µg/kg, Bereich: 469 - 3361 µg/kg) nachgewiesen. Die Kontrollbiopsien zeigten messbare Werte (Median: 21 µg/kg, Bereich: 11 - 33 µg/kg), jedoch um einen Faktor 10 niedriger (p < 0.00005) (Fig. 2).

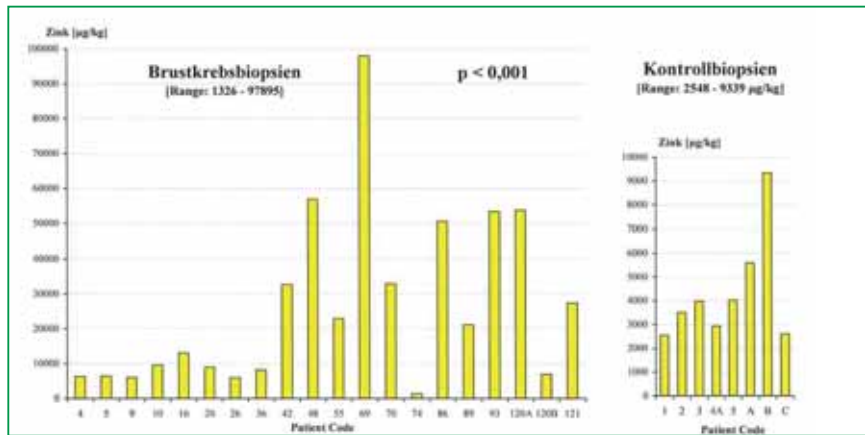


Fig. 4 Zinkgehalt von 20 Brustkrebs- und 8 Kontrollbiopsien. Graphitrohr-AAS Technik.

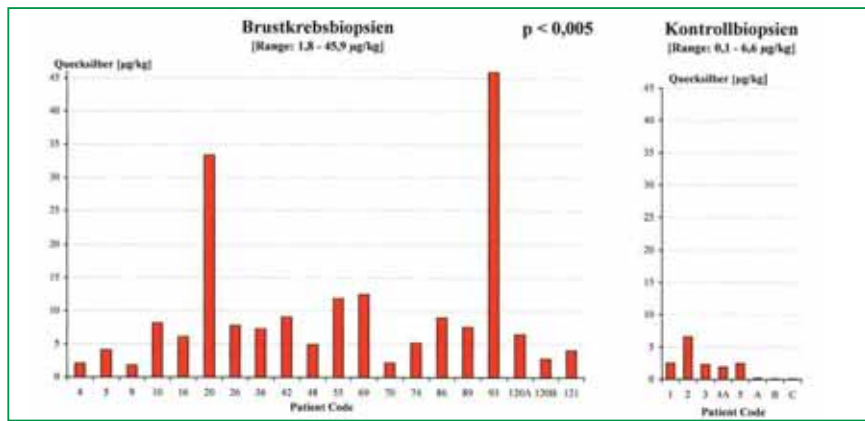


Fig. 5 Quecksilbergehalt von 20 Brustkrebs- und 8 Kontrollbiopsien. Graphitrohr-AAS Technik.

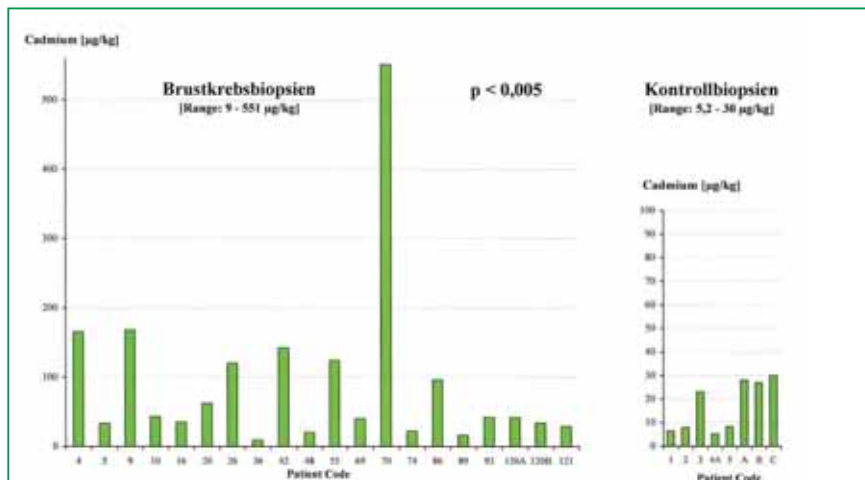


Fig. 6 Kadmiumgehalt von 20 Brustkrebs- und 8 Kontrollbiopsien. Graphitrohr-AAS Technik.

Ähnliche Ergebnisse wurden auch bei Chrom (Median: 815,5 µg/kg, Bereich: 313 - 5978 µg/kg) festgestellt, verglichen mit der Kontrollgruppe (Median: 38,5 µg/kg, Bereich: 19 - 119 µg/kg) ($p < 0,00005$) (Fig. 3).

Eine überraschend hohe Zink-Akkumulation (Median: 17075 µg/kg, Bereich: 1326 - 97895 µg/kg) wurde in den Tumorbiopsien festgestellt,

der Unterschied zur Kontrollgruppe (Median: 3741 µg/kg, Bereich: 2548 - 9339 µg/kg) war erneut hoch signifikant ($p < 0,001$) (Fig. 4).

Erhöhte Quecksilber-Gehalte wurden in 11 von 20 Tumorproben (Median: 6,9 µg/kg, Bereich: 1,8 - 45,9 µg/kg) gefunden, ein hochsignifikanter Unterschied zeigte sich im Vergleich zur Kontrollgruppe (Median: 2,1 µg/kg,

Bereich: 0,1 - 6,6 µg/kg) ($p < 0,005$) (Fig. 5).

Erhöhte Cadmium-Konzentrationen wurden bei 18 von 20 Krebsbiopsien festgestellt (Median: 42 µg/kg, Bereich: 9 - 551 µg/kg), der Unterschied zur Kontrollgruppe (Median: 15,6 µg/kg, Bereich: 5,2 - 30 µg/kg) war hochsignifikant ($p < 0,005$) (Fig. 6).

Ein erhöhter Blei-Wert wurde in 12 von 20 Tumorbiopsien gefunden (Median: 104,5 µg/kg, Bereich: 9 - 976 µg/kg). Der statistische Unterschied zur Kontrollgruppe (Median: 63,5, Bereich: 1 - 92 µg/kg) war signifikant ($p < 0,05$).

Überraschenderweise wurden erniedrigte Kupfer-Werte bei 11 von 20 Patientenbiopsien gefunden (Median: 919 µg/kg, Bereich: 320 - 44687 µg/kg), verglichen mit den Kontrollproben (Median: 1279,5 µg/kg, Bereich: 261 - 3049). Die anderen 9 Biopsien zeigten in 7 Fällen erhöhte Werte und in 2 Fällen Werte im Normalbereich, was auf ein unterschiedliches Aufnahmepattern abhängig von der Ätiologie oder dem Wachstumsstadium des Tumors hinweist. Insgesamt konnte hier kein signifikanter Unterschied zwischen der Krebsgruppe und den Kontrollpersonen beobachtet werden ($p = 0,65$).

Lediglich 4 von 20 Tumorproben wiesen Spuren von Silber nach (Bereich: 34,4 - 90,9 µg/kg), jedoch keine Kontrollbiopsie.

Weder in den Tumor- noch in den Kontrollbiopsien konnte Zinn, Gold oder Palladium nachgewiesen werden.

Ein Vergleich zweier verschiedener Methoden (AAS und ICP-MS), zeigte keinen statistischen Unterschied im Schwermetallgehalt der Kontrollbiopsien (Werte hier nicht aufgeführt).

Diskussion

In biologischen Systemen scheint die Konzentration redoxaktiver Übergangsmetalle mit der Fähigkeit, Freie Radikale wie Superoxid, Wasserstoffperoxid und Hydroxylradikal zu katalysieren bzw. zu bilden, relativ niedrig zu sein. Unter gewissen pathologischen Bedingungen (Hae-

mochromatosis, Wilson Krankheit, Kollagenosen und verschiedene Tumore) können sich die Übergangsmetalle und deren Transportproteine jedoch in verschiedenen Zielorganen anlagern und dort eine zelluläre Lipidperoxidation und DNA-Schäden verursachen.

Die Fähigkeit eines Eisenüberschusses, Hydroxylradikale zu bilden, das zelluläre Immunsystem zu unterdrücken und Tumorwachstum zu fördern, ist allgemein bekannt [10, 13, 17, 26] und erhöhte Kupferkonzentrationen wurden auch in menschlichen Lungenkrebs-Biopsien [1] und in anderen Tumoren [5] festgestellt.

Ni, Cr und Cd wurden aufgrund ihrer Fähigkeit, die Reparatur beschädigter DNA zu hemmen, als Mutagene und Karzinogene erkannt. Eine weitere Haupteigenschaft ist ihre Fähigkeit, die Mutagenität und Karzinogenität direkt wirkender genotoxischer Stoffe zu erhöhen [4]. Gleichzeitig wurden die karzinogenen Effekte von Ni, direkt oder im Zusammenspiel mit organischen Verbindungen, in der Literatur beschrieben [7, 16] und, aktuell, leicht erhöhte Konzentrationen von Fe und Ni in maligner menschlicher Prostata gefunden [27].

Die Inhalation bestimmter Formen des sechswertigen Chroms verursacht Lungenkrebs und auf zellulärer Ebene kann eine Chrombelastung zum Stillstand des Zellkreislaufs, Apoptose oder neoplastischen Veränderungen führen [21].

Die berufsbedingte Cadmiumexposition ist beim Menschen mit Lungenkrebs verbunden und hohe Cadmiumkonzentrationen wurden in proliferativen Prostata-Läsionen gefunden [24].

Interessanterweise wurde gezeigt, dass Zink als notwendiges Spurenelement Tumorwachstum vermittelt und beschleunigt, während sich Zinkmangel bei Mäusen und Ratten als das Tumorwachstum hemmend herausstellte [12, 14, 23].

Makromolekulare Komponenten (Dextran), die mit Hg-haltigen Seitenketten substituiert worden waren, zeigten bei Mäusen eine Fibrosar-

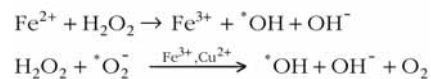
komwachstum-fördernde Wirkung [19].

Die Ätiologie der meisten Brusttumoren beim Menschen wird immer noch kontrovers diskutiert, es wird vermutet, dass hormonelle Einflüsse bzw. Umweltschadstoffe, die oxidativen Stress und Lipidperoxidation verursachen, eine Rolle bei der Entstehung von Brustkrebs spielen.

Unsere Studie beschreibt erstmals eine erhebliche Akkumulation von Eisen und anderen Übergangsmetallen wie Ni, Cr, Cd, Zn, Hg und Pb im Brustkrebsgewebe mit möglichen Auswirkungen auf die Pathogenese der Erkrankung.

Die Belastung mit Umweltschadstoffen sowie genetische Polymorphismen mit einer gestörten Detox-Phase II bzw. Veränderungen der Metall-Transferproteine oder deren Rezeptoren können für dieses Phänomen verantwortlich sein. Solche Zusammenhänge werden zur Zeit in unserer Klinik näher untersucht, da frühere Forschungsergebnisse eine hohe Transferrinrezeptordichte sowie Ferritinanlagerung im Brustkrebsgewebe aufwies [6].

Andererseits kann die erhöhte Schwermetallkonzentration in verschiedenen Tumoren für therapeutische Ansätze mit Vitamin C oder Phenolen genutzt werden, wie bereits berichtet wurde [3, 8, 9, 11]. Die Reduktion und Mobilisation von Übergangsmetallen aus ihren Speicher- oder Transportproteinen macht sie extrem reaktiv für die Katalyse freier Radikalreaktionen nach den Gleichungen:



Die beschriebenen Fenton- und Haber-Weiss-Reaktionen erzeugen in hohem Ausmaß Hydroxylradikale, was zu Lipidperoxidation, Unterbrechungen der DNA-Stränge und Apoptose führen kann [3, 13, 17].

Die Bioaktivierung von Phenolen / Quinonen an der Tumorstelle kann zu einer signifikanten Erzeugung von Superoxid-, H_2O_2 und Semiquinon-Radikalen mit schädlicher Wirkung auf

die metallreichen malignen Zellen führen [8, 9].

Präventivdiagnostische Verfahren sollten daher neben der Analyse aktueller Tumormarker den 2 / 16-OH-Östrogen-Quotienten, die Messung der Reaktionen der Detoxphase II und den MELISA test® [22] für metallspezifische Lymphozyten beinhalten.

Schlussfolgerung

Diese Ergebnisse weisen darauf hin, dass die graduelle Akkumulation von Schwermetallen im Brustgewebe eng mit dem malignen Proliferationsprozess verbunden sein kann, und lassen die tumorhemmende Wirkung aktueller Therapieansätze mit hochdosierter Ascorbinsäure bzw. substituierten Phenolen erklären

Diese Studie wurde vom Tschechischen Ministerium für Bildung unterstützt (No. MSM1111000-8)

Literatur

- [1] Adachi S. et al: Metal concentrations in lung tissue of subjects suffering from lung cancer. *Int Arch Occup Environ Health*, 63, 193–197, 1991.
- [2] Aust SD et al: Role of metals in oxygen radical reactions. *J Free Radic Biol Med*, 1, 3–25, 1985.
- [3] Baader SL et al: Ascorbic-acid-mediated iron release from cellular ferritin and its relation to the formation of DNA strand breaks in neuroblastoma cells. *J Cancer Res Clin Oncol*. 120 (7): 415–421, 1994.
- [4] Beyersmann D: Effects of carcinogenic metals on gene expression. *Toxicol Lett*, 28; 127 (1–3), 63–68, 2002.
- [5] Ebadi M, Swanson S.: The status of zinc, copper and methallothionein in cancer patients. *Prog Clin Biol Res*, 259, 161–175, 1988.
- [6] Elliot RL. et al : Breast carcinoma and the role of iron metabolism. A cytochemical, tissue culture, and ultrastructural study. *Anm N Y Acad Sci*, 698: 159–166, 1993.
- [7] Hartwing A: Recent advances in metal carcinogenicity. *Pure Appl Chem*, 72, 1007–1014, 2000.
- [8] Ionescu J.G. et al: Increased levels of transition metals in breast cancer tissue. *Neu-*

- roendocrinol Letters, 27 (1), 36–39, 2006.
- [9] Ionescu J.G. et al.: Heavy Metal Accumulation in Malignant Tumours as Basis for a New Integrative Therapy Model. In: *Anti-Aging Therapeutics* (Eds.: Klatz R., Goldmann R.), Vol. IX, Chapter 27, 189–201, 2007.
- [10] Liu M, Okada S: Induction of free radicals and tumors in the kidney of Wistar rats by ferric ethylenediamine-N,N'-diacetate. *Int J Sports Med*, 17, 397–403, 1996.
- [11] Lode HN et al: Ascorbic acid induces lipid peroxidation on neuroectodermal SK-N-LO cells with high endogenous ferritin content and loaded with Mab-ferritin immunoconjugates. *Anticancer Res. Sep-Oct*; 14 (5A): 1903–1906, 1994.
- [12] McQuitty JT Jr, DeWys WD, Monaco L, Strain WH, Tob CG, Apgar J, Pories WJ: Inhibition of tumor growth by dietary zinc deficiency. *Cancer Res*, 30 (5), 1387–1390, 1970.
- [13] Mello FA, Meneghini R: In vivo formation of single-strand breaks in DNA by hydrogen peroxide is mediated by the Haber-Weiss-reaction. *Biochem Biophys Acta*, 781, 56–63, 1984.
- [14] Mills BJ, Broghamer WL, Higgins PJ, Lindeman RD: Inhibition of tumor growth by zinc depletion of rats. *J Nutr.* 114 (4), 746–752, 1984.
- [15] Minotti G, Aust SD: The requirements for iron (III) in the initiation of lipid peroxidation by iron (II) and hydrogen peroxide. *J Biol Chem*, 262, 1098–1104, 1987.
- [16] Ohmori T, Okada K, Tabei R, Shibata T: Effects on tumor induction, growth, metastasis and histology of concurrent administration of putrescine and its metabolising inhibitor alpha-defluoromethylornithine in nickel tumorigenesis in soft tissue. *Carcinogenesis*, 15 (4), 647–652, 1994.
- [17] Okada S: Iron-induced tissue damage and cancer: the role of reactive oxygen species and free radicals. *Pathol Int*, 46, 311–332, 1996.
- [18] Pierini G et al: Atomic absorption spectrophotometry (AAS) for the evaluation of metallosis in prostheses and artificial organs: a new approach. *Int J Artif Organs*, 22 (7), 522–527, 1999.
- [19] Pitha J, Kociolek K, Apffel CA: Opposite effects of dextrans substituted with sulfhydryls or mercury on tumor growth. *Cancer Res.*, 39 (1): 170–173, 1979.
- [20] Scarpa M et al: Superoxide ion as active intermediate in the autoxidation of ascorbate by molecular oxygen. *J Biol Chem*, 258, 6698–6697, 1983.
- [21] Singh J., Carlisle DL, Pritchard DE, Patierno SR: Chromium-induced genotoxicity and apoptosis: relationship to chromium carcinogenesis (review). *Oncol Rep.*, 5 (6), 1307–1318, 1998.
- [22] Stejskal V. et al: Metal-specific lymphocytes: biomarkers of sensitivity in man. *Neuroendocrinology Letters*, 20, 289–298, 1999.
- [23] Takeda A, Goto K, Okada S: Zinc depletion suppresses tumor growth in mice. *Biol Trace Elem Res*, 59 (1–3), 23–29, 1997.
- [24] Waalkes MP, Coogan TP, Carter RA: Toxicological principles of metal carcinogenesis with special emphasis on cadmium. *Crit Rev Toxicol*, 22, 175–201, 1992.
- [25] Wang M et al: Lipid peroxidation-induced putative malondialdehyde-DNA adducts in human breast tissue. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.*, 5, 705–710, 1996.
- [26] Weinberg ED: The role of iron in cancer. *Eur J Cancer Prev*, 5, 19–36, 1996.
- [27] Yaman M, Atici D, Bakirdere S, Akdeniz I: Comparison of trace metal concentrations in malign and benign human prostate. *J Med Chem*, 48, 630–634, 2005.

Univ.-Dozent Dr. John G. Ionescu
Spezialklinik Neukirchen
Krankenhausstraße 9
D-93453 Neukirchen
T +49-(0)9947-28122
F +49(0)9947-28109
info@spezialklinik-neukirchen.de
www.spezialklinik-neukirchen.de