HELMUT SIES, WILHELM STAHL,
LARS-OLIVER KLOTZ und PETER BRENNEISEN

Oxidativer Stress: vom molekularen Mechanismus zur Klinik

Oxidativer Stress – Einleitung

Aerobe Stoffwechselvorgänge, photobiologische Effekte, körpereigene Abwehrprozesse und exogene Noxen führen zur Bildung von reaktiven Sauerstoffspezies (ROS) im Organismus.[1] Zu diesen reaktiven Intermediaten zählen freie Radikale wie das Superoxidradikalanion, Peroxylradikale, das Nitroxyl- und das Hydroxylradikal, aber auch nichtradikalische Verbindungen wie Singulettsauerstoff, Wasserstoffperoxid oder Peroxynitrit. Zellmembranen, DNA und Proteine sind Zielstrukturen der ROS. Sie werden in Oxidationsreaktion modifiziert und in ihrer Funktion beeinträchtigt. Oxidative Veränderungen an biologisch bedeutsamen Makromolekülen spielen eine Rolle in der Pathogenese zahlreicher Krankheiten; so beispielsweise bei Krebs, Herz-Kreislauf- und neurodegenerativen Erkrankungen, Diabetes mellitus oder Katarakt.[2] Über längere Zeiträume akkumulierte oxidative Schäden führen zu Funktionseinschränkungen der Zelle und werden als Schlüsselprozesse des Alterns angesehen. ROS werden aber auch gezielt vom Organismus synthetisiert. Auf Grund ihrer Reaktivität eignen sie sich zur Zerstörung eindringender Mikroorganismen und werden von Zellen des Immunsystems gebildet und freigesetzt. Stickstoffmonoxid ist zentraler Bestandteil von Signalkaskaden.

Der unkontrollierten Bildung von ROS steht ein Netzwerk antioxidativer Verteidigungssysteme gegenüber. Die Verteidigungsstrategie des Organismus gegen Oxidantien ist vielfältig und auf mehreren Ebenen organisiert: Prävention, Interzeption und Reparatur. Es ist zu unterscheiden zwischen niedermolekularen Stoffen und antioxidativ wirksamen Enzymsystemen, die spezielle Aufgaben wahrnehmen und sich in ihrer Wirkung ergänzen. Erstere haben als herausragende Vertreter antioxidativ wirksame Vitamine, z. B. Ascorbat (Vitamin C) und Tocopherole (Vitamin E), sowie sekundäre Pflanzenstoffe wie Carotinoide (β-Carotin, Lycopin, Zeaxanthin, Lutein usw.), Flavonoide und Anthocyane. Außerdem zählen Spurenelemente wie Selen und Zink dazu, die als Bestandteile von Proteinen in Form spezieller Aminosäuren (Selenocystein, Selenomethionin) bzw. als Strukturkomponenten (Zinkfinger, Zink-Metallothionein) von Bedeutung sind. Glutathion als spezielles Tripeptid wird in praktisch allen Zelltypen als Redoxmetabolit verwendet, synthetisiert aus den Aminosäuren Cystein, Glycin und Glutamat.

Der Terminus „Oxidativer Stress“ beschreibt eine Stoffwechsellage, die durch eine Auslenkung des Fließgleichgewichts zwischen Oxidantien auf der einen Seite und dem Netzwerk der antioxidativen Verteidigung auf der anderen Seite zugunsten der Oxidantien charakterisiert ist. Geringfügige Auslenkungen im Rahmen eines Normbereiches sind

[1] Vgl. Sies (1986).
[2] Vgl. Sies (1997).

als „physiologischer oxidativer Stress“ bezeichnet worden, während stärkere Auslenkungen zu Adaptationsprozessen, z. B. zur Induktion antioxidativ wirksamer Enzyme oder zu Prozessen wie Apoptose oder Nekrose führen.

Unter Berücksichtigung des Bildungsmechanismus und abhängig von der beteiligten reaktiven Sauerstoffspezies kann eine fokussierte Definition vorgenommen werden. Man spricht dann von nitrosativem, photooxidativem oder ernährungsabhängigem oxidativen Stress.

Ein aktueller Schwerpunkt der biochemischen und medizinischen Forschung auf dem Gebiet des oxidativen Stresses betrifft Fragen der Krankheitsprävention.[3] Grundlage ist der Gedanke, dass Antioxidantien der Schädigung durch Oxidantien entgegenwirken bzw. diese verhindern können.[4] Die Prävention zielt vornehmlich auf Langzeitprozesse, die in der Pathogenese degenerativer Erkrankungen bedeutsam sind und physiologisch auch im Prozess des Alterns ablaufen. Die bisher vorliegenden Ergebnisse sind widersprüchlich, es deutet sich jedoch an, dass zur Prävention das gesamte antioxidative Netzwerk gestärkt werden muss. Die Supplementierung mit Einzelsubstanzen ist vermutlich nicht ausreichend.

Um eine sinnvolle Beurteilung der Bedeutung prooxidativer Prozesse in der Pathogenese degenerativer Erkrankungen vorzunehmen, ist die Messung von Parametern des oxidativen Stresses am Menschen erforderlich. Dies sollte vorzugsweise mit nicht invasiven Methoden geschehen. Die Analyse von Komponenten in Körperflüssigkeiten, etwa die Messung der Schädigung von Proteinen, DNA und Lipiden, sowie die Verfolgung der Plasmaspiegel von Antioxidantien und so genannten Biomarkern dient der Einschätzung oxidativer Schädigungen. Von besonderem biochemischem Interesse ist die Erkenntnis, dass ROS zentrale Signaltransduktionskaskaden in den Zellen beeinflussen.[5] Über Signalketten von phosphorylierenden Enzymen (MAP-Kinase-Kaskaden) wird die Expression zahlreicher Gene gesteuert, die proliferative oder apoptotische Ereignisse vermitteln.

Das Gebiet des oxidativen Stresses hat sich zu einer interdisziplinären Forschungsrichtung entwickelt, in der sowohl die molekularen Mechanismen oxidativer Schädigungen als auch deren klinische Bedeutung untersucht werden. An dieser Stelle sei darauf hingewiesen, dass der Begriff insbesondere in der Laienpresse überstrapaziert wird. In welchem Umfang oxidative Schädigungen ursächlich, d.h. auslösend, an Krankheiten beteiligt sind, wird weiterhin zu untersuchen sein. Sicher ist, dass bei praktisch allen degenerativen Erkrankungen oxidative Reaktionen im Rahmen der Zellschädigung zu beobachten sind; ob dies die Folge oder die Ursache des initialen auslösenden Prozesses ist, bleibt zu klären.

Oxidativer Stress – Signaltransduktion

Eine zentrale Frage betrifft die Wahrnehmung von kurzlebigen ROS als zelluläres Signal, das dann als Auslöser für die genannten regulatorischen Prozesse dient. Spezifische Rezeptoren, wie sie für Hormone oder Neurotransmitter existieren, deren Wirkung sie vermitteln, existieren für ROS nicht. Ausnahme ist das Stickstoffmonoxid (NO), dessen Bindung an die Hämgruppe der löslichen Guanylatzyklase die Bildung von cGMP stimuliert. Im Falle der ROS und ihrer Signaleffekte muss vielmehr von „Zielstrukturen“ gesprochen

[3] Vgl. Sies (2003).
[4] Vgl. Sies *et al*. (1998).
[5] Vgl. Sen *et al*. (2000).

werden, die durch ROS oxidiert werden, wobei Produkte entstehen, die wiederum Signalwirkung in der Zelle entfalten.[6] Beispiele hierfür sind oxidative DNA-Schäden, die von der Zelle erkannt werden, zur Aktivierung von Signalwegen führen und eine Reparatur oder einen Wachstumsstopp zur Folge haben. Auch Produkte der Lipidperoxidation, wie 4-Hydroxynonenal oder Malondialdehyd, aktivieren zelluläre Signalkaskaden.

Oxidantien wirken zudem direkt auf Signalproteine ein, deren Oxidation zu Funktionsveränderungen führt. Beispiele für solche Proteine sind Tyrosinphosphatasen. Im aktiven Zentrum aller bisher bekannten Tyrosinphosphatasen befindet sich ein oxidationsempfindlicher Cysteinrest, der für die Enzymaktivität unerlässlich ist. Oxidation und Inaktivierung dieser Phosphatasen führen zu einer gesteigerten Phosphorylierung der durch die Enzyme regulierten Substrate. Solche Substrate sind Rezeptortyrosinkinasen, die somit nach Belastung von Zellen mit Oxidantien phosphoryliert und aktiviert werden. Der Mechanismus der Aktivierung der Rezeptortyrosinkinasen und nachgeschalteter Signalwege durch Oxidantien ist also die Oxidation und Hemmung eines negativen Regulators, einer Phosphatase.[7]

Chinone werden in der Chemotherapie von Krebserkrankungen eingesetzt. In der Zelle induzieren Chinone oxidativen Stress; so genanntes *Redox Cycling* führt zur Bildung von Superoxidradikalanionen und anderen ROS. Über Alkylierungsreaktionen werden zusätzlich zelluläre Thiole blockiert und die antioxidative Kapazität der Zelle gesenkt. Die Belastung von Leberepithelzellen mit Menadion und anderen Chinonen führt zur Aktivierung des Rezeptors für den epidermalen Wachstumsfaktor (EGFR), die sich als gesteigerte Tyrosinphosphorylierung in der Zellmembran ablesen lässt (Abb. 1) und weiter zur Aktivierung der extrazellulär regulierten Kinasen (ERK) 1 und 2 führt (Abb. 2). Als Mechanismus der Aktivierung des EGFR konnte die Hemmung einer Tyrosinphosphatase nachgewiesen werden, die den EGFR reguliert. Dieser Signalweg wird auch durch andere Chinone[8] oder ROS[9] beeinflusst. Der Aktivierung von ERK 1 und ERK 2 folgen in der Regel Stimulation von Zellwachstum und Proliferation, die für die Modulation des Zellzyklus und eine gesteigerte Genexpression verantwortlich ist.

Eine besondere Art der Anpassung von Zellen an die Belastung mit Stressfaktoren erfolgt auf Ebene der Kopplung von belasteten Zellen mit den direkten, unbelasteten Nachbarzellen, die über so genannte *Gap Junctions* erfolgt. Connexine, die Bausteine der *Gap Junctions*, wurden als Zielstrukturen von ERK 1 und ERK 2 beschrieben. *Gap Junctions* sind Ansammlungen von Zell-Zell-Kanälen, die aus je zwei von benachbarten Zellen bereitgestellten Halbkanälen bestehen, die wiederum aus je sechs Connexinen aufgebaut sind. Über diese Kanäle kommunizieren benachbarte Zellen im Sinne des Austauschs elektrischer Signale und niedermolekularer (< 1 kDa) Substanzen, wie cAMP oder Calciumionen. Die Phosphorylierung der Connexine führt in der Regel zur Abnahme der interzellulären Kommunikation über *Gap Junctions*.

Auch bei der Behandlung von Leberepithelzellen mit Menadion und anderen Chinonen wird dieser Effekt beobachtet. Aktivierung von ERK durch Menadion führt zur Phosphorylierung des Connexin 43 und zur Abnahme der Zell-Zell-Kommunikation über *Gap Junctions* (Abb. 2). Dies lässt sich im Sinne eines zellulären Schutzmechanismus interpre-

---

[6] Vgl. Klotz (2002).
[7] Vgl. Abdelmohsen *et al*. (2003) und Klotz *et al*. (2002).
[8] Vgl. Abdelmohsen *et al*. (2003).
[9] Vgl. Klotz *et al*. (2000).

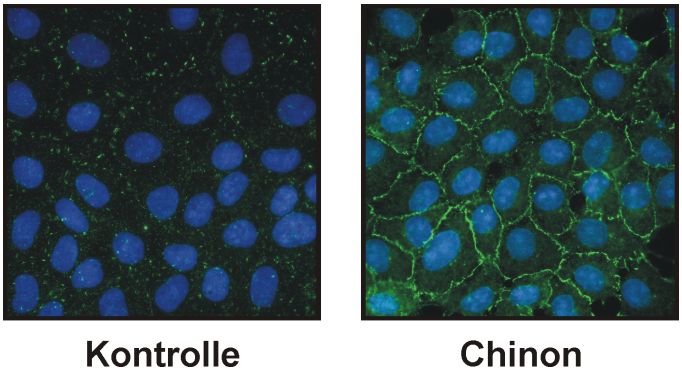

Abb. 1: Gesteigerte Tyrosinphosphorylierung (grün) in der Zellmembran von Rattenleberepithelzellen nach Stimulation mit Chinonen (Menadion 50 μM) als Hinweis auf die Aktivierung des Rezeptors des epidermalen Wachstumsfaktors. Die Zellkerne sind blau angefärbt.

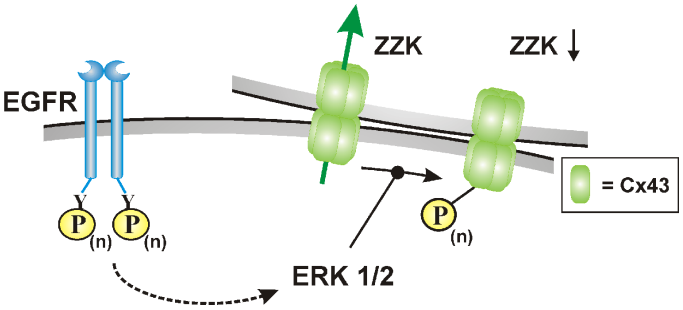

Abb. 2: Aktivierung des Rezeptors des epidermalen Wachstumsfaktors (EGFR) führt zur Stimulation der extrazellulär regulierten Kinasen (ERK) 1 und 2, die durch Phosphorylierung von Connexinen (hier: Cx43) zur Abnahme der Zell-Zell-Kommunikation (ZZK) über *Gap Junctions* beitragen.

tieren. Unterbrechen der Kommunikation schützt die unbelastete Nachbarzelle vor dem toxischen Agens (Menadion) und vor toxischen Abbauprodukten aus dem Metabolismus der sterbenden Zelle.

Nitrosativer Stress

Zur Gruppe der reaktiven Sauerstoff- und Stickstoffverbindungen wird auch das freie Radikal Stickstoffmonoxid (NO) gezählt. Das Molekül hat zahlreiche spezifische biologische Aufgaben und wird durch NO-Synthasen (NOS) im Organismus gebildet. NO-Synthasen katalysieren aus L-Arginin und molekularem Sauerstoff die Bildung von NO und L-Citrullin. Die Familie der NO-Synthasen besteht aus vier Mitgliedern, die sich bezüglich ihrer zellulären Expression und molekularen Regulation erheblich voneinander unterscheiden.

Die beiden konstitutiv exprimierten Isoformen (cNOS) erfüllen primär Signalfunktionen, z. B. im Endothel (eNOS) oder in Neuronen (nNOS), während die dritte induzierbare Isoform (iNOS) erst nach inflammatorischen Stimuli exprimiert wird.

Bei Entzündungsreaktionen wird NO im Körper lokal in großen Mengen durch die iNOS synthetisiert; man spricht dann von „nitrosativem Stress“. Im Gegensatz zu vielen anderen Radikalen ist NO relativ langlebig und nicht sehr reaktionsfreudig. Bei höheren NO-Konzentrationen können als NO_x zusammengefasste höhere Stickoxide, wie z. B. NO_2 und N_2O_3, entstehen. Diese Verbindungen haben ein wesentlich breiteres Reaktionsspektrum als NO und reagieren z. B. mit Thiolgruppen in Cysteinresten (Abb. 3).

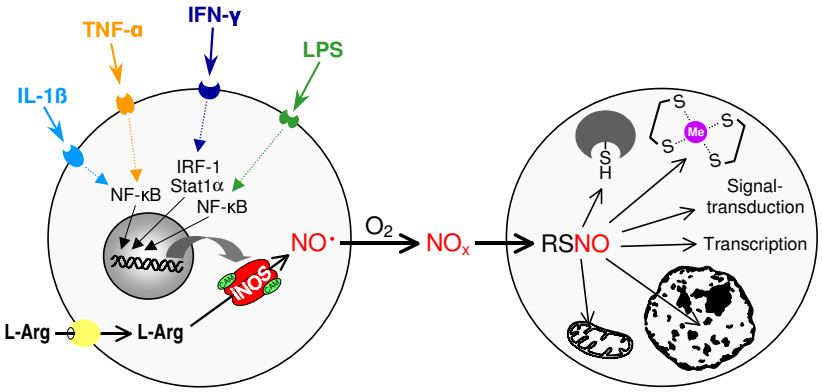

Abb. 3: Bei Entzündungsreaktionen werden Zytokine freigesetzt, die über Rezeptoren intrazelluläre Signalwege auslösen. Die Aktivierung von Transkriptionsfaktoren bewirkt eine Expression der iNOS. Gebildetes NO diffundiert aus der Zelle und kann mit Sauerstoff zu höheren Stickoxiden (NO_x) reagieren. S-Nitrosothiole (RSNO) reichen NO intrazellulär weiter und vermitteln die Hemmung SH-abhängiger Enzyme sowie die Freisetzung von Metallen aus Metall-Schwefel-Komplexen. Darüber hinaus wirken sie auf Signaltransduktion und Transkription ein, blockieren die mitochondriale Atmung und können die DNA schädigen.

Zielmoleküle in Zellen bei nitrosativem Stress sind Proteine mit SH-Gruppen sowie Proteine, die Metallionen wie Eisen, Zink oder Kupfer über Schwefelatome komplexieren. Durch nitrosativen Stress können Signalübertragungswege oder die Expression von Genen beeinflusst werden.

Die iNOS-Aktivierung kann zur Infektabwehr durch Zellen des Immunsystems wie Makrophagen oder neutrophile Granulozyten dienen. Heute kennt man akute oder chronische Erkrankungen des Menschen, bei denen die iNOS exprimiert wird. Beispiele sind Autoimmunerkrankungen (rheumatoide Arthritis, multiple Sklerose, Typ-I-Diabetes) oder neurodegenerative Erkrankungen (Alzheimer, Parkinson), Erkrankungen der Atemwege (Asthma), Entzündungen des Gastrointestinaltraktes (Colitis, Morbus Crohn) oder der Haut (Psoriasis, Lupus Erythematosus, Sonnenbrand), Herzinfarkt und Schlaganfall, Zahnfleischentzündung, Abstoßungsreaktionen nach Transplantationen sowie eine Reihe

von Krebserkrankungen.[10] Die eigentliche Rolle von NO und iNOS in Pathogenese und Ausprägung dieser Erkrankungen ist nur teilweise verstanden. So scheint die iNOS-Aktivität beim Typ-I-Diabetes sowie bei neuronalen Erkrankungen bei der Gewebsschädigung mitzuwirken, während in der Haut – z. B. beim Sonnenbrand – eher ein präventiver Effekt im Vordergrund steht.[11]

Um die Bedeutung von nitrosativem Stress bei entzündlichen Reaktionen besser verstehen zu können und eventuell auch Therapien zu entwickeln, müssen die chemischen Reaktionen in der Zelle verstanden werden. Eine wichtige Zielgruppe von Molekülen nach nitrosativem und auch nach oxidativem Stress sind Transkriptionsfaktoren, Proteine, die auf bestimmte Signale hin an spezifische DNA-Abschnitte binden und die Transkription steuern. Das häufigste Strukturelement für DNA-Bindungsdomänen sind so genannte Zinkfinger mit einem Zinkion, das von Schwefelatomen des Cysteins oder auch von Stickstoffatomen des Histidins komplexiert wird. Unter nitrosativem Stress kommt es zur Bildung von S-Nitrosothiolen und nachfolgend zu einer Freisetzung des Zinkions, was wiederum zu einer Konformationsänderung des Proteins führt (Abb. 4).

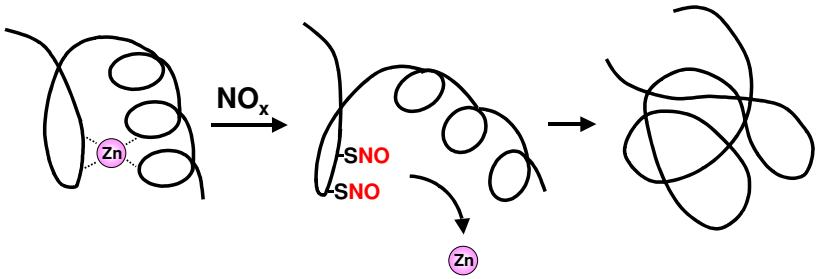

Abb. 4: NO setzt Zinkionen aus Zinkfingerstrukturen frei. Nach S-Nitrosierung von Cysteinen in Zinkfingern kann das Zinkion nicht mehr komplexiert werden. Eine Änderung der Proteinkonformation und der Funktion des Proteins ist die Folge.

Auf diese Weise kann die Bindungsfähigkeit von Transkriptionsfaktoren an die DNA beeinflusst werden, was zu einer veränderten Genexpression führen kann. Oxidativer Stress führt ebenfalls zur Zerstörung von Zinkfingerstrukturen. Im Gegensatz zu Modifikationen infolge nitrosativen Stresses, können Zellen diese Schäden jedoch nicht mehr reparieren.[12] Eine iNOS-Aktivität kann auch zur Störung der Zink-Homöostase führen, da vermehrt intrazelluläres Zn^{2+} freigesetzt wird.[13]

NO in der Psoriasis

Die Psoriasis als chronische entzündliche Hauterkrankung ist durch lokales epidermales Zellwachstum charakterisiert. Die molekularen Mediatoren, die zur Hyperproliferation der Keratinozyten führen, sind noch weitgehend unbekannt. Als Mediator von Proliferation

[10] Vgl. Kröncke *et al*. (2000).
[11] Vgl. Suschek *et al*. (2001).
[12] Vgl. Kröncke *et al*. (2002).
[13] Vgl. Spahl *et al*. (2003).

und Differenzierung könnte NO eine Schlüsselrolle bei der Wachstumsregulation in der Psoriasis einnehmen. NO hemmt die Proliferation und induziert die Differenzierung. In der Psoriasis jedoch führt die iNOS-Expression zu keinem antiproliferativen Effekt auf die Keratinozyten. Im Gegenteil: Die Psoriasis ist durch eine Hyperproliferation der epidermalen Keratinozyten gekennzeichnet.

Eine mögliche Erklärung für dieses Paradoxon könnte eine erniedrigte NO-Synthese in psoriatischen Läsionen sein, die nicht ausreicht, um einen antiproliferativen Effekt zu erzielen.[14] Die Regulation der iNOS-Expression erfolgt im Wesentlichen auf der transkriptionellen Ebene, während die iNOS-Aktivität vor allem von der intrazellulären Konzentration und Verfügbarkeit von L-Arginin abhängt. Die L-Arginin-Aufnahme in Hautzellen wird durch kationische Aminosäuretransporter (CAT) reguliert.[15] Expressionsanalysen haben gezeigt, dass sowohl die konstitutive Isoform CAT-1 als auch der induzierbare Transporter CAT-2 in psoriatischen Hautläsionen exprimiert werden. Damit ist eine fehlende zelluläre L-Argininaufnahme als limitierender Faktor der NO-Synthese bei der Psoriasis auszuschließen. Niedrige intrazelluläre NO-Konzentrationen können aber auch als Folge einer Aktivität anderer L-Arginin metabolisierender Enzyme, wie z. B. der Arginase, entstehen. Normalerweise wird die Balance zwischen iNOS und Arginasen durch Zytokine des TH1- und TH2-Typs invers reguliert: TH1-Zytokine induzieren die iNOS und reprimieren die Arginasen, während umgekehrt TH2-Zytokine die Arginasen induzieren und die iNOS-Expression hemmen. In der Entzündungsreaktion erfolgt die iNOS- bzw. die Arginase-Expression sequenziell durch ein Umschalten von einer TH1- zu einer TH2-Reaktion. Überraschenderweise ist im entzündlichen TH1-Milieu der Psoriasis die Arginase-1 überexprimiert, begleitet von einer Ko-Expression der iNOS.[16] L-Arginin kann also von psoriatischen Keratinozyten auf zwei verschiedenen Wegen metabolisiert werden, was zu einer Substratkompetition führt (Abb. 5).

Diese Ergebnisse weisen der Arginase-1 eine neue Bedeutung in der Pathogenese der Psoriasis zu, da sie die NO-Synthese *in vivo* limitiert. Weiterhin kommt es durch die Arginase-Aktivität zu einer erhöhten Synthese von L-Ornithin, das essenziell für die Polyaminsynthese ist und damit die Hyperproliferation begünstigt. Die Psoriasis ist somit eine Hautentzündung, in der die NO-Synthese ungewöhnlich niedrig ist. Möglicherweise trägt eine unzureichende iNOS-Aktivität in psoriatischer Haut zu einer unkontrollierten chronischen Immunantwort bei, da eine erhöhte NO-Synthese einen Schutz vor starken Immunreaktionen darstellt.

Photooxidativer Stress

Neben vielen positiven Effekten des Sonnenlichts auf unsere Gesundheit birgt die darin enthaltene UV-Strahlung ein Risiko. In Abhängigkeit von der Wellenlänge dringt ein erheblicher Teil der UV-Strahlung in unterschiedliche Hautschichten (Abb. 6). Die kurzwellige, energiereiche UV-B-Strahlung gelangt bis in die oberen Schichten der Dermis und kann zum einen die Zellen der Epidermis, die Keratinozyten und Melanozyten, und zum anderen die Fibroblasten und Endothelzellen der Dermis schädigen. Die energieär-

[14] Vgl. Suschek *et al*. (im Druck).
[15] Vgl. Schnorr *et al*. (2003).
[16] Vgl. Bruch-Gerharz *et al*. (2003).

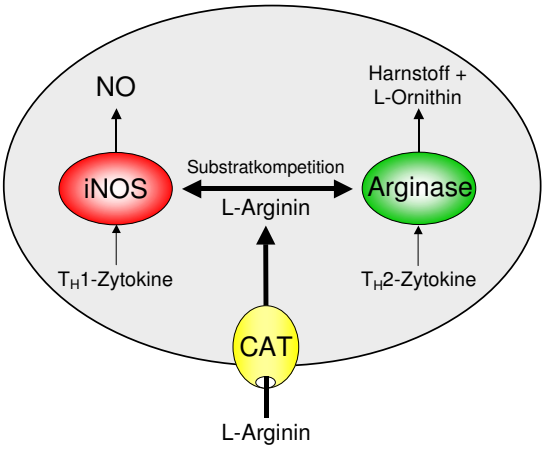

Abb. 5: Substratkompetition zwischen iNOS und Arginase. Eine Überexpression der Arginase-1 in psoriatischen Keratinozyten führt zu einer Substratkompetition mit der iNOS um L-Arginin und limitiert die Synthese von NO.

mere UV-A-Strahlung erreicht auch tiefer liegendes dermales und zum Teil subkutanes Gewebe.

Die Absorption der UV-Strahlung in der Haut erfolgt durch endogene Chromophore, was zu unterschiedlich angeregten Zuständen des jeweiligen Chomophors führt. Derartige photochemische Veränderungen äußern sich beispielsweise an der DNA mit der Bildung von Pyrimidindimeren nach UV-B-Bestrahlung.[17] Als weitere Folge dieser komplexen Wechselwirkungen mit zellulären Strukturen ist die Bildung von reaktiven Sauerstoffspezies bedeutsam, die in unphysiologisch hohen Konzentrationen als Folge hoher UV-Dosen oder chronischer UV-Exposition zu oxidativem Stress der Zellen führen.[18] Photooxidativer Stress führt neben der Schädigung von zellulären Makromolekülen auch zur Aktivierung von Signaltransduktionskaskaden, deren Ablauf das Schicksal der Zelle bestimmt und die bei pathophysiologischen Prozessen der Haut eine Rolle spielen. Von besonderem Interesse sind molekulare Mechanismen, die sowohl der frühzeitigen Alterung der Haut (Photoalterung) als auch der Progression von UV-ausgelösten Hauttumoren zu Grunde liegen.

Bei der photogealterten Haut unterscheidet man den teleangiektatischen, atrophen Phänotyp von der hypertrophen Variante, die klinisch gekennzeichnet ist durch ausgeprägte Elastose, tiefe Faltenbildung und ein ledriges Erscheinungsbild, gekoppelt mit verminderter Rückstellkraft, Elastizität und verschlechterter Wundheilung. Photoalterung der Haut ist ein komplexer Prozess, der verschiedene Hautschichten beeinflusst, wobei dem dermalen Bindegewebe eine zentrale Rolle zuzuweisen ist. Residente Fibroblasten, die durch die Expression spezifischer Gene den Aufbau und Abbau der vielfältigen Komponenten der extrazellulären Matrix regulieren, verändern sich durch UV-Strahlung von einem auf-

[17] Vgl. Brenneisen *et al*. (2000).
[18] Vgl. Brenneisen *et al*. (1998).

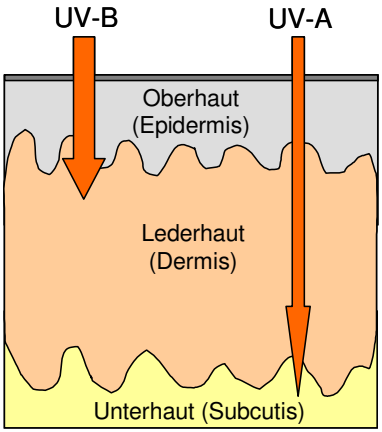

Abb. 6: Eindringtiefe der UV-Strahlung in die Haut.

bauenden, synthetisierenden Phänotyp zu einem degradativen, proteolytischen Phänotyp, der große Mengen an proteolytischen Proteinen, wie z. B. die Matrix abbauenden Metalloproteinasen (MMP), herstellt und diese in den Extrazellulärraum abgibt. Die Familie der MMPs umfasst Kollagenasen, Stromelysine, Gelatinasen und membranassoziierte Metalloproteinasen mit verschiedener Substratspezifität, die abhängig von der Wellenlänge induziert werden. Dies führt zu einem Ungleichgewicht zwischen MMPs und ihren spezifischen Gewebeinhibitoren (TIMPs, *tissue inhibitors of MMPs*) zugunsten der MMPs. Infolge des Ungleichgewichts erfolgt ein verstärkter Abbau von Komponenten der extrazellulären Matrix, was letztlich die Photoalterung bedingt. Durch UV-Strahlung generierte ROS aktivieren mitogen- und stressabhängige Proteinkinasen und nachfolgend Transkriptionsfaktoren, die die Induktion der entsprechenden MMPs fördern. Hervorzuheben ist dabei der Transkriptionsfaktor AP-1.[19]

Eine chronische UV-Exposition verbunden mit oxidativem Stress wird auch im Zusammenhang mit der Inzidenz von Hautkrebs gesehen (Abb. 7). Basaliome, Plattenepithelkarzinome und Melanome entstehen durch neoplastische Transformation der epidermalen Keratinozyten bzw. Melanozyten. Diese Entwicklung ist ein Mehrstufenprozess (Initiation, Promotion und Progression), dem genetische und epigenetische Veränderungen zu Grunde liegen und der eine Störung der zellulären Homöostase mit sich bringt. Die Homöostase wird durch drei Kommunikationsprozesse aufrechterhalten. Neben der extra- und intrazellulären spielt die direkte Zell-Zell-Kommunikation (ZZK) über *Gap Junctions* eine wesentliche Rolle. Störungen dieser Kommunikationsprozesse fördern die Krebsentwicklung.

Die molekularen Mechanismen, die einer Steigerung oder Verminderung der interzellulären Kommunikation während der Tumor-Stroma-Interaktion zu Grunde liegen, sind bisher nur unzureichend untersucht. Eine Verminderung der metastatischen Aktivität der Tumorzellen durch Aufrechterhaltung der Zell-Zell-Kommunikation der stromalen Zel-

[19] Vgl. Brenneisen *et al*. (2002).

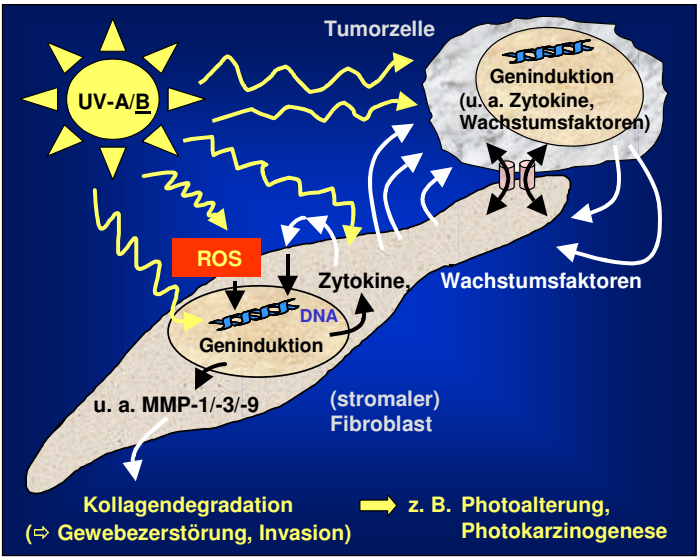

Abb. 7: UV-Effekte und die Folgen.

len mittels Mikronährstoffen ist eine Möglichkeit der Kontrolle. In diesem Zusammenhang wurde gezeigt, dass neben einer gestörten (heterologen) ZZK zwischen stromalen Fibroblasten und Tumorzellen die (homologe) ZZK zwischen den Fibroblasten mittels eines parakrin wirkenden, von den Tumorzellen sezernierten Faktors signifikant vermindert wird,[20] der als der transformierende Wachstumsfaktor-beta 1 (TGF-β1) identifiziert wurde.[21] Eine Vorinkubation der stromalen Zellen mit Natriumselenit oder dem antioxidativ wirkenden N-Acetylcystein erhält die ZZK zwischen den stromalen Zellen, was für eine Beteiligung von reaktiven Sauerstoffverbindungen in der Tumor-Stroma-Interaktion spricht.

Photoprotektion durch Antioxidantien

Sonnenbrand, vorzeitige Hautalterung sowie ein erhöhtes Risiko für Hauttumoren sind die Folgen übermäßiger Sonnenexposition; auch photoallergische und phototoxische Reaktionen werden beobachtet. Photooxidative Prozesse spielen vermutlich eine zentrale Rolle in der Pathogenese, daher liegt es nahe, Antioxidantien in der Photoprotektion zu verwenden. Neben topischer Applikation kommt auch die endogene Anwendung von antioxidativen Mikronährstoffen in Frage, obwohl deren Wirksamkeit noch kontrovers diskutiert wird.[22]

Die meisten oralen Sonnenschutzmittel enthalten als wirksamen Bestandteil β-Carotin, oft in Kombination mit anderen Antioxidantien wie Vitamin E. Bisher vorliegende Untersuchungen am Menschen zur photoprotektiven Wirkung von β-Carotin und analogen

[20] Vgl. Stuhlmann *et al*. (2003).
[21] Vgl. Stuhlmann *et al*. (2004).
[22] Vgl. Sies und Stahl (2004).

Verbindungen beziehen sich auf die Verhinderung oder Abmilderung des Sonnenbrands (*Erythema solare*) und auf die akute Reaktion der Haut auf die Einwirkung ultravioletter Strahlung (insbesondere UV-B-Strahlung). Die Studien zur Verwendung von β-Carotin im endogenen Sonnenschutz zeigen, dass nach einer Einnahme von 15 bis 30 mg pro Tag über einen Zeitraum von etwa zehn bis zwölf Wochen Schutzeffekte erzielt werden können.[23] Im Gegensatz zu topischen Sonnenschutzmitteln (z. B. Sonnencreme) kann durch Supplementierung mit β-Carotin nur ein moderater Lichtschutz erzielt werden. Die Vorteile liegen jedoch in einem permanent vorhandenen Schutz, der alle Hautbereiche abdeckt. Die Einnahme von β-Carotin erhöht den Grundschutz der Haut. Dies ist aber keinesfalls ausreichend, um einen Schutz bei starker Sonnenexposition zu gewährleisten. Hier sind zusätzliche Schutzmaßnahmen erforderlich.

Unter Erhalt der schützenden Effekte kann β-Carotin in den Präparaten zumindest teilweise durch andere Carotinoide ersetzt werden.[24] Mit einer Kombination von Lycopin, Lutein und β-Carotin, in Dosen von 8 mg pro Tag von jeder Einzelverbindung, wurde die gleiche Wirkung erzielt wie mit 24 mg β-Carotin pro Tag allein. Auch mit Lycopinpräparaten aus synthetischen und natürlichen Quellen wurden Untersuchungen zur Photoprotektion am Menschen durchgeführt.[25] Nach Gabe von Lycopin im Dosisbereich von 8 bis 10 mg pro Tag über einen Zeitraum von zwölf Wochen war die Ausprägung des Erythems nach UV-Exposition im Vergleich zum Ausgangswert vermindert. Die Effekte waren unter Supplementierung mit Lycopin aus natürlichen Quellen ausgeprägter, was auf zusätzliche Inhaltsstoffe, wie z. B. Phytoen oder Phytofluen, zurückgeführt wird.

Sonnenschutzeffekte kann man auch durch den Verzehr carotinoidreicher Nahrung erzielen. Zur Untersuchung der photoprotektiven Wirkung von Lycopin wurde als lycopinreiche Nahrungsquelle Tomatenpaste verwendet.[26] Nach dem Verzehr von 40 g Tomatenpaste pro Tag über einen Zeitraum von zehn Wochen (tägliche Lycopinzufuhr von etwa 16 mg) war ein deutlicher Anstieg des Carotinoids im Serum zu verzeichnen; auch der Carotinoidgehalt der Haut war erhöht. Die Intensität des UV-induzierten Erythems wurde vermindert. Das Ausmaß des erzielten Effekts war dem einer Supplementierung mit β-Carotin vergleichbar. Es ist also möglich, mit Nahrungsmitteln Sonnenschutz zu betreiben. Als Mechanismus der Schutzwirkung werden die antioxidativen Effekte der Carotinoide angesehen.[27]

Flavonoide als antioxidative Mikronährstoffe

Zu den Nahrungsfaktoren mit antioxidativer Wirkung gehören auch Polyphenole, darunter die Gruppe der Flavonoide, denen unter anderem protektive Wirkungen bei Herz-Kreislauf-Erkrankungen zugeschrieben werden. Wichtige Quellen für Flavonoide sind roter Traubensaft und Rotwein, grüner und schwarzer Tee, Kakao und Schokolade, diverse Obstarten und Fruchtsäfte sowie grüne Pflanzenteile und Zwiebeln. Auf Grund ihrer Struktur sind Flavonoide in der Lage, ROS abzufangen und Metallionen zu komplexieren. Neben diesem klassischen Wirkprofil zeigen Polyphenole auch inhibitorische Effekte auf

[23] Vgl. Sies und Stahl (2004) sowie Heinrich *et al.* (2003).
[24] Vgl. Heinrich *et al.* (2003).
[25] Vgl. Aust *et al.* (im Druck).
[26] Vgl. Stahl *et al.* (2001).
[27] Vgl. Sies und Stahl (2004).

prooxidative Enzyme wie Lipoxygenasen, Myeloperoxidase, induzierbare NO-Synthase, NADPH-Oxidase und Xanthinoxidase.

Epicatechin und andere Flavonoide hemmen dosisabhängig rekombinante menschliche 5-Lipoxygenase.[28] Die 5-Lipoxygenase ist das Schlüsselenzym der Biosynthese der Leukotriene, einer wichtigen Gruppe von Entzündungsmediatoren, die bei verschiedenen Erkrankungen eine Rolle spielen (Abb. 8). Der Verzehr flavanolreicher Schokolade führt zur Senkung des Plasmaspiegels an Leukotrienen. Auch andere Lipoxygenasen des Säugerorganismus, darunter die 15-Lipoxygenase-1, werden durch Flavonoide gehemmt.[29]

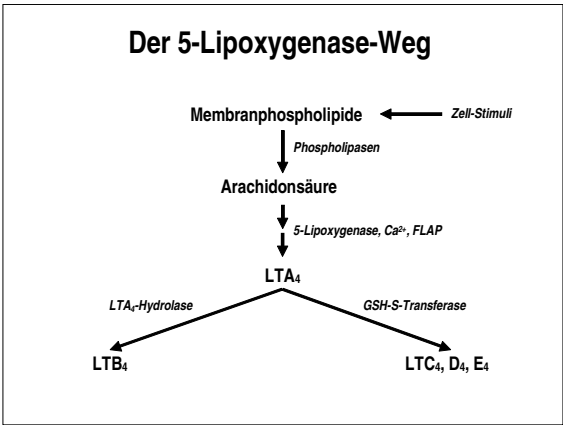

Abb. 8: 5-Lipoxygenase in der Leukotrienbiosynthese.

Die Myeloperoxidase (MPO) spielt eine Rolle bei der Infektabwehr. Mittels der durch dieses Enzym gebildeten reaktiven Verbindungen töten die phagozytierenden Leukozyten und Makrophagen pathogene Mikroorganismen ab. Die MPO modifiziert jedoch auch das *Low-Density*-Lipoprotein (LDL) des Plasmas oxidativ, wodurch dieses in eine die Arteriosklerose fördernde Form umgewandelt wird. Bemerkenswerterweise reagiert die MPO in Gegenwart von Wasserstoffperoxid nicht nur mit Chlorid unter Bildung von Hypochlorit, sondern auch mit Nitrit, das dabei in das stark oxidierende und nitrierende NO_2-Radikal umgewandelt wird. Dadurch ist eine Verbindung der MPO mit dem Stoffwechsel des Stickstoffmonoxids (NO) und den reaktiven Stickstoffspezies gegeben. Untersuchungen zur MPO-vermittelten Lipidperoxidation im LDL zeigen, dass diese maßgeblich von der Gegenwart von Nitrit abhängt; die Reaktion wird durch Flavonoide in mikromolaren Konzentrationen unterdrückt.[30]

Epicatechin hemmt die Nitrierung von Tyrosinresten im LDL durch das MPO-/Nitritsystem sowie durch Peroxynitrit. Außerdem hemmen Epicatechin und oligomere Flavanole des Kakaos (Procyanidine) die durch Kupferionen katalysierte Oxidation des LDL. Damit erweisen sich die Flavanole als Schutzstoffe für das LDL, woraus eine die Arterioskleroseentwicklung hemmende Wirkung abgeleitet werden kann.

[28] Vgl. Schewe *et al.* (2002).
[29] Vgl. Schewe *et al.* (2001).
[30] Vgl. Kostyuk *et al.* (2003).

Flavonoide in der Prävention

Epidemiologische Studien haben gezeigt, dass eine gesteigerte Aufnahme von Flavanolen mit einem geringeren Risiko verbunden ist, an einer Herz-Kreislauf-Erkrankung zu erkranken. Kardiovaskuläre Risikofaktoren wie Bluthochdruck, Diabetes, Rauchen und hohe Blutfettwerte sind korreliert mit Schädigungen der Endothelzellen der Gefäßwände. Als wichtiger Parameter bei der Entstehung einer Gefäßverkalkung gilt die endotheliale Dysfunktion, definiert als eingeschränkte Weitstellung der Leitungsarterien bei physiologischen Reizen. In Kooperation mit Univ.-Prof. Dr. Kelm von der Klinik für Kardiologie, Angiologie und Pulmologie wurden Studien durchgeführt, um den Einfluss von Flavanolen aus Kakao auf den Stickstoffmonoxidstoffwechsel und eine bestehende endotheliale Dysfunktion zu charakterisieren. Probanden mit kardiovaskulären Risikofaktoren wurde ein flavanolreicher Kakao verabreicht. Der Flavanolgehalt dieses Kakaos entsprach mit 176 mg Flavanol pro 100 ml etwa dem eines Liters Rotwein. Der Grad der endothelialen Dysfunktion wurde mittels hoch auflösenden Ultraschalls bestimmt. Hierzu wurde zunächst der Durchmesser der *Arteria brachialis* im Ellenbeugenbereich bestimmt. Nach fünfminütiger Ischämie des distalen Unterarms durch Aufblasen einer Blutdruckmanschette wurde eine Flusssteigerung im zuführenden Leitungsgefäß, der *Arteria brachialis*, ausgelöst. Damit geht am Endothel eine gesteigerte NO-Synthese einher, die die darunter liegenden glatten Gefäßmuskelzellen relaxiert. Die Durchmessersteigerung wird als *Flow-mediated Dilation* (FMD) bezeichnet. Die Messung der FMD stellt ein etabliertes Verfahren zur nicht invasiven Quantifizierung der Endothelfunktion dar. Aus Plasmaproben wurden die oxidativen Abbauprodukte des Stickstoffmonoxids (NO), Nitrit und Nitrat, sowie bioaktives an Plasmaproteine gebundenes NO (RNO) bestimmt.

In einer Pilotstudie mit sechs Personen, die mit mindestens einem kardiovaskulären Risikofaktor belastet waren, ergab sich, dass die einmalige Aufnahme von 100 ml flavanolreichem Kakao zu einer signifikanten reversiblen Verdoppelung der FMD mit einem Maximum zwei Stunden nach Aufnahme eines flavanolreichen Kakaos führt. In einer zweiten, randomisierten Doppelblindstudie im *Crossover*-Design zeigte sich bei weiteren 20 Probanden, dass der Verzehr von 100 ml eines flavanolreichen, nicht aber 100 ml eines normalen Kakaos (Flavanolgehalt < 10 mg pro 100 ml) zu einer Verdopplung der FMD und der RNO-Konzentration im Plasma zwei Stunden nach der Aufnahme führt.[31] Durch die systemische Inhibition der endothelialen Isoform der NO-Synthase mittels Infusion von L-NMMA (L-N^G-Monomethylarginin), einem kompetitiven Inhibitor, konnte eine durch flavanolreichen Kakao verbesserte FMD und gesteigerte RNO-Konzentration auf Werte unterhalb der Ausgangsbedingungen zurückgeführt werden. Dies legt die Vermutung nahe, dass Flavanole im Kakao bei Personen mit kardiovaskulärem Risiko die Endothelfunktion über einen von der NO-Synthase abhängigen Mechanismus verbessern können.

Intervention nach dem Programm „5 am Tag – Obst und Gemüse“

Epidemiologische Studien zeigen, dass die erhöhte Zufuhr von Früchten und Gemüse mit einem verminderten Risiko für verschiedene degenerative Erkrankungen korreliert ist. Dieser Befund wird zumindest teilweise auf die darin enthaltenen antioxidativ wirksamen

[31] Vgl. Heiss *et al*. (2003).

Mikronährstoffe wie Carotinoide, Flavonