PRAXIS - telegramm

Ralf Reglin Verlag, Gustav - Radbruch - Str. 13, 5000 Köln 50

Gerhard Ohlenschläger
I. Berger

Sonderbeilage im Heft Nr. 4/91
Dezember 1991

Aldehyde - Aktivierte Sauerstoffstufen - Radikale - Oxidativer Stress. Pathobiochemische Probleme komplexer lebender Systeme

I. Einleitung

Leben ist im nicht-linearen komplexen Werden und in der Auseinandersetzung mit einem ebenfalls komplexen, nicht-linearen Umfeld ständig Veränderung, Metamorphose und in kompliziert vernetzten Wechselwirkungen mit Wachstum, Differenzierung, Anpassung, Energiewandlung, Fortpflanzung und Selbstähnlichkeitstendenzen verbunden.

Einmaliges irreversibles Gestalten auf der Grundlage eines genetisch dynamisch sich in bestimmten Rahmen anpassenden Programms auf der Grundlage der unumkehrbaren Zeitachse, als Phänomen "starker" Zeitlichkeit im biologischen Geschehen, phylogenetisch und ontogenetisch.

Nach Eigen (6) ist diese "starke" Zeitlichkeit wie auch die historische Einzigartigkeit dieser auf Selektion basierenden Evolution in der Unumkehrbarkeit, der sich auf mikroskopischer Ebene vollziehenden Abfolge von unvorhersehbaren Elementarereignissen, die auf Quantenunsicherkeit, auf quantenmechanischer Unschärfe wie auch auf der mehrdimensionalen Komplexität des Phasenraumes beruhen, zu sehen.

Keto-Enol-, sowie Amino-Imino-Tautomerien, Peptidbindungs-Mesomerien, Superoxid-Anion-Radikal-Mesomerie und andere, in definierten Phasen schwingende Wasserstoffbrückenbindungen, wie z.B. bei den biologischen Datenträgern (Purin- und Pyrimidinbasen), endogene Labilitäten von π-Elektronensystemen in bioorganischen Makromolekülen, Initiierung und raumzeitlicher Verlauf von Radikalkettenreaktionen, die Unsicherheit und nur statistisch mögliche Prognose, wann eine Demethylierung zu Methylanion, zu Methylkation oder zu Methyradikal führt, sind nur einige Beispiele dieser unvorhersagbaren Elementarereignisse, die auf der zu betrachtenden und zu beurteilenden, ja zur therapierenden Seinsebene biochemischer Strukturinteraktionen zur grotesken "Kippfähigkeit" im Sinne einer «Selbstorganisierten Kritizität» (SK) eines lebenden Systems führen kann (1).

Während ein genetisch zugrunde gelegter binärer Bauplan sich über eine informationsgesteuerete Biosynthese (Genexpression, Transkription, Splicing, Translatation, Proteinbiosynthese) von einer befruchteten Eizelle mit ca. 1×10^9 bis 1×10^{11} Bit in einem Potentialraum hinein entwickelt, in Abfolge eines komplexen genetischen Raum-Zeit-Musters bis zu einem ausgewachsenen Menschen mit ca. 1×10^{23} bis 3×10^{25} Bit - ein Leben hindurch mit ca. 10^{16} Gesamtzellteilungen und mit einem im zweiten Lebensjahrzent aktuellen Zellbestand von 10^{12} bis 10^{14} Zellen entwickelt, entwickelt über hochgeordnete selektive Enzymmechanismen, so wird dieser hochpräzise Prozeß durch "ungeordnet" statistisch einfallende bzw. adsorbierte Energiebeträge und durch die bereits erwähnten, den biochemischen Strukturen ohnehin zugrundeliegenden Quantenunsicherheiten in diesem final erscheinenden Ablauf, empfindlich gestört (37).

Die Vorstellung von Wahrscheinlichkeitswellen (WW) wurde zu einem Charakteristikum der Quantenmechanik. WW beziehen sich auf etwas, das irgendwie schon dabei war, sich zu ereignen, aber noch nicht verwirklicht war. Sie beziehen sich auf eine Geschehens-Tendenz, eine Tendenz, die auf eine undefinierte Art für sich selbst existiert, selbst wenn sie sich nie in einem Vorgang objektiviert. Möglicherweise sind WW mathematische "Kataloge" solcher Tendenzen.

Nach Heisenberg (16 a) bedeuten WW eine Tendenz zu einem bestimmten Geschehen; entsprechend des Aristotelischen Begriffes der "Potentia", der in einer merkwürdigen Art physikalischer Realität zwischen Möglichkeit und Wirklichkeit steht.

Die in dieser Arbeit besprochenen durch radikalische und andere elektrophile Verbindungen verursachten energetischen Störungen und Zerstörungen bestimmter bioorganischer Moleküle

(Enzyme, Transport- und Strukturproteine, Nukleinsäuren, PUFA´s u.a.), führen zu unvorhersehbaren Veränderungen biologischer Funktionen, zu stochastischer Metamorphose, zu Krankheit, zu vorzeitigem Alter und zum Tode, denn die systemeigenen, system-immanenten Reparaturmechanismen können nicht immer effektiv diesen Struktur-, Funktions- und Ordnungseinbrüchen entgegensteuern (6, 16 a, 36, 70).

Zumal viele große interaktive Systeme, die sich beständig selbst organisieren, sich zu einem kritischen Zustand hin entwickeln und u.U. aufrecht erhalten, so daß bereits ein winziges Ereignis, ein extrem geringer Energiebetrag, eine Kettenreaktion im Sinne der «selbstorganisierten Kritizität» in Gang setzen kann, die in eine Katastrophe mündet (1).

II. Struktur-, Funktions- und Ordnungserhaltende Mechanismen in lebenden Systemen und "oxidativer" Streß:

Durch die ständige Präsens von molekularem Sauerstoff und seinen rel. hohen Fließgleichgewichtskonzentrationen im Lidipmilieu aller biologischen Membranen, in Wechselwirkung mit Fe^{+++} oder Cu^{++} als 1-Elektronenquellen sowie durch eine Vielzahl unterschiedlicher enzymatischer und nicht-enzymatischer Systeme, die aktivierte Sauerstoffstufen (ASS) (O_2; H_2O_2; OH^-; O_2 ($^1\Delta_g$)) erzeugen, kommt es zu oxidativ-radikalischen Protein-, Peptid- und Aminosäureveränderungen (PPA-Veränderungen), neben vielen anderen Läsionen von bioorganischen Molekülen definierter Funktionen (2, 3, 4, 8, 9, 10, 15, 16, 19-70, 78).

Diese pathologischen PPA-Veränderungen haben pathobiochemisch deshalb so gravierende Konsequenzen, weil sie im Hinblick auf die hohe katalytische und allosterische Selektivität sowie die konformative, dreidimensionale Raumerfüllung von Enzym-, Transport- und Strukturproteinen eng an die biologische Funktion geknüpft sind, und oxidativ-radikalische Veränderungen, Störungen, ja Zerstörungen bedingen, die außerordentlich schwere Einbrüche in die komplex vernetzte geregelte Ordnung, Informationsbewahrung und Informationsweitergabe in lebenden Systemen darstellen.

Auf einer komplexen Komplementarität, allosterischen Passung und auf quantenmechanischen Resonanzen definierter Feldmuster bestimmt strukturierter Moleküle und, biochemisch gesehen, auf "Schwachen Wechselwirkungen" (Ionenbeziehungen, Elektronen-Donor-Akzeptor-Beziehungen, Ion-Dipol- und Dipol-Dipol-Wechselwirkungen, Wasserstoffbrückenbindungen, hydrophoben Wechselwirkungen und van-der-Waal´schen Wechselwirkungen; Bindungen im Bereich von nur 0,2 bis ca. 10 kcal/Mol) beruhen folgende Protein-Donor-Akzeptor-Wechselwirkungen:

1. Enzym - Substrat - Wechselwirkungen
2. Carrier - Substrat - Wechselwirkungen
3. Rezeptor - Signalmolekül - Wechselwirkungen (Hormone, Wachstums- und Differenzierungsfakt.)
4. Transportprotein - transportiertes Molekül - Wechselwirkungen
5. Strukturprotein - Funktions-Wechselwirkungen u.a.

Unterschiedlich geartete Energien (mechanische, thermische, chemische, infektiös-toxische, strahlenbedingte, redoxkatalytische u.a.) definierter Energiebeträge, besonders auch die metallkatalysierten Oxidationen von PPA durch die Reduktion von Fe^{+++} zu Fe^{++} und von O_2 zu H_2O_2, sind toxische Metabolite, die mit Komplexmetallen bestimmter Proteine zu "freien" Radikalen und ASS reagieren, sich zu OH^--Radikalen, zu Singulettsauerstoff $O_2(^1\Delta_g)$, zu Ferryl-Ionen u.a. umwandeln, um dann mit Proteinseitenketten weiter zu reagieren (2-10,15-19, 20-70, 78).

Neben der Lipidperoxidation spielt, so gesehen, auch die Proteinoxidation pathobiochemisch für viele Erkrankungen eine grundlegende Rolle.

Unter anderem (Carbonyl-Derivate und Aminosäurebruchstücke) kommt es zu Prolyl- und Arginyl-Metaboliten, die in Glutamylsemialdehyd und zu Lysylbruchstücken führen sowie zu Umwandlungen in 2-Amino-adipylsemialdehyd-Metabolite, die das ohnehin permanent anfallende endogene Aldehydproblem (EAP) verstärken.

Es kommt aber auch durch radikalische Reaktionen zu weiteren Aminosäureveränderungen:

A) Histidyl-Metaboliten
B) Aspartyl-Metaboliten
C) Prolyl-Metaboliten ---> Glutamyl- oder Pyroglutamyl
D) Methionyl-Metaboliten ----> Methionylsulfoxid
E) Cystinyl-Metaboliten ---> mixed Disulfid-Derivate

A) führt zu vielen Veränderungen in den Metallprotein-Verbindungen, in denen L-Histidin Bindeglied ist (Hämoglobin, Myoglobin, Cytochrome, Serum- und Mukosatransferrin u.a.).

D) führt zu Störungen im Hinblick auf die biologische Bedeutung des Methylgruppentransfers (Genregulation über Methylcytosin und seine Re- und Demethylierung; Uracilmethylierung zur Bildung von Thymin, als der in höheren Bauplänen rel. stark repräsentierten Base; Thymin-de-novo-Synthese ist der geschwindigkeitsbestimmende Schritt in der DNA-Biosynthese höher organisierter Tiere; Cholin-, Acetylcholin-, Adrenalin-, Carnitin-, Phosphatidylinositol-Biosynthesen u.a.)

E) führt zu einer Verschiebung der intrazellulären Redoxregelung aller SH-Gruppen-abhängigen Regelbereiche durch Veränderung des oszillierenden, labil-stabilen Gleichgewichtes:

$$G - SH \rightleftharpoons \text{gemischte Disulfide} \rightleftharpoons G - S - S - G$$

u.U. zum Zusammmenbruch vieler Enzymregulationen und zur Verminderung des ordnungserhaltenden negativen Redoxpotentials vitaler, lebender Zellen (4-16, 19-70, 71-75, 82).

Das für Struktur und Funktion lebender Systeme so wichtige negative Redoxpotential und die von ihm ausgehende Spannung, die Elektronegativität, die im Intermediärstoffwechsel ebenso wichtig wie der Protonenaustausch ist, wird bevorzugt repräsentiert durch das Askorbinsäure-Redoxsystem und durch SH-Gruppenmoleküle, an erster Stelle durch das Gluthation-System.

Alle elektrophilen Reaktionen, auch die Aldehyd-abhängigen an SH-Gruppen, sowie die bevorzugte Reaktion des G-SH als

1. G-SH mit Superoxid-Anionradikal (O_2), mit Hydroxylradikal (OH) und mit Singulettsauerstoff O_2 ($^1\Delta_g$).

1.1. $2\,O_2^{\circ} + 2\,H^+ + 2\,G\text{-}SH \rightarrow G\text{-}S\text{-}S\text{-}G + 2\,H_2O_2$
1.2. $2\,OH^{\circ} + 2\,G\text{-}SH \rightarrow G\text{-}S\text{-}S\text{-}G + 2\,H_2O$
1.3. $O_2(^1\Delta_g) + G\text{-}SH \rightarrow GS$ (Cysteinsäure)
$\rightarrow GS^*$ (Thiylradikal als Intermediat)

2. Superoxid-Anionradikale, Hydroxylradikale, Singulettsauerstoff und Wasserstoffperoxide reagieren mit mehrfach ungesättigten Fettsäuren (PUFA´s), wobei Vitamin E und die Selenabhängige Glutathion-Peroxidase die, durch die zuvor erwähnten reaktiven Spezies, erzeugte Lipidperoxidation begrenzen.

2.1. Das durch eine Lipidperoxidation radikalisch gewordene Vitamin E kann durch Askorbinsäure und/oder wiederum G-SH, welches dann in GS* übergeht, "renaturiert" werden.

3. Die radikalische Zwischenstufe des Redoxsystems: Askorbinsäure-Dehydroaskorbinsäure, das Semihydroaskorbat ist ebenfalls wie das Dihydroaskorbat, zytotoxisch. Die Reduktion der radikalischen Zwischenstufe - Semihydroaskorbat - kann einmal nicht-enzymatisch durch G-SH gescavengt werden, und zum anderen enzymatisch durch zwei Enzyme, nämlich durch
3.1. die NADH-abh. Semihydroaskorbat-Reduktase und
3.2. die G-SH-abh. Dehydroaskorbat-Reduktase, nach dem durch Reaktion von zwei Semihydroaskorbat-Molekülen im Sinne einer Radikalterminierung Dihydroaskorbat entstanden ist.

Tab. 1: Unterschiedliche Wechselwirkungen des G-SH mit Radikalen und aktivierten Sauerstoffstufen.

Coenzym, oder als nicht-enzymatischer Scavenger vermindern das Redoxpotential zellulärer und subzellulärer Kompartimente und stören damit alle von einem physiologischen Redoxpotential abhängigen Struktur-, Funktions- und Informationsbedingungen auf subzellulärer, molekularer Ebene (37, 79).

Ganz generell kommt es über radikalische und/oder oxidativ veränderte PPA`s zu einer verstärkten peptischen Desaggregation bzw. Katabolie und damit u.U. zur vorzeitigen Alterung, zu multivalenten Atrophien und Degenerationen bzw. degenerativen Erkrankungen, sowie zu Ablagerungen, zum "Altersmüll" in Zellen und Geweben (Lipofuszin, Amadorikörper, Amyloide u.a.).

Vorgänge, wie sie teilweise begleitend oder aber auch kausalpathologisch bei vielen degenerativen Erkrankungen vorliegen: (7-16, 57, 63, 75, 78).

- Progerie und WERNER-Syndrom.
- Muskeldystrophie
- Rheumatische Arthritis. (PCP).
- Kataraktgenese.
- Chron.Alkoholismus.
- Emphysem.
- Viele Formen von Durchblutungsstörungen.
- Neurogene Defekterkrankungen u.a.

Neben dem Verlust strukturgegebener Information und Ordnung des Zellstoffwechsels, im weitesten Sinne, sind aber auch die rel. langlebigen zelltoxischen Aldehyde des „oxidativen" Proteinkatabolismus (Glutamylsemialdehyd, 2- Aminoadipylsemialdehyd) als auch die Aldehyde aus anderen Quellen von pathobiochemischer Bedeutung. (5, 9).

Die oxidative Veränderung der Aminosäuren Arginin, Lysin und Histidin und ihre Umwandlung in Aldehyde, wie auch die Oxidation v. Aldehyden zu Carbonsäuren (z.B. Prolyl → Glutamylsemialdehyd → Glutamyl-Metabolite) ist pathobiochemisch nicht nur das Aldehydproblem per se, sondern es kommt auch zu Veränderungen des isoelektrischen Punktes von Proteinen, wie man z.B. an dem rel. wichtigen Enzym des Glutathionstoffwechsels, der Glutathion-Synthetase bei Inkubation mit Askorbinsäure - Fe^{+++}- 0_2-System beobachten konnte. (78).

α und β – ungesättigte Aldehyde, wie z.B. 4-Hydroxynonenal, die im Rahmen der Lipidperoxidation aus PUFA's entstehen, reagieren nicht nur mit Aminogruppen, sondern auch mit SH-Gruppen von Proteinen unter Bildung rel. stabiler Thiolether mit Carbonylfunktion, eine wichtige pathobiochemische Voraussetzung für viele Erkrankungen, unter permanentem „oxidativem Streß". (5, 9, 78).

Vor allem ist diese Thiolether-Reaktion ein Grund, die aktuelle G-SH-Konzentration intrazellulär zu mindern und so wieder neben der direkten Beeinflussung von SH-Gruppen abhängig arbeitenden Enzymen auch noch über die Regelverschlechterung des Glutathionsystems:

$$G\text{-}SH \rightleftharpoons \text{gemischte Disulfide} \rightleftharpoons G\text{-}S\text{-}S\text{-}G$$

viele andere Enzyme über Konformationsänderungen in ihren Funktionen für den Gesamtstoffwechsel empfindlich zu stören.

Aldehyde unterschiedlicher Molekularstruktur entstehen im menschlichen Organismus aus vier unterschiedlichen Quellen und stellen u.U. alleine aus einem der vier Gründe oder aber auch aus Additionsmöglichkeiten im Hinblick auf ihre Reaktivität und Sekundär-Metabolite ein grundlegendes Erkrankungsproblem für den Menschen dar. (5, 9, 15, 16, 37, 69, 78).

I.	Aldehyde aus Aminosäuren: (Proteinoxidation)	Glutamylsemialdehyd 2-Amino-adipylsemialdehyd
II.	Aldehyde aus Fettsäuren: (Lipidperoxidation)	4-Hydroxy-hexanal; 4-Hydroxy-octanal; 4-Hydroxy-nonenal; Propanal; Butanal; Pentanal; Hexanal; 2,4-Heptadienal; Malondialdehyd
III.	Aldehyde bei der Äthanol- und Methanol-Detoxifikation	Acetaldehyd Formaldehyd
IV.	Aldehyde beim Diabetes (Glykosylierungen)	Aldohexose (Glukose) ↓ Amadorikörper ↓ Endiole

Tab. 2: Verschiedene endogen entstehende, zelltoxische Aldehyde und ihre Quellen. Aldehyde führen nicht nur über Schiff´sche Basenbildung zu Vernetzungen und Reaktionen mit Aminogruppen zu Protein- und DNA-Veränderungen, sondern reagieren auch mit SH-Gruppen zu rel. stabilen Thiolethern und können selbst auch wieder eine Ursache für radikalische und photochemische Prozesse sein.

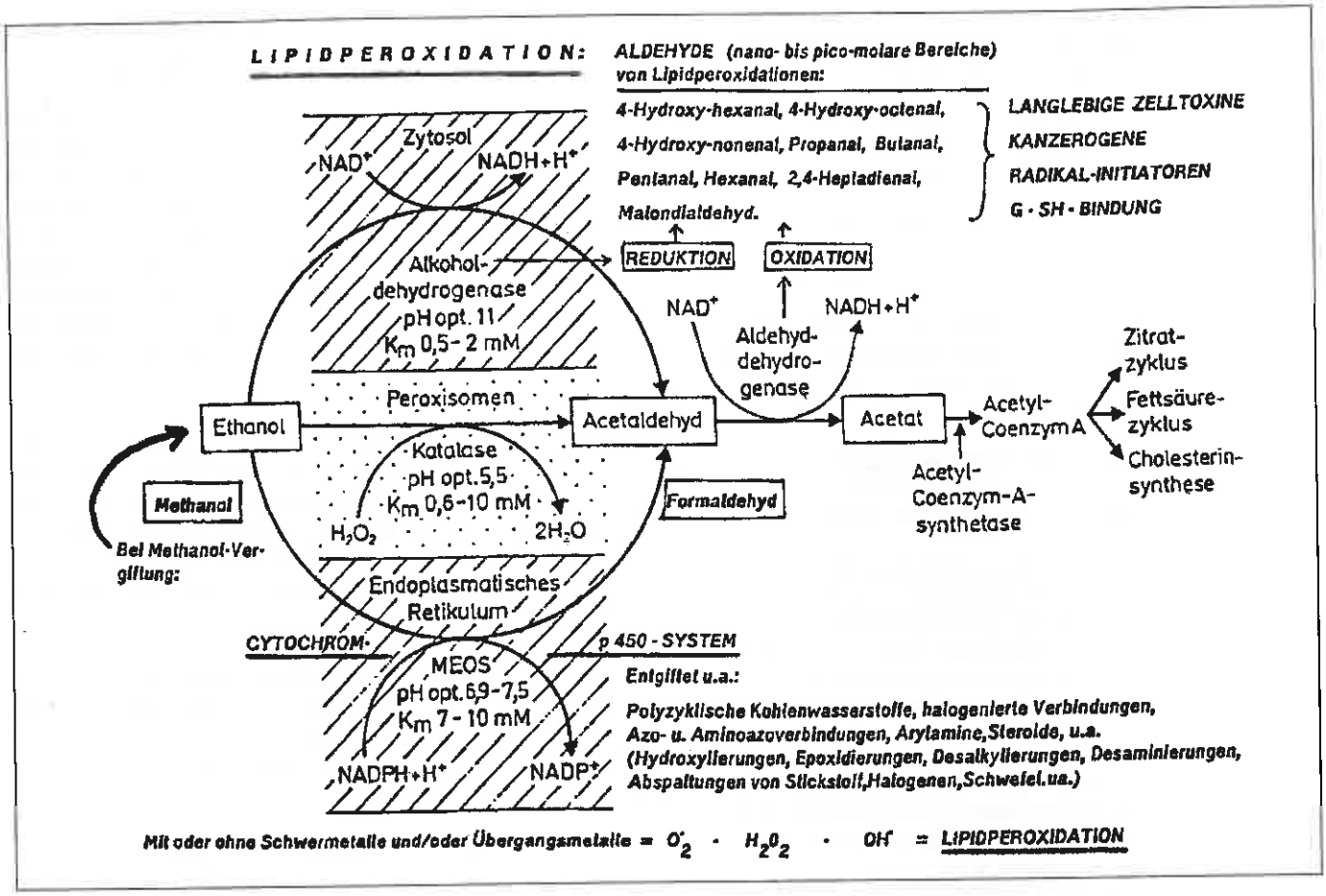


Abb. 1: Synoptische Darstellung der Pathobiochemie der Äthanol- und Methanolvergiftung über die Alkohol-Dehydrogenase und das Cytochrom-p-450-System unter Berücksichtigung der Aldehydentstehung, der Radikalbildung, der Redoxverschiebung über NAD^+-NADH sowie im Hinblick auf das Phänomen der Lipidperoxidation und der dadurch zusätzlichen Entstehung zelltoxischer Aldehyde

❑ I.) Bei den zuvor angesprochenen, radikalisch - oxidativ initiierten Aminosäure-Strukturänderungen.

❑ II.) Bei dem pathobiochemischen Phänomen der Lipidperoxidation. (63-70).

❑ III.) Bei oxidativer Äthanol- und Methanolentgiftung durch das Enzym Alkoholdehydrogenase über Acetaldehyd und Formaldehyd. (Abb.1)

❑ IV.) Und schließlich kommt es beim Diabetes mellitus durch die Hyperglykämie aufgrund der Glukose als Aldohexose zur pathologischen Vermehrung dieses Aldehyds mit allen pathobiochemischen Konsequenzen der Glykosylierung, Schiff´sche Basenbildung, Amadorikörperentstehung und über Endiole zum Pathophänomen der Glukoseoxidation, Wege, die kausalpathologisch eng mit allen diabetischen Komplikationen (Angiopathien,Polyneuropathien) verbunden sind. (81). (Tab. 2)

Wie folgenschwer für biologische Regulationen und auch für Genregulationen elektrophile Verbindungen - Aldehyde, „freie" Radikale und/oder ASS - sich auswirken können, zeigt sich auch in den oxidativen Veränderungen von SH-Domänen und Leucinstrukturen an den Transkriptionsfaktoren: „Zink-Finger" und „Leucin Zipper". (17a)

"Zink-Finger" (ZF) sind Transkriptionsfaktoren, die mit den RNA-Polymerasen II und III interagieren, von einer besonderen Molekularstruktur in einer Cys -His -Zn- Chelatbindung (Abb.2) als Cys_2/His_2- oder Cys_2/Cys_2-Finger. Unter den Proteinen, die solche Strukturen aufweisen, sind z.B. Glukokortikoid- und Steroid-Rezeptoren. (17a).

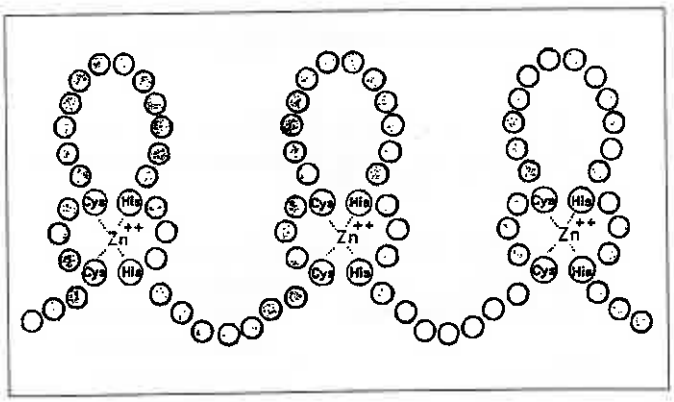


Abb. 2: Ausschnitt aus der Struktur einer Transkriptionsfaktors mit drei "Zink-Fingern", die jeweils aus einer charakteristischen Cystein-Histidin-Zink-Bindung bestehen und so die komplexe Komplementarität zur Wechselwirkung mit der DNA ermöglichen. Nach B. LEVINE (17 a).

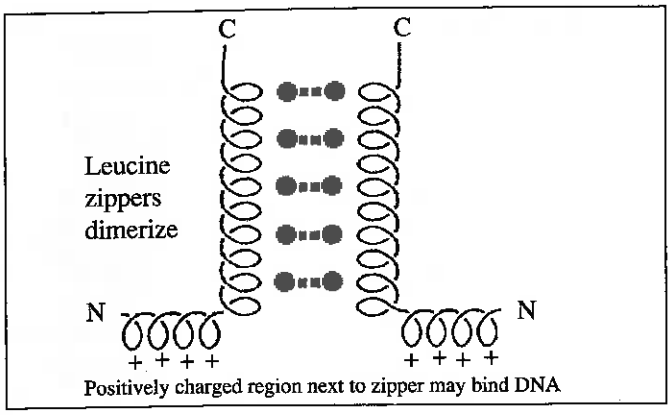


Abb. 3: Zwei "Leucin-Zippers" in paralleler Orientierung bilden eine dimere Struktur mit einer Alpha-Helixstruktur mit der für die DNA passenden Steigungshöhen von vier Residuen pro Windung , einem Leucin pro Steigung. Nach B. LEVINE (17 a).

„Leucin-Zipper" sind ebenfalls Transkriptionsfaktoren einer Leucinreichen Peptidstruktur, die eine amphipathische Alpha-Helix oder eine „coiled coil" bildet. Die amphipathische Alpha-Helix besitzt eine hydrophobe Leucin-reiche Seite und eine andere Seite mit geladenen Gruppen. (Abb. 3)

„Leucin-Zipper" interagieren mit der DNA-Sequenz:

$$ATGA^{G}_{C}TCAT.$$

Die Translationsprodukte der zellulären Mitogene c-jun und c-fos besitzen „Leucin-Zipper"- Struktur. (17a).

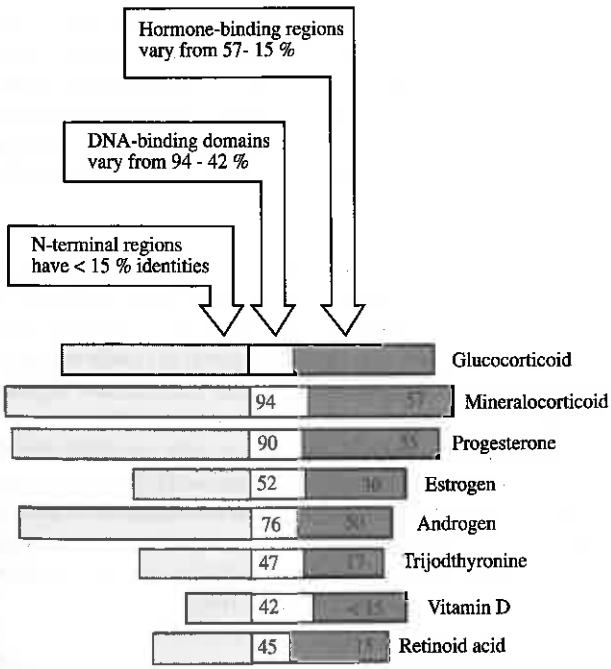


Abb. 4: Rezeptorstrukturen für verschiedene Steroidhormone, für Thyreoid-Hormone und für zwei fettlösliche Vitamine mit rel. individuellen N-terminalen Regionen, mit rel. konservativen DNA-Bindungsdomänen sowie den teil-homologen, C-terminalen Hormonbindungsregionen. Nach B. LEVINE (17 a).

Auch bei diesen Strukturen sind, wie bei der LDL-Mizellarstruktur oxidative bzw. radikalische Leucinschäden und ihre pathobiochemischen Konsequenzen leicht möglich.

Interessant im Zusammenhang mit der Steroid-induzierten Genregulation ist nicht nur die rel. weitgehende Homologie der Rezeptoren für die synergistische Gesamtordnung eines Organismus physiologisch so unterschiedlich wirkender Hormone: Glukokortikoide, Mineralokortikoide, Progesterone, Östrogene, Androgene, Trijodthyronine sowie die Vitamine Vit.D und Retinolsäure im Bereich der carboxylterminalen Hormonbindungs-Domäne (Abb. 4), sondern vor allem, daß die DNA-Bindungsstelle in der Molekülmitte bei jedem dieser Rezeptoren jeweils zwei „Zink-Finger" aufweist. (17a)

Man kann sich leicht vorstellen, daß radikalische und die anderen in dieser Arbeit beschriebenen Veränderungen (Aldehydproblem), in der Bindungsdomäne bzw. ihrem zugehörigen Gen, denn auch die entsprechenden Genabschnitte sind palindromisch (Tab. 3), physiologischerweise und erst recht aber auch bei Steroid-Rezeptor-positiven Neoplasien zu extremen Regulationsstörungen und Therapieschwierigkeiten auf der Ebene von Steroidhormonwirkungen führen. (29 - 70).

Hormone	Element	Consensus
Glucocorticoid	GRE	GGTACANNNTGTTCT
Estrogen	ERE	GGTCANNNTG $^{A}_{T}$CC
Thyroid	TRE	CAGGGACGTDACCGCA

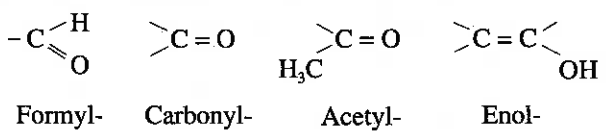
Tab. 3: Palindromische Response-Elemente der Hormon-Rezeptoren. Nach B. LEVINE (17 a).

Aber auch die „Zink-Finger" abhängige DNA-Bindungsstelle kann, wie bereits erwähnt, über Cystein- und/oder Histidinveränderungen den Zusammenbruch einer Steroidhormon-Regulation bedeuten.
Struktur, Funktion und Information hängen auf eine interessante Weise eng zusammen.

❑ Zu dem „endogenen" Aldehydproblem kommt zusätzlich ein „exogenes" Aldehydproblem durch aldehydhaltige Fruchtsaftgetränke hinzu. (Tab. 2 a)

III. Zur Chemie der Aldehyde, Ketone und Endiole

Aldehyde (dehydrierte Alkohole) besitzen eine Formylgruppe. In Ketonen (Carbonyl) dagegen sind an der Carbonylgruppe zwei Akoholgruppen gebunden. Bindet eine Methylgruppe an eine Alkylstelle, gelangt man zur Acetylgruppierung; und Enole entstehen schließlich aus Aldehyden oder Ketonen durch die Verlegung eines Wasserstoffatoms von einem Kohlenstoffatom zum Sauerstoff einer benachbarten Carbonylgruppe unter gleich-



zeitiger Verschiebung der Doppelbindung von C = O nach C = C. (12, 13).

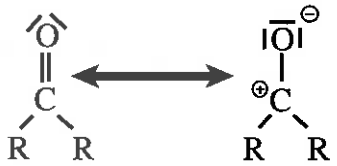
Eine intramolekulare Wasserstoffverschiebung ist eine Tautomerie; z.B. Keto-Enol-Tautomerie. (12, 13).

Enole sind keine Alkohole, sondern entstehen vielmehr durch Reduktion, durch elektrophile bzw. radikalische Angriffe aus Aldehyden und Ketonen. Was im Zusammenhang des in dieser Arbeit angesprochenen Aldehydproblems steht, ist die Tatsache, daß die Carbonylgruppen von Aldehyden (Formylgruppen) und Ketonen die reaktivsten Kohlenstoffatome enthalten, die in der Natur vorkommen, durch die extreme Elektrophilie des Carbonylkohlenstoffs, der praktisch sich jedem Nukleophil in lebenden Systemen, z.B. OH-Gruppen aus Wasser; NH_2 -Gruppen aus Aminen; SH-Gruppen von Proteinen u.a., anlagert. (3, 12, 13).

Saft	Alkohole	Aldehyde	Säuren	Ester	Ketone	sonstige Verbindungen
Apfelsaft	n-Hexanol	Formaldehyd, Acetaldehyd	Ameisensäure Essigsäure Propionsäure n-Caprylsäure n-Buttersäure Apfelsäure	Isobutanolacetat Isoamylacetat n-Hexanolacetat	Aceton Acetophenon	Amine, Monosaccharide, Pektine, Vit. C, nat. Farbstoffe, Mineralstoffe
Himbeersaft	Ethanol Isoamylalkohol Benzylalkohol Phenylethylalk. Isobutylalkohol Hexen-(3)-ol-(1), n-Hexanol	Benzaldehyd	Essigsäure N-Capronsäure Benzoesäure Bernsteinsäure Citronensäure Phthalsäure Salicylsäure p-Hydroxybenzoesäure Brenzschleimsäure	Ethyl-	Diacetyl acetat	Brenzkatechin Farbstoffe der Cyanidinbiosidreihe, Monosaccharide, Pektine, Vit C, Schleimstoffe, Mineralstoffe
Orangensaft		Acetaldehyd Hexanal Hexenal Octanal Citral	Citronensäure		Carvon	Pektine, Vit C, Farbstoffe der Flavon- und Carotinreihe, Mineralstoffe, Invertzucker

Tab. 2a: Aldehydhaltige Fruchtsaftgetränke im Vergleich, nach K.-H. GÜNSTER und H. HENSCHEL (14)

Diese reaktive Elektrophilie wird erklärt mit der Annahme, daß das Elektronenpaar der C = O - Doppelbindung weitgehend am Sauerstoffatom lokalisiert ist. Aus diesem Grunde läßt sich auch diese Bindung als eine polare Grenzstruktur beschreiben: (12,13)



Der Sauerstoff trägt eine halbe negative und der Kohlenstoff eine halbe positive Ladung. Experimente und das rel. starke Dipolmoment des Acetaldehyds z.B. sprechen für diese Theorie. (3, 12, 13)

So ist das Dipolmoment des Acetaldehyds z.B. mit 9×10^{-30} Cm (= 2,7 D) viel größer noch als das des Wassers mit 1,8 D.
Eine weitere Besonderheit für die Reaktivität von Aldehyden ist, daß bei Deprotonierung CH-azider Verbindungen ein Kohlenstoff-Anion (Carbanion) entsteht, welches durch Mesomerie seine Ladung weitgehend auf den Sauerstoff der Carbonylgruppe übertragen kann, so daß Enolat- und Ketocarbanion keine Tautomere, sondern Mesomere darstellen. Es kommt zu einem tauto - mesomeren Phasensprung. (12, 13).

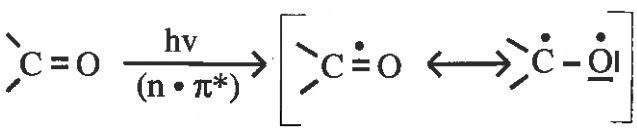
Die positive Partialladung des Carbonylkohlenstoffatoms führt, wie eingangs bereits erwähnt, zur Addition vieler nukleophiler Reagentien an die C = O - Doppelbindung.

Trotz des elektronegativeren Sauerstoffs ist das Kohlenstoffatom aufgrund seiner Mesomerie so stark negativ, daß es mit einem positiv polarisierten Kohlenstoffatom der Carbonylgruppe des ursprünglichen Aldehyds oder Ketons zu einer Aldol-Addition, einer bekannten Synthesereaktion der organischen Chemie, reagieren kann. (3, 12, 13).

Auch biosynthetische Reaktionen im Metabolismus des Menschen (Fettsäurebiosynthese) gehen von der Aldol-Addition aus. Von besonderer ambivalenter biochemischer, aber auch pathobiochemischer Bedeutung ist die nukleophile Addition, die - wie bereits erwähnt - zu Schiff'schen Basen führt, zu crosslinks und über SH-Gruppen-Addukte Enzymkatalysen, Stoffwechselregulationen, Genregulationen sowie die G-SH-Feinregulationen in Frage stellt. (7-16, 54, 69, 70).

Aldehyde sind auch in Form der Glukose die am häufigsten vorkommenden Reduktionsmittel der Natur. 4 - Hydroxynonenal und auch Aldehyde aus anderen Quellen (Tab.2) reagieren mit SH-Gruppen von Proteinen und Nicht-Proteinen.Es kommt zu Inaktivierung funktioneller Gruppen in DNA-Polymerasen, die konsekutiv zur erhöhten Fehlerhaftigkeit der DNA-Reparatur und zu lichtmikroskopisch sichtbaren Chromosomenaberrationen führen.

Aldehyde und Ketone sind in lebenden Systemen auch von photochemischem pathophysiologischem Interesse durch ihre langwellige UV-Absorption im Gebiet um 300 nm. Dabei handelt es sich um einen n - π *-Übergang, der zwar mit kleiner Intensität (ε ca. 10) abläuft, wobei jedoch der angeregte Zustand eine rel. lange Existenzzeit aufweist. (2).
Bei quantenphysikalischer Anregung geht ein Elektron des freien p-Elektronenpaares am Sauerstoff in ein höheres antibindendes Orbital des π-Elektronensystems der Carbonylgruppe über, die so Diradikalcharakter mit allen Konsequenzen für die jeweilige molekulare Umgebung in den verschiedenen Kompartimenten lebender Systeme erhält: (2, 3, 12, 13).



Dieses bei einer solchen Anregung gebildete „quasi Diradikal"

kann dann auf verschiedenen Wegen weiterreagieren:

- 1.) Addition von H-Atomen (durch H - Abstraktion) oder von Elektronen.
- 2.) Addition von Olefinen zu Cycloaddukten.
- 3.) Alpha-Spaltung, d.h. C -C -Bindung, die der Carbonylgruppe benachbart ist; sog. NORRISH - Typ I - Spaltung.
- 4.) ß-Spaltung.
- 5.) Halogen-, Amino- und/oder Cyclopropylspaltung, d.h. Spaltung an einer Ringbindung.
- 6.) NORRISH Typ II- Spaltung. (2, 3).

Bei quantenphysikalischen (bzw. photochemischen) Molekülanregungen spielt die Elektronenverteilung in Form des Dipolmoments eine Rolle. Das Dipolmoment von Ketonen und Alpha-Beta-ungesättigten Ketonen ist im n - π^*-Zustand kleiner als im Grundzustand. Das Sauerstoffatom reagiert dann nicht mehr elektrophil wie im Grundzustand, sondern nukleophil. Diese Eigenschaft n - π^* -angeregter Carbonylverbindungen ist eine wichtige Konsequenz bei H-Abstraktionen, bei Photoreduktionen und bestimmt möglicherweise auch die Regioselektivität von Photoadditionen an Alpha-Beta-ungesättigten Ketonen. In π - π^*- angeregten Ketonen ist die Elektronenverteilung nicht wesentlich anders als im Grundzustand. (2, 77).

IV. Das biologische Aldehydproblem. Biochemie und Pathobiochemie der Aldehyde in lebenden Systemen

Neben den rel. kurzlebigen "freien" Radikalen stellen Aldehyde in Abhängigkeit ihrer Molekularstruktur viel langlebigere, gut diffusible Molekül- und zelltoxische Substanzen dar, die aus verschiedenen Quellen im Organismus entstehen können. (Abb.1 u.Tab.2)

Wie bereits erwähnt, reagieren 4-Hydroxalkanale (HNE), Malondialdehyde (MDA) und/oder z.B. Acrolein unter milden Reaktionsbedingungen, wie sie in biologischen Kompartimenten vorkommen können, und bei rel. niedrigen Dosierungen mit zellulären und subzellulären Strukturen. (5-9, 15, 16, 69, 70).

Reaktionen mit NH_2 Gruppen, „cross-links", Thioletherbildungen mit G-SH, L-Cystein und anderen SH-Proteinen, Desaggregation von Omega-3-PUFA's u.a. sind auch unter physiologischen Milieubedingungen möglich und lassen verständlich werden, daß Aldehyde aus unterschiedlichen PUFA-Quellen (Tab. 2 und Tab.4) in Konzentrationen von 50-100 µM toxische Effekte ausüben, sowie Zellnekrosen, Mitochondrienzerstörungen, DNA- und RNA-Veränderungen und extreme Störungen der Proteinbiosynthese, zumal in Mikrosomen mancher Gewebe bis zu 4,5 mM Aldehydkonzentrationen gefunden wurden. (5-16, 54, 69, 70).

Rel. geringe Konzentrationen um 0,1 µM reichen aus, um Feinregulationen (Adenylat- u. Guanylat-Cyclasefunktionen; cAMP/cGMP-Verschiebungen; Phospholipase C; Phosphatidyl-4,5-Biphosphat-Regulation (PIP_2); die Calcium-Kinetik; das Redoxpotential) mit allen Konsequenzen für diese vernetzten Regelkreise empfindlich zu stören. Die Kohlenwasserstofflänge und damit die Fettlöslichkeit von Aldehyden geht der Toxizität wegen der lipophilen Membransituationen biologischer Kompartimente parallel.

Die Inaktivierung von Aldehyden wiederum ist an die Intaktheit einiger weniger Enzyme gebunden, so z.B. an die Aldehyd-Dehydrogenasen, Alkohol-Dehydrogenasen und vor allem auch an die verschiedenen Glutathion-S-Transferasen-Isoenzyme. Diese Art der enzymatischen Detoxifikation und die Tatsache, daß G-SH auch nicht-enzymatisch zur Entgiftung gebraucht wird, zeigt auch, wie eng die Aldehydentstehung und ihre Detoxifikation mit Störungen der Redoxpotentialregelung bzw. mit Störungen des Systems G -SH $\rightleftharpoons$ gemischte Disulfide $\rightleftharpoons$ G-S-S-G verbunden sind. (70).
Die in der Leber hauptsächlich gebildeten HNE-Metabolite als G-SH-Konjugate sind in Abb. 5 dargestellt:

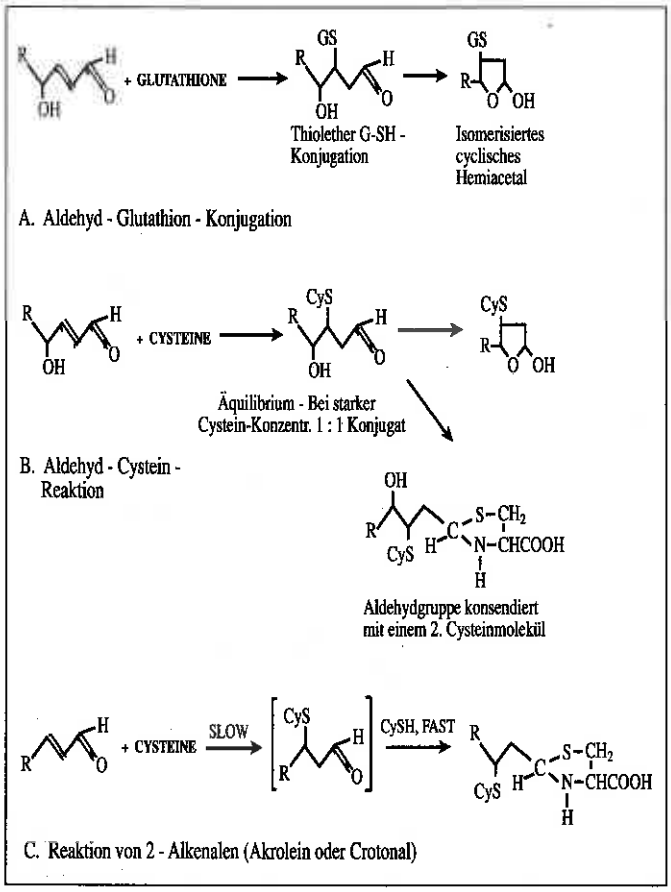


Abb.5: Reaktionen der SH-Gruppen von Glutathion und Cystein mit 4-Hydroxyalkenalen oder 2-Alkenalen. Nach H. ESTERBAUER, R.J. SCHAUR u. H. ZOLLNER (9).

Omega-3-PUFA´s (22 : 6)	4-Hydroxyhexenal 4-Hydroperoxyhexenal 4,5-Dihdroxyheptenal
Omega-6-PUFA´s (18 : 2 und 20 : 4)	4-Hydroxynonenal (HNE) 4-Hydroperoxynonenal 4,5-Dihydroxydecenal
Omega-9-PUFA´s (20 : 3)	4-Hydroxyundecal **4-Hydroperoxyundecenal** 4,5-Dihydroxydodecenal

Tab. 4

Von einer weiteren, mehr exogen-toxischen Bedeutung ist die Ozonkontamination der Großstadtluft bei bestimmten Wetterlagen mit Ozonkonzentrationen von über 100 bis 200 Mikrogramm/Kubikmeter.

Bioorganische Moleküle, Zellmembranen, Bronchial- und Alveolarepithel, vor allem die Phospholipide des Surfactant-Faktors, aber auch die Alveolarmakrophagen reagieren mit Geschwindigkeitskonstanten von 10^5 L/mol/s und führen nicht nur zu Ozoniden entsprechend der bekannten CRIEGEE-Reaktion, sondern auch zu Aldehyden, Peroxiden und Radikalen, wie Abb. 6 zeigt. (7, 36, 40, 43, 54, 63, 67, 69, 70, 72).
Eine synoptische Betrachtung der wechselwirkenden Zusammenhänge zwischen Radikalen, Xenobiotika, Lipidperoxidation, Aldehyden im Circulus vitiosus versucht vereinfacht die Abb.7 darzustellen.
In der anschließenden Tabelle Nr. 4 a sind die antioxidativen Kriterien des Intravasal-Raumes dargestellt.

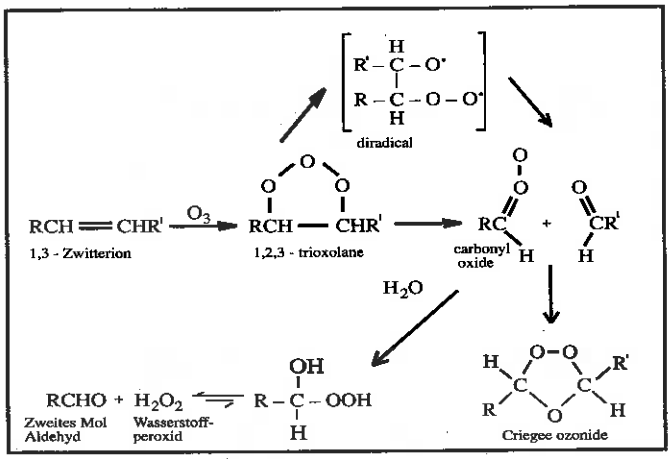


Abb.6: Reaktionsmechanismen des Ozons mit 1,2-disubstituierten Olefinen, wie PUFA´s im protonischen und nicht-protonischen Milieu. Nach W.A. PRYOR und D.F. CHURCH (72).

Antioxidative Kriterien im Intravasal-Raum:

- Redoxpotential bei pH 7,4 = - 210 mV (ggüb.Kalomel-Elektrode) (stark reduziernd) = + 30 mV (ggüb. Wasserstoff-Elektrode)
- Wenig G-SH (beim Menschen ca. 2,0 µM; bei der Ratte ca. 20 µM
- Askorbinsäure 50 - 200 µM
- NAD^+ ~ 55 mg/kg KG. NADH ~ 36 mg/kg KG (Ratte)
- $NADP^+$ ~ 5 mg/kg KG. NADPH ~ 3 mg/kg KG (Ratte)

Scavenger: (Serumproteine)

•• Fe-freies Transferrin. Lactoferrin. Haptoglobin (Hp-Hg-Komplexe) Hämopexin (Häm-Hp-Komplexe). Ceruloplasmin (Cu-Bindung) Albumin --> Cu-, Bilirubin- und Fettsäure-Bindung

Scavenger: (Antioxidative Enzyme)

•• Rel. wenig KAT, SOD und Px.

Scavenger: (fettlösl. Vitamine und Substrate).

•• Vit. E transportiert über Lipoproteine; ca. 0,75 - 0,95 mg/100 ml
•• Vit. A transportiert über RBG; ca. 40,5 - 44,9 µg/100 ml
•• Glukose 55 - 95 mg/100 ml. Cave Aldohexose Glykosylierung.
•• Harnsäure 2,5 - 6,5 mg/100 ml. Cave Oxidation zu Alloxan. Harnsäure ist wie auch Glukose ein guter Hydroxyl-Radikal-Scavenger.

Scavenger: (ess. Spurenelement)

•• Selen Plasma: 80 - 120 ng/ml

Tab. 4a

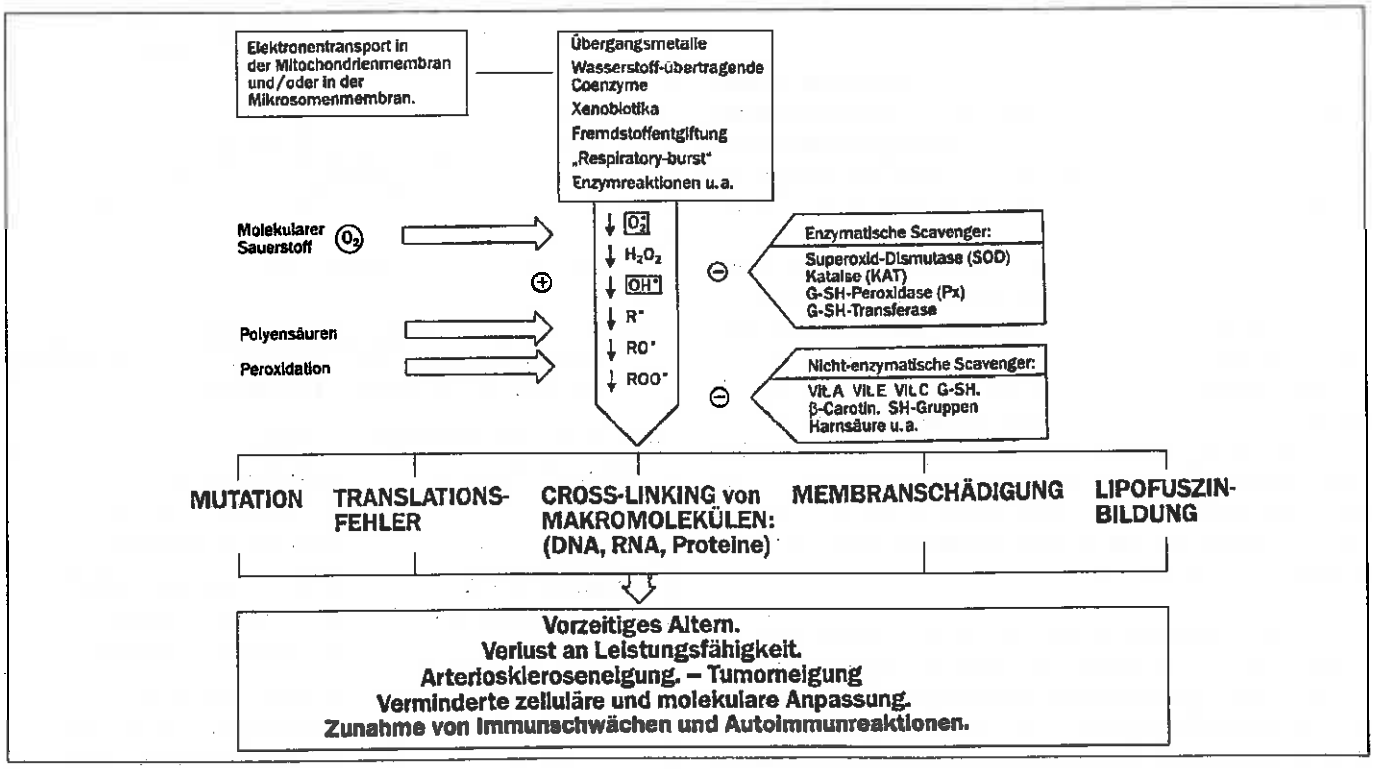


Abb. 7: Synoptische Betrachtung wechselwirkender Zusammenhänge beim "oxidativen Streß" und ihre möglichen Auswirkungen, nach G. Ohlenschläger

V. SH-Gruppen und S-S-Bindungen als Struktur-, Funktions- und Informations-tragende Matrizen im enzymatisch geregelten Stoffwechsel lebender Systeme:

Das strukturgebundene Redox- und Informationssystem R-SH ⇌ R-S-S-R besitzt außer der Rolle wichtige Aufgaben in den katalytischen und regulatorischen Funktionen vieler Enzyme in Form der SH-Gruppen als nukleophile Topi, sowie in Form der S-S-Bindung als strukturstabilisierendes, konformationsgebendes „Moment" in allen Proteinen, Enzymmolekülen, Transport- und Strukturproteinen. (3, 47 - 9, 12,15, 16, 69 - 71, 76-79).

Von den in eukaryonten Zellen vorliegenden Thiol-Disulfid-Systemen ist neben proteinständigen Mono-, Di- sowie Polythiolen (Metallothioneine), Cystein-Cystin und Dihydrolipoat-Lipoat das G-SH - G-S-S-G - System von seinen physiologischen Zellkonzentrationen und der Anzahl von enzymatischen und nicht-enzymatischen Reaktionen das wichtigste. (4, 70).

Die Funktionen der SH-Gruppen von Proteinmolekülen variieren. Bei einigen Enzymen nehmen SH-Gruppen direkt an der Bildung des Enzym-Substratkomplexes (Thioesterbindung) teil. Bei anderen spielt in Abhängigkeit des umgebenden Redoxpotentials und des pH-Wertes die Thiol-Disulfidaustauschreaktion für die Katalyseregulation eine Rolle. Aber auch Disulfid-Dithiol-Interkonversionen haben Anteil an Elektron-, Proton- bzw. Wasserstofftransporten zwischen Enzym und Substrat, was sich auch in der sehr unterschiedlichen Beeinflußbarkeit der Enzymkinetik durch stationäre Magnetfelder zeigt. (19, 62).

SH-Gruppen partizipieren an der Enzymbindung von Substraten, Cofaktoren (wie Metallionen und/oder prosthetische Gruppen), also auch an der Bindung von Apoenzymen. Ein besonders interessantes Beispiel ist die Bindung von G-SH als Coenzym und Reduktionsäquivalent-Donor für die Selen-abhängigen Glutathion-Peroxidasen (Sel.-abh.-G-SHPx). (64, 70).

„Last not least" zeigt sich auch in der SH-Gruppe - strukturstabilisierend informativ - ihre Aufgabe in der stereochemischen Induktion und Ausbildung einer definierten dreidimensionalen Konformation des Enzymmoleküls als Voraussetzung seiner hohen selektiven Wirkungsspezifität.

Möglicherweise trägt die SH-Gruppe, so wie andere schwache Wechselwirkungen, über Wasserstoffoszillationen an quantenmechanischen Wechselwirkungen im Sinne von Wellenmustern und Feldentsprechungen bei, im Rahmen der Enzym-Substrat-Komplexnäherung und Entfernung.

Interessant ist, daß viele Proteine, die S-S-Bindungen enthalten, keine SH-Gruppen besitzen und umgekehrt. Proteine, die beide aufweisen, sind rel. wenige, z.B. Serumalbumine, Papin, Ficin, Eialbumin und B-Lactoglobulin. (79).

Möglicherweise könnte die Koexistenz von SH-Gruppen und S-S-Bindungen über Thiol-Disulfid-Austausche eine Strukturlabilität solcher Moleküle bedingen oder einen Katalyse-Schaltmechanismus darstellen. (79).

Das Serumalbumin z.B. besteht aus einer einzigen Molekülkette mit einer molaren Masse von 66 000 Dalton und enthält 17 S-S-Bindungen bei einer SH-Gruppe. Ein weiterer Grund, warum Proteinmoleküle nicht soviel SH-Gruppen als auch S-S-Bindungen enthalten, ist in der unterschiedlichen phys.-chem. Umgebung gegebener Kompartimente zu suchen. Extrazelluläre Proteine besitzen in der Regel S-S-Bindungen und intrazelluläre Proteine SH-Gruppen, obwohl beide Kompartimente bei leicht unterschiedlichen pH-Werten ein vergleichbares, erheblich negatives Redoxpotential aufweisen. (70, 79).

Die Disulfidgruppe, (die man sich aus der Oxidation zweier L-Cysteine vorstellen kann) spielt sowohl als kovalente Bindung mit anderen Proteinketten (intermolekular) als auch innerhalb einer einzelnen Proteinkette (intramolekular) eine grundlegende Rolle für die dreidimensionale Raumerfüllung, für die Sekundär-, Tertiär- und Quartär-Struktur und damit weitgehend auch für die Funktion. (79).

• 1.) Intermolekulare S-S-Bindungen tragen zur Bildung und Stabilisierung der Quartärstruktur bei, wie Beispiele zeigen: A- u. B-Ketten des Insulins, Antikörper, Chymotrypsin u.a. Der komplette Bindungsbruch an S-S-Brücken führt zum Verlust der dreidimensionalen Raumstruktur und oft zum Funktionsverlust des Proteins; (z.B. Ribonuklease, Desoxyribonuklease, Lysozym, Papain, Trypsin, Chymotrypsin u.a.). (79).

• 2.) Intramolekulare S-S-Bindungen, die zu „Molekülschleifen" führen, partizipieren an der Bildung und Stabilisierung der Sekundär- und Tertiär-Struktur, (z.B. Pankreatische Ribonuklease, Eierlysozym, Pepsin, Serumalbumin, A-Kette des Insulins, verschiedene Peptidhormone u.a.).

Thiol-Disulfid-Redoxsysteme sind weitestgehend an vielen Zellstrukturen und Enzymregulationen beteiligt. Im einzelnen, um nur einige zu nennen:

- Aufrechterhaltung eines reduktiven Milieus gegenüber Strukturprotein- und Enzymprotein-ständigen SH-Gruppen.
- Stabilisierung der durch Disulfidbrücken bedingten dreidimensionalen Raumstruktur.
- Hydrophile Wechselwirkungen.
- Mercaptal- und Hemimercaptalreaktionen.
- Transacylierung.
- Thiol- Disulfid-Austauschreaktion.
- Thiolestersynthese und Thiolhydrolyse-Reaktion.
- Metallsulfidbildung bzw. Metall-Thiolkomplexbildung u.a. (4, 70).

Eine moderne Sichtweise läßt in Kompartimenten lebender Systeme die nukleophilen SH-Gruppen als oszillierende dreidimensionale Topi definierter Feldstärken verstehen, während die Disulfidbrücken rel. starre struktur- und konformationstragende „Achsen" mit definierter Dipolnatur in einer fluktuierenden Redoxpotential-Dynamik eines multivalenten enzymkatalysierten Stoffwechsels darstellen.

V. 1 Zur Reaktivität der SH-Gruppe:

Protein-SH-Gruppen lassen sich in 3 Typen einteilen: (79)
1.) Schnell reagierende SH-Gruppen.
2.) Rel. langsam reagierende SH-Gruppen.
3.) „Maskierte" SH-Gruppen.

Die unter 1.) reagieren schnell, z.B. mit Nitroprussid und milden Oxidantien wie Ferricyanid, Porphyrinen und o-Jodosobenzoat. Die unter 2.) reagieren auch mit Nitroprussid, aber sonst nur mit stärkeren Oxidantien und mit Mercaptiol-bildenden Reagenzien, wie p-Mercuribenzoat und organischen Arsenverbindungen. Die unter 3.) reagieren nur nach partieller oder totaler Denaturierung unter Auflösung der Sekundär- und Tertiärstruktur. (79).

Die SH-Reaktivität nativer Proteine ist gewöhnlich schwächer als die einfacher Thiole (G-SH, Acetylcystein, L-Cystein, Alpha-Liponsäure) und erhöht sich mit zunehmender Denaturierung. Die Geschwindigkeitskonstanten tür Ficin, Papain, Cystein und ß-Mercaptoethylamin betragen 7,5; 6,5; o,43; und o,3 M^{-1} sec^{-1}. (79).
Die SH-Gruppe von Papain reagiert mit Cyanat ca. 3000 x langsamer als die SH-Gruppe des Cysteins. Natürlich spielt das pH-Milieu neben dem aktuellen Redoxpotential eine wichtige Rolle. (Tab.5)

SUBSTRAT bzw. ENZYM	10^3 x k (M^{-1} • sec^{-1})	
	pH 7,0	pH 8,5
Cysteine	3,2	45
Papain	2500	700
Hefe-Alkoholhydrogenase	32	10
Hefe-Glyceroaldehyd-3-Phosphat-Deh.	40	270
Laktatdehydrogenase	-	0,2

Tab.5: Geschwindigkeitskonstanten von Cystein und SH-Gruppen bestimmter Enzyme mit DL-alpha-Iodopropionsäure bei 25°C. Nach WALLENFELS und EISELE 1970 (78)

Im Vergleich zu dieser Tabelle sollen in der folgenden Tabelle Nr. 6 einige in der Biochemie wichtige Zeitbereiche angegeben werden. (Tab. 6)

Die intramolekularen SH-Gruppen-Interaktionen können außer der Funktion strukturgebender Schleifen („Zink-Finger" und Genregulation; Antikörperspezifität; Metallothioneinstrukturen; Hormonspezifitäten u.a.) auch z.B. Charge-Transfer-Complexe mit den Aminosäuren Tyrosin und Tryptophan bilden und sind in strukturgebende Wasserstoffbrücken eingeschaltet. (3, 37, 70, 74, 75).

Außerdem können SH-Gruppen mit Metallionen Chelatkomplexe für unterschiedliche biologische Funktionen bilden (Metallothioneine, Metalloenzyme, Detoxifikation und/oder Bevorratung von Metallen und Katalyse). Alle diese Regulationen vollziehen sich unter einem optimal eingestellten Säure-Basen

		Sekunden
Protonenübergang in H-Brücke	erfolgt innerhalb von	10^{-12}
Neutralisation ($H^+ + OH^-$)		10^{-11}
Ionenfluß durch Synapse		10^{-4}
Konformationsänderung in Proteinen und Membranen		$<10^{-3}$
Wasserstoffbrücke	zerfällt nach	$<10^{-9}$
AU		10^{-7}
Nucleotid Basenpaar GC		10^{-6}
Codon-Anticodon Komplex		$<10^{-3}$
Covalente Bindung		$>10^{-3}$
Enzymatische Katalyse	erfordert Mindestzeit von	$>10^{-5}$
RNA- und DNA-Polymerisation (pro Baustein)		$>10^{-3}$
Proteinbiosynthese (pro Aminosäure)		$>10^{-2}$
Zellteilung (E. coli)		10^{3}

Tab. 6: Zeitbereiche biochemischer Reaktionen nach M. EIGEN (6)

Haushalt, aber vor allem unter dem sich ständig dynamisch im Fließgleichgewicht einstellenden Redoxpotential über das G-SH ⇌ gemischte Disulfide ⇌ G-S-S-G - System. (70).

Für dieses System ist zunächst vordergründig wichtig für die aktuelle Glutathion-Gewebekonzentration die ausreichende Biosynthesekapazität über die beiden Enzyme:

1. γ-Glutamylcystein-Synthetase,
2. Glutathion-Synthetase, sowie die Bereitstellung der Aminosäuren: L-Glutamat, L-Cystein und Glycin als Präkursoren.

Danach ist grundlegend die Reduktionskapazität über die Glutathion-Reduktase und die Bereitstellung ausreichender Reduktionsäquivalente durch einen intakten Zellstoffwechsel.

Dieses System, das in der Zellgesamtregulation nur optimal funktioniert, wenn ein definierter Redoxgradient von G-SH : G-S-S-G wie ca. 400 :1 eingestellt ist, ist für die gesamte konzertierte Aktion aller SH-Gruppen-Enzyme und SH-Proteine, für Substratflüsse, Genregulation, DNA-Reparaturen, Proteinbiosynthese grundlegend und interagiert mit allen SH- und S-S-Bindungen sowie über Thiol-Disulfidaustausch-Reaktionen auf übergeordneter Ebene. Dieses System ist aber rel. anfällig gegenüber unterschiedlichen Noxen, "freien Radikalen", Xenobiotika u.a. (70).

V. 2 Die grundlegende Bedeutung des Glutathionsystems:

Im Zentrum der komplexen, konzertierten Aktion gegen aktivierte Sauerstoffstufen (ASS), gegen „freie" Radikale, gegen oxidativen Streß und damit gegen alle Erkrankungen, Intoxikationen mit Xenobiotika, gegen Strahlenschäden, vor allem aber auch bei Krebserkrankungen, steht die körpereigene Substanz, das Glutathion als reduziertes Glutathion (G-SH), die multifunktionelle Basis aller vitalen Zell-Leistungen, die wichtigste Grundlage der Lebens-, Anpassungs- und Arbeitsfähigkeit jeder Zelle.(Abb.8) (4, 70).

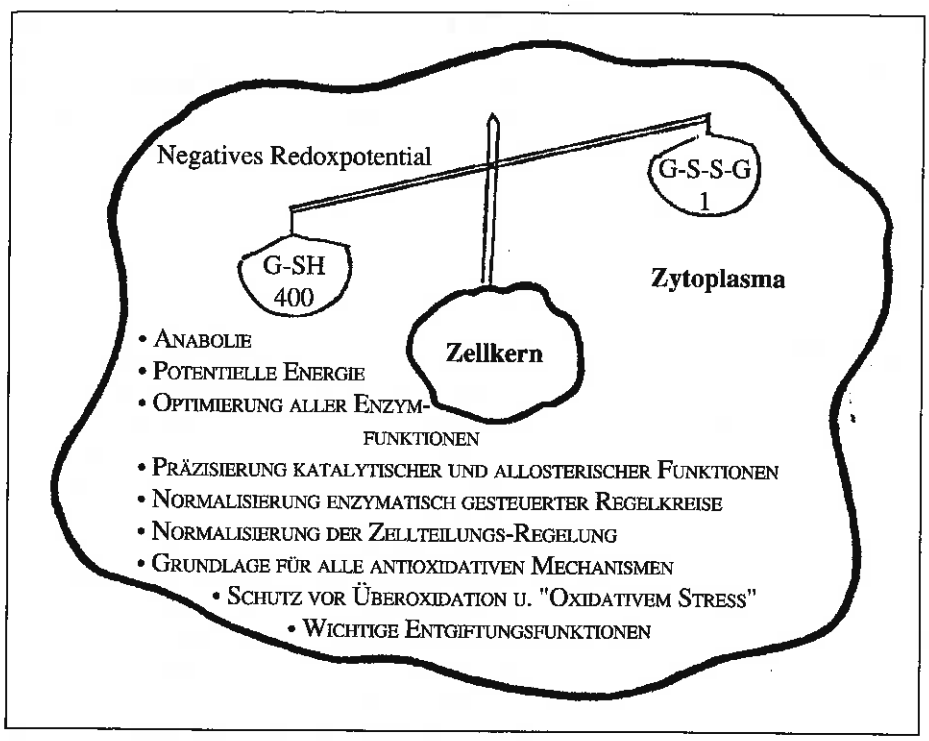


Abb.8: Biologische Funktionen des reduzierten Glutathion im Überblick

Viele pathobiochemische Phänomene können das für alle Zell-Leistungen so wichtige negative Redoxpotential, das durch rel. hohe Konzentrationen an G-SH aufrechterhalten wird, empfindlich und nachhaltig stören.

G-SH kann:

1.) Als Scavenger bei Zuständen von Hyperradikalie und oxidativem Steß verbraucht bzw. oxidiert werden.
2.) Nicht ausreichend de-novo biosynthetisiert werden.
3.) Aus Gründen von Enzymopathien und Stoffwechselstörungen nicht ausreichend reduziert werden.
(Oxidiertes Glutathion wird ja via Glutathion-Reduktase und Bereitstellung von NADPH zu G-SH reduziert, wobei die Reduktionsäquivalente entweder aus dem Pentosephosphatweg oder über Malatenzym und Isocitratdehydrogenase bereitgestellt werden).
4.) Als Konjugat- und Entgiftungsmolekül pharmakologisch, toxikologisch mit den Glutathion-S-Transferasen fungieren.
5.) In der oxidierten Form vermehrt aus dem intrazellulären Raum freigesetzt werden. (70).

Das reduzierte Glutathion (G-SH) ist für folgende Zell- und Lebensfunktionen von grundlegender Bedeutung:

A) Einstellung und Erhaltung eines optimalen intrazellulären Redoxpotentials für alle Zellen.
B) Optimale Arbeitsfähigkeit aller Enzymreaktionen, wodurch allein ein physiologischer Zellstoffwechsel garantiert wird.
C) Struktur-und Funktionsoptimierung durch zentrale Regulationsfunktion im G-SH und G-S-S-G - Metabolismus.
D) Funktionsoptimierung für strukturgebundene Enzyme, für Membran-Carriermechanismen, für Funktionen und allosterische Selektivität aller Zellrezeptoren.
E) Sicherung und Erhaltung einer pysiologischen Zellteilung und Proteinbiosynthese und damit Verhinderung maligner Zelltransformationen.
F) Regulation und/oder Regulationsnormalisierung der komplexen Raum-Zeitmuster aller Zellwachstums- und Zelldifferenzierungs-Prozesse auf genetischer und enzymatischer Ebene.
G) Verhinderung der allen Krankheiten zugrunde liegenden Lipidperoxidationen durch die zentrale Funktion im Redoxstoffwechsel und durch die unumgängliche Bereitstellung von Reduktionsäquivalen ten als wichtigste Funktionsvoraussetzung der Selen-abhängigen Glutathion-Peroxidasen.
H) Cofaktor und Reduktionspotential vieler Entgiftungsenzyme, so z.B. H,1) der Glutathionyl-S-Transferasen mit ihrer breiten überlappenden Substratspezifität für viele Xenobiotika, im einzelnen:
H,1.1) Glutathionyl-S-epoxidtransferasen,
H,1.2) Glutathionyl-S-aryltransferasen,
H,1.3) Glutathionyl-S-alkentransferasen.
H,2) Optimierung der mischfunktionellen Oxygenasen (4,70).
I) Entgiftung toxischer Schwermetalle durch Chelatbindung.
J) Funktionsbereitstellung von fast allen nicht-enzymatischen Scavengern durch Renaturierung ihrer antioxidativen Potenz; Verhinderung und Terminierung radikalischer Kettenreaktionen durch die zentrale Rolle des G-SH im gesamten oxidativen Stoffwechsel.
K) Durch die Ermöglichung einer breiten Entgiftungspalette vor allem kanzerogener Fremdstoffentgiftung, wodurch eine wesentliche Prävention von Krebserkrankungen möglich wird. (4, 70).

V. 3 Entgiftung durch Glutathion:

G-SH ist dreifach in die Biotransformation von Xenobiotika eingeschaltet:

I.) Spontane Bildung von Addukten mit elektrophilen Verbindungen, denn G-SH ist nukleophil.

II.) Adduktbildung unter Beteiligung einer G-SH-Transferase:

Weil die Substratspezifität von G-SH-Transferasen gering ist, können Fremdstoffe unterschiedlicher Molekularstrukturen und ihre Metaboliten mit Transferasen reagieren. Primäre Addukte werden in der Niere oder in der intestinalen Mukosa durch γ-Glutamyltransferasen weiter umgesetzt. Der Glycinanteil wird durch Peptidasen gespalten. Durch N-Acetylierung entsteht als Endprodukt Merkaptursäure. Merkaptursäuren sind gegenüber ihren Ausgangsprodukten stärker polar und werden deshalb leichter im Harn ausgeschieden.

Bei toxischen elektrophilen Verbindungen konkurriert die Koppelung an G-SH mit der kovalenten Bindung an andere Zellbestandteile, wie z.B. DNA, und wirkt somit häufig entgiftend.

III.) Reduktion von Peroxiden und organischen Peroxiden durch die G-SH-Peroxidasen unter Bildung des Disulfids G-S-S-G. (7-16, 70).

Durch das Glutathion-Redoxpotential (E = -0,23 V) und durch die physiologisch hohen Konzentrationen von G-SH in allen Zellen wird der Thiol-Disulfid-Status aller bioorganischen Moleküle, die Cysteinbausteine enthalten, regelnd beeinflußt. (4, 70).

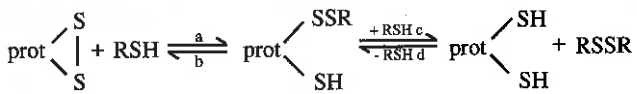
Die Thiol-Disufid-Austauschreaktion

$$R_1SH + R_2\text{-}S\text{-}S\text{-}R_2 \rightleftharpoons R_1S\text{-}SR_2 + R_2SH$$

ist nicht nur eine bekannte, relativ häufige und schnelle Reaktion, die auf der Reaktivität des Thiolat-Anions beruht, sie zeigt auch extrem deutlich den engen Zusammenhang zwischen Struktur und Funktion bzw. dreidimensionaler Raumerfüllung und selektiver Reaktionswahrscheinlichkeit.

Gemischte Disulfide können SH-Gruppen in Funktions- und Strukturproteinen maskieren und vor unerlaubten Oxidationen schützen, ohne eine tiefgreifende Konformationsänderung herbeizuführen. Proteingebundene Disulfide sind in Abhängigkeit von den umgebenden chemischen Gruppen weniger reaktiv und stabiler als Thiole, es sei denn stärkere Reaktionen oder spezifische Enzyme reagieren mit ihnen.
Zu solchen Disulfid-verändernden Reaktionsbedingungen gehören: Photolyse, "freie" Radikalreaktionen (elektrophile oder nukleophile Spaltung), aber auch höhere Konzentrationen an Thiolen mit stärker negativen Redoxpotentialen.

Das System



stellt nicht nur ein leicht verschiebbares und reversibles Redoxsystem für grundlegende intrazelluläre Regulationsprinzipien dar, sondern kann auch auf diese Weise wichtige Regulatorproteine schützen und sie quasi im „stand-by" in ihrer funktionellen Bestimmung belassen. (4, 7 -16, 70).
So bestimmen die physikochemischen Eigenschaften der Thiol/Disulfid-Redoxsysteme weitgehend die vielfältigen Reaktionen intrazellulärer Kompartimente,wie z.B:

- Aufrechterhaltung eines reduktiven Milieus gegenüber strukturprotein- und enzymprotein-ständigen SH-Gruppen.
- Stabilisierung der durch Disulfidbrücken bedingten Protein-Raumstrukturen; hydrophile Wechselwirkungen.
- Alkyl- und Arylsubstitution.
- Nukleophile Additionsreaktionen.
- Mercaptal- und Hemimercaptalreaktionen.
- Transacylierungen.
- Thiol-Disulfidaustauschreaktionen.
- Thiolestersynthesen und Thiolesterhydrolysereaktionen.
- Metallsulfidbildung bzw. Metall-Thiolkomplexbildung. (4, 70).

So gesehen gewinnt dieses „Redoxpotential-Verschiebesystem" eine wichtige Bedeutung - vor allem auch bei einer pathologischen Überflutung einzelner Kompartimente mit elektrophilen Aldehyden - in den Prozessen der Proteinfaltung, der dreidimensionalen Strukturoptimierung von Enzymen und ihren allosterischen Beeinflussungsmöglichkeiten und damit auch letzten Endes an allen Enzym- und Stoffwechselreaktionen der Zelle . (4, 70).

Zur Sicherstellung wichtiger Zellfunktionen stellt in allen Säugetierzellen neben proteingebundenen Thiolen (Enzyme mit Glutathion-Coenzymbeteiligung) G-SH den bedeutendsten Pool leicht verfügbarer SH-Gruppen dar. Neben der Neusynthese von Thiolen aus endogenen oder exogenen Präkursoren (Cystein, Methionin, Cysteinylglycin, Cystathion u.a.) kommt der enzymatischen und nicht-enzymatischen Thiolgeneration durch entsprechende Reduktionsäquivalente , die permanent im intakten Stoffwechsel anfallen (NADH, NADPH), eine bedeutende Rolle zur Aufrechterhaltung des intrazellulären Thiolstatus zu. Zur Abwehr aktivierter Sauerstoffstufen dienen Thiole als Cofaktoren (Sel.-abh. und Sel.unabh. Glutathion-Peroxidasen) oder als Bindungspartner für elektrophile organische Verbindungen und Radikale (G-SH-S-Transferasen) oder aber auch als Reaktionspartner in Redoxkaskaden mit α-Tokopherolen, Carotinoiden, Askorbinsäure und Flavonoiden.
Aufgrund ihres Redoxpotentials können Thiole zahlreiche Zellbestandteile und wichtige bioorganische Moleküle reduzieren bzw. im reduzierten Zustand halten, z.B. Enzyme, Struktur- und Transportproteine, Peptide, Aminosäuren, Chinone u.a.

Thiole partizipieren an Radikalreaktionen und addieren sich kovalent an α- und ß-ungesättigten Carbonylgruppen. Sie autoxidieren in Gegenwart von Katalysatoren, wie z.B. Metallionen oder Metallkomplexen, rel. leicht. Eine solche Autoxidation wird vom pH, vom Sauerstoffpartialdruck und von der chemischen Natur des Thiols bestimmt. Auch ohne Katalysatoren reagieren freie Thiole leicht mit Wasserstoffperoxid und mit Aldehyden. Ihre Photooxidierbarkeit in wässrigen Lösungen verläuft über die durch Radiolyse gebildeten Sauerstoffradikale. Eine strahlungsinduzierte Bildung „freier" Radikale in Gegenwart von Sauerstoff und deren modifizierende und/oder denaturierende Wirkung auf Lipide, Enzyme oder DNA kann durch freie Thiole antagonisiert werden. G-SH und andere Thiole reagieren mit „freien" Radikalen unter Bildung von Thiyl-Radikalen, die in Diradikalreaktionen zu G-S-S-G umgewandelt und so auch neutralisiert werden. Sie reagieren jedoch auch leicht mit anderen Nukleophilen. (7- 16, 68 -70, 78).

Der Anteil der S-S-Bindung zur Strukturstabilität von Proteinmolekülen ist von Molekül zu Molekül wechselnd. In den meisten Fällen jedoch hat die S-S-Bindung wichtige konformative Aufgaben für den biologischen Auftrag eines Moleküls, seien es Enzyme, Hormone, Immunglobuline oder Struktur- oder Transportproteine.

Allerdings können S-S-Bindungen dynamische Aufgaben erfüllen, z.B. inaktiven Zentren oxidativer Enzyme (Lipoamid-Dehydrogenase u.a.). Die S-S-Bindung solcher Enzyme nehmen Teil am Elektronen- und Protonentransfer von Substrat zum Akzeptor mit Tendenzen oszillierender Umkehrreaktionen.

Nirgendwo in lebenden Systemen ist Struktur, Funktion und

Information; strukturchemische und biophysikalische Problemorientierung; gebundene potentielle Energie; Werden und Vergehen; Regulation und Dysregulation; resonatorische Stabilität und System-Kippfähigkeit enger verknüpft, als in dem Redoxsystem:

bzw. dem interferierenden übergeordneten Redoxschwingkreis:

im Hinblick auf die beiden lebenserhaltenden, lebensspendenden und lebenszerstörenden Prinzipien - Reduktion-Oxidation - bzw. Nukleophilie-Elektrophilie.

VI. Quantenmechanische Betrachtungen zur chemischen Reaktivität:

Reaktivitätsindices und Reaktivitätstopi innerhalb unterschiedlich oszillierender Atomgruppen in einem Molekül unterliegen wegen der extrem statischen Betrachtung von Molekularstrukturen und den extrem kurzen und unterschiedlich schnell ablaufenden 1-Elektronen-Übergängen (radikalischen, paramagnetischen Übergängen) als primäre Wahrscheinlichkeitswellen hin zur meßbaren Begrenzung im Teilchencharakter, trotz Näherungsversuche an eine vorübergehende molekulare Wirklichkeit, erheblichen Quantenunsicherheiten. (37).

Möglicherweise sind alle chemischen Reaktionen 1-Elektronenübergänge, da ja gerade das paramagnetische Moment des Elektroneneigenspins den Charakter des eigentlichen Quantensprunges ausmacht, und für die Komplexität des Stoffwechsels biologischer Systeme ist ein solches Phänomen des Austretens aus mehrdimensionalen Hilperträumen und der Verwandlung einer Wahrscheinlichkeitswelle zum vorübergehend meßbaren Korpuskel, die vermeintliche Wirklichkeit des biologischen Seins im Werden zu vergehen. (37)
Sie begründet auch - „Seinsgemäß" und thermodynamisch die Irreversibilität der Zeitachse im Werden und Vergehen lebender Strukturen. Eine „grandiose" Dialektik; alles zu sein und nichts zu werden, sowie alles zu werden und nichts zu sein.-

In grober Näherung lassen sich die Möglichkeiten eines Stoffes ja als Bereitschaft von Molekülen zu Wechselwirkungen mit verschiedenen Partnern unter verschiedenen Bedingungen darstellen und verstehen.

So möge die Elektronendichte q_r (1.)

$$q_r = \sum_i n_i c_{ir}^2$$

Aussagen über die bevorzugten Angriffsorte von polaren Reagenzien ermöglichen, denn Angriffe von Nukleophilen (oder Elektrophilen) sollten an Orten niedrigster (oder höchster) Elektronendichte erfolgen. (17, 74).
Auch könnte für eine Serie von Verbindungen die Reaktionsgeschwindigkeit eines nukleophilen Angriffs mit der Zunahme des Wertes der Elektronendichte des Reaktionszentrums fallen, bzw. bei einem elektrophilen Angriff wachsen.

Ein Maß für die Festigkeit kovalenter Bindungen könnte die Bindungsordnung p_{rs} (2.) sein (17, 74),

$$p_{rs} = \sum_i n_i c_{ir} C_{is}$$

die die Elektronenaufenthalts-Wahrscheinlichkeit zwischen benachbarten Zentren angibt.

Diese Festigkeit könnte der homolytischen Bindungsdissoziations-Energie proportional sein und möglicherweise mit ihren höchsten Werten die Bindungen im π -System eines Moleküls angeben, welche elektrophile Additionen rel. leicht ermöglichen. (17, 74).

(3.) Molekulare Reaktivitäten gegenüber Radikalen könnten auch mit der freien Valenz F_r korrelieren.

$$F_r = \sqrt{3} - \sum_s p_{rs}$$

Diese Größe wäre dann die Differenz zwischen der Summe, der von einem Topus, von einem Zentrum ausgehenden maximal möglichen Bindungsordnungen und der Summe der „tatsächlich" realisierten Bindungsordnungen, die für ein π-System sich der obigen Formel nähern würden. (17, 74).

Denn je höher die freie Valenz eines Topus, eines Zentrums, umso stärker besteht die Tendenz, daß die Elektronendichte für Wechselwirkungen „nach aussen", also für intermolekulare Wechselwirkungen zu Verfügung steht.

(4.) Geht man davon aus, daß im Atom als wesentlich für elektronische Veränderungen chemischer Reaktionen, die im Energieschema des Atoms als besetzte AO die höchste und als unbesetzte AO die tiefste Energielage haben (- diese AO gehören in den ersten drei Perioden dann jeweils zu der gleichen Hauptquantenzahl -) kann man analog dazu in Molekülen das höchste besetzte Molekülorbital (HOMO) und das tiefste unbesetzte Molekülorbital (LUMO) als die Valenzorbitale des Moleküls ansehen. Man spricht in der Literatur auch von Grenzorbitalen (frontier orbitals; FO). (17, 74).

Bei Wechselwirkung eines Moleküls mit einem Akzeptor wird die Reaktions-Bereitschaft davon abhängen, wie leicht es ein Elektron bzw. auch ein Elektronenpaar zur Verfügung stellen kann. Die Donorfähigkeit eines Moleküls ist umso höher, je

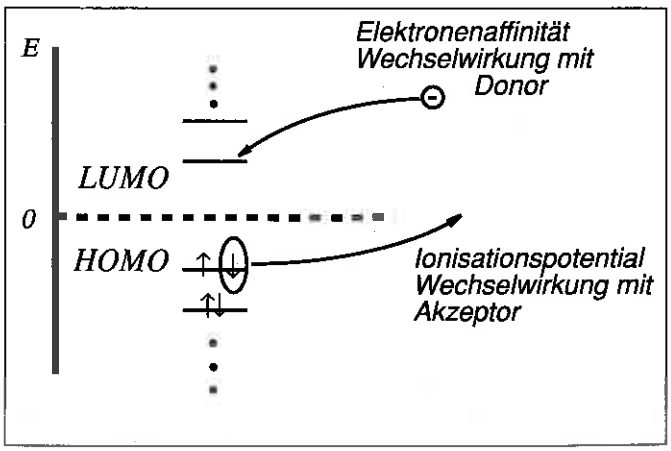


Abb. 9: Bedeutung der Grenzorbitale, nach G. HEUBLEIN (17)

höher sein HOMO liegt, denn es besteht eine rel. gute Korrelation der Lage des HOMO mit den Ionisationspotentialen, (Abb.9) den Oxidationspotentialen, und den Wellenzahlen der Charge-transfer-Banden von EDA-Komplexen bei gegebenem Akzeptor.

Bei Wechselwirkung eines Moleküls mit einem Donor hängt die Reaktivität von seiner Bereitschaft ab, ein Elektron bzw. ein Elektronenpaar aufzunehmen, das bedeutet von der Energie seines LUMO. Die Akzeptorfähigkeit des Moleküls wird umso höher sein, je niedriger sein LUMO liegt, denn entsprechend korreliert auch die Energie der LUMO mit den Elektronen-affinitäten, (Abb.9), den Reduktionshalbstufenpotentialen und Wellenzahlen der Charge-transfer-Banden von EDA-Komplexen bei gegbenem Donor. (17, 74).

VII. Radikalische Beeinflussungen von Enzymstrukturen und Enzymfunktionen:

Neben dem aus sehr unterschiedlichen Gründen entstehenden „oxidativen Streß" in vivo, sind in der Literatur viele Radikaleerzeugende in vitro Systeme, die zu Protein- und/oder Enzymveränderungen und Enzyminaktivierungen führen, beschrieben. Tabelle Nr. 7 zeigt die verwendeten Systeme zur radikalisch induzierten Proteinmodifikation auf. (75, 76, 81).

No.	System
1.	NAD(P)H oxidase/NAD(P)H/O_2/Fe(III)
2.	Xanthine oxidase/xanthine/Fe(III)/O_2
3.	P450/P450 reductase/Fe(III)/NADPH/O_2
4.	P450 cam/putida redoxin/redoxin reductase/NADH/O_2
5.	Ascorbate/Fe(III)/O_2
6.	Ascorbate/Cu(II)/O_2
7.	Ascorbate/Fe(III)/O_2/EDTA
8.	Fe(II)/O_2
9.	Fe(II)/H_2O_2
10.	Cu(II)/H_2O_2
11.	Myeloperoxidase
12.	Peroxidase/ferredoxin/H_2O_2
13.	Glucose oxidase/ferredoxin/glucose/O_2
14.	Peroxidized lipids/Cu(II)O_2
15.	Peroxidized lipids/Fe(III)O_2
16.	RSH/O_2/Fe(III)
17.	Microsomes/O_2/NADPH
18.	Microsomes/O_2/Fe(III)/EDTA
19.	Hemin/RSH/O_2
20.	H_2O_2 (metal assumed to be present)
21.	Horseradish peroxidase/O_2/glucose/glucose oxidase

Tab. 7: Systeme, die eine Proteinveränderung katalysieren, nach E.R. STADTMAN (78)

In der folgenden Tabelle Nr. 8 sind die Enzyme aufgelistet, ihre Herkunft und die beobachteten Veränderungen, die durch definierte radikal-erzeugende Systeme inaktiviert wurden.
Im Hinblick auf die Fe^{II}-Bindung an Metall-bindende Enzymregionen kommt es zu Fe^{II}-Enzymkomplexen (oder auch zu Cu^{I}-Komplexen), die mit Peroxiden unter Bildung von OH- -Radikalen reagieren.

Protein	Source	A	B
Acetyl CoA hydrolase	Rat liver	5,6	a
Acetylcholine esterase	Horse serum	6	a
Albumin	Bovine serum	1	a
Albumin	Bovine serum	14,15	i,l
Albumin	Bovine serum	5,7,8	c
Alkaline phosphatase	Bovine kidney	6	a
Alcohol dehydrogenase	Yeast	1,3	a
Alcohol dehydrogenase	Horse liver micro-	17,18	a
Carbamoyl-P synthetase	Rabbit liver some	5	a,c
Catalase		6	a
Chymotrypsin	Bovine pancreas	21	b
Chymotrypsinogen	Bovine pancreas	8	c
Creatine kinase	Rabbit muscle	1,3	i, l
Crystallins	Bovine lens	5,6	i,j,d,h
Crystallins	Bovine lens	8	j
Enolase	Yeast	1,3,5	a,l,c
Fructose-1,6-biphosphatase	Yeast	1,7	a,c
Glucose-6-P dehydrogenase	Bovine adrenals	7	a,c,f
Glucose-6-P dehydrogenase	Rat liver micro-	17	a
Glutamine synthetase	E. coli somes	1,2,3,4 12,13,16	a,b,c,d f,i,l
Glutamine synthetase	Rat liver	1,3	a,c
Glutamine synthetase	N. crassa	5,9	a
Glutamine synthetase	A. crococum	9	a
Glutamic dehydrogenase	N. crassa	7	a
Glyceraldehyde dehydrogenase	Rabbit muscle	1,3	a,l
Glyceraldehyde-3-P acyltransferase	Liver microsomes	14,15	a
Hexokinase	Rabbit reticulocytes	5	a
Heme binding protein	Rabbit serum	19	i
Lactic dehydrogenase	Rabbit muscle	1,3,5	a
Lactoperoxidase	Bovine	20	a
Leucyl-t-RNA synthetase	Rat liver	5,7	a,f,k
Lysozyme	Egg white	5,8	a,c
Mucus glycoprotein	Overian cysts	10	i,g,b
Myelin			
Myoglobin	Whale	19	i
Myosin	Muscle	10	b,i,g
Ornithine decarboxylase	Rat heart	2	a
6-Phosphogluconate dehydrogenase	Rat liver	5	a
Phosphoglucomutase	Rabbit muscle	1,5	a
Phosphoglycerate kinase	Yeast	1,3,5	a,c,f,l
Phosvitin	Hen yolk	8	c
α-1-Proteinase inhibitor	Human plasma	2,7,11	a,e
Pyruvate dehydrogenase	Rabbit muscle	1,3,5,6	a
Superoxide dismutase	Bovine erythrocytes	20	a,b
Ribonuclease A	Bovine pancreas	1,7,8	a,c
Ribonuclease B	Bovine pancreas	1,7,8	a,c
Tyrosyl-t-RNA-synthetase	Rat liver	5	a,f

A = Radical-Generating System: The numbers refer to the MCO systems listed in Table 1.
B = Observed Modification. The letters refer to the following types of modification: (a) loss of catalytic activity; (b) amino acid modification; (c) carbonyl group formation; (d) increase in acidity; (e) conversion of methionine residues to methionine sulfoxide residues; (f) decrease in thermal stability; (g) charge in viscosity; (h) change in fluorescense; (i) fragmentation; (j) formation of preotein-protein cross-links; (k) formation of S-S-bridges; (l) increase in proteolytic susceptibility.

Tab. 8: Proteine, die durch Metallionen-katalysierte Reaktionen verändert wurden, nach E.R. STADTMAN (78)

Bestimmte Aminosäuren (L-Cystein, L-Histidin) im aktiven Zentrum von Enzymen scheinen bevorzugte Angriffsorte für radikalische Reaktionen zu sein, wie auch an der Glutathion-Synthetase gezeigt werden konnte. (78).

An vielen Aminosäuren kommt es zu Metallionen-katalysierten radikalischen Modifikationen, wie Tabelle Nr. 9 zeigt.

Protein	Carbonyl Groups Formed nmol/mg Protein	
	- EDTA	+ EDTA
Glutamine synthetase	13.9	2.7
Glucose-6-P dehydrogenase	30.0	75.0
RNA´ase - A	1.0	6.5
Lysozyme	1.5	3.9
Collagen (calf skin)	8.0	19.0
Bovine serum albumin	0	26.6

Reaction mixture contained: phosphate buffer, 50 mM; KCl, 90 mM; $MgCl_2$, 10 mM; ascorbate, 25 mM; Fe(III),100 µM; 1.0 mg Protein/mL; and, where indicated, 1.0 mM EDTA. After gentle shaking in air for 30 min at 30°C, the carbonyl content was measured.

Tab. 9: Beeinflussung der Protein-Oxidation durch EDTA, nach E.R. STADTMAN (78)

Die dabei und bei dem Phänomen der Lipidperoxidation entstehenden α-ß-ungesättigten Alkenale bilden, wie bereits besprochen, stabile kovalente Thiolether mit funktionell wichtigen SH-Gruppen und/oder Schiff´sche Basen mit Aminogruppen von Proteinen oder Purin- und Pyrimidinbasen unter Struktur- und Funktions-Deletion. Der Malondialdehyd induziert "cross-links" an helikalen Strukturen, an DNA- und Bindegewebshelices. (5, 9, 78).

Pathobiochemisch besonders kritisch sind die durch permanente Hyperglykämie beim Diabetes entstehenden Amadorikörper, Endiole und radikalischen Folgereaktionen.

Radikalisch veränderte Proteine und Peptide unterliegen einer bis zu 50 x schnelleren enzymatischen Desaggregation durch peptische Enzyme, wie Trypsin, Chymotrypsin, Subtilisin, Cathepsin D und Calpain.

Während alle Aminosäuren einer radikalischen Veränderung unterliegen können, führen die durch energiereiche Strahlen ($>10^3$ eV) initiierten Radikalreaktionen bevorzugt zu Veränderungen an den essentiellen Aminosäuren: Tyrosin, Phenylalanin, Tryptophan und Methionin sowie an den nicht-essentiellen Histidin und Cystein. Die Metallionen-induzierten Aminosäureveränderungen verlaufen bevorzugt ab an Histidin, Prolin, Arginin, Cystein, Lysin und seltener an Methionin. (5, 9, 78).

Von besonderer pathobiochemischer Konsequenz sind die L-Cysteinveränderungen nicht nur für die über Glutathion ablaufende Redoxregulation aller intrazellulärer Enzyme, sondern auch wegen der Zerstörung der Metallothioneine, intrazelluläre Proteine mit einem mindestens 30 %-igen Cysteinanteil, die sowohl die Bevorratung essentieller Spurenelemente als auch die Detoxifikation toxischer Schwermetalle bewirken.

VIII. Epikrise:

Lebende Systeme sind die am stärksten komplexen Systeme dieses Planeten. Komplex, nicht-linear, zur Zukunft hin immer schicksalhaft offen, indeterminiert, indeterminierbar, fern vom thermodynamischen Gleichgewicht.

Die in diesen Systemen ablaufenden ordnungsbildenden und ordnungserhaltenden Prozesse werden durch die Biologische Oxidation gemäß dem II. thermodynamischen Hauptsatz für eine Individuallebensspanne aufrecht erhalten. (37, 45).

Radikal-Reaktionen, Radikal-Kettenreaktionen, Reaktionen elektrophiler Verbindungen, wie Aldehyde aus unterschiedlichen Quellen, aktivierte Sauerstoffstufen, Halogene, Enzymopathien und Enzymopenien antioxidativer Enzyme (SOD, CAT, GS, GR, GPx, G-6-PDH u.a.), Quantenunsicherheiten führen zu Struktur- und Regulationsänderungen im Zellstoffwechsel und an subzellulären Strukturen durch Bindungsbrüche, Enzymkonformationsänderungen, Aldehydaddukte, „cross-links", Thiolether mit SH-Gruppen und vor allem zum Zusammenbruch der Redoxgrund-Regulation, die durch das Glutathionsystem für die Konformation fast aller Proteine (Genregulationen, Reparaturenzyme, Proteinfunktionen im weitersten Sinne) gewährleistet wird. (37, 70).

Alle diese einer dynamischen Ordnung lebender Systeme entgegensteuernden Mechanismen sprechen für die Theorie der « Selbstorganisierten Kritizität » (SK) in diesen Systemen. (1). Nach der Theorie der SK entwickeln sich viele zusammengesetzte Systeme von selbst zu einem Zustand hin, in dem bereits ein unscheinbares Ereignis eine Kettenreaktion auslösen kann, die beliebig viele Elemente eines Systems beeinflussen können, besonders wenn es sich um heterogen aufgebaute bzw. heterogen zusammengesetzte Systeme handelt. (1, 37).
Obwohl in komplexen Systemen öfter auch lokal begrenzte Ereignisse Katastrophen induzieren, so sind dennoch Kettenreaktionen jeden Ausmaßes ein integraler Bestandteil ihrer Dynamik.
Vor allem, da ja komplex zusammengesetzte Systeme, wie alle lebenden Systeme sich nie im Gleichgewicht befinden, sondern von einem metastabilen Zustand hin sich zum nächsten bewegen. (1, 37).

Komplexen Systemen ist systemimmanent das 1/f - Rauschen (Flackerrauschen), was anzeigt, daß die oszillierende Dynamik des Systems stark durch vergangene Ereignisse (physische und psychische Stigmata) beeinflußt wird, dagegen läßt „weißes Rauschen" als reines Zufallssignal erkennen, daß zwischen gegenwärtigen und vergangenen Ereignissen keinerlei Beziehungen bestehen. (1).

Flackerrauschen entsteht durch Überlagerung von Signalen unterschiedlicher Größenordnungen und unterschiedlicher Zeitdauer, die immer im kritischen Zustand eines Systems auftreten, dann, wenn ein System Kettenreaktionen aller Größenordnungen und Zeitbereiche ermöglicht. (1).

Vielleicht könnte man Fraktale als „Schnappschüsse" von selbstorganisierten kritischen Prozessen ansehen? Danach wären «Fraktale Strukturen » und Flackerrauschen räumliche und / oder zeitliche Manifestationen selbstorganisierter Kritizität. (1).

In chaotischen Systemen wächst ja eine kleine Ungenauigkeit, eine kleine energetische Anregung exponentiell mit der Zeit an. Möchte man eine Vorhersage in die Zukunft hinein ausdehnen, dann nimmt die erforderliche Menge an Information über die Ausgangsbedingungen exponentiell zu und macht eine Langzeitprognose nicht möglich. (1).

In einem wesentlichen Punkt unterscheiden sich schwaches und voll entwickeltes Chaos, nämlich darin, daß chaotische Systeme durch eine bestimmte Zeitspanne charakterisiert sind, über die hinaus keinerlei Prognosen möglich sind, während es bei schwach chaotischen Systemen keinen derartigen Vorhersagehorizont der Langzeitprognosen verhindern würde, gibt. (1).
Da alle selbstorganisierten kritischen Systeme sich als schwach chaotisch erwiesen haben, könnte man annehmen, daß das schwache Chaos in der Natur weiter verbreitet zu sein scheint.

Wie die in dieser Arbeit aufgezeigten systemimmanenten Störungen und Quantenunsicherheiten zeigen, scheint die Komplextlät einer globalen Systemdynamik in enger Beziehung zu ihrer Kritizität zu stehen. Möglicherweise sind die Theorien der Komplexität und der Kritizität in ihrer Wurzel äquivalent. (1).

Leben ist eine regel-, anpassungs- aber auch „kipp"-bereite schicksalhafte Gratwanderung und die Komplexität lebender Systeme ist untrennbar mit der permanent oszillierenden Existenz kritischer Zustände gekoppelt. -
" Sein oder Nichtsein...?!"

Literatur beim Verfasser

Anschrift für die Verfasser:
Dr. Gerhard Ohlenschläger
Hauptstraße 22
6240 Königstein/Ts.

Die in dieser Zeitschrift veröffentlichten Beiträge sind urheberrechtlich geschützt. Das gilt auch für diese Sonderbeilage. Alle Rechte, insbesondere das der Übersetzung in fremde Sprachen oder des Nachdruckes, sind vorbehalten. Kein Teil dieser Zeitschrift darf (abgesehen von den Ausnahmefällen der §§ 53, 54 UrhG, die unter den darin genannten Voraussetzungen zur Vergütung verpflichten) ohne schriftliche Genehmigung des Verlages in irgendeiner Form - durch Fotokopie, Mikrofilm oder andere Verfahren - reproduziert oder in eine von Maschinen, insbesondere von Datenverarbeitungsanlagen, verwendbare Sprache übertragen werden. Jede im Bereich eines gewerblichen Unternehmens hergestellte oder benützte Kopie dient gewerblichen Zwecken und verpflichtet gem. § 54 (2) UrhG zur Zahlung einer Vergütung.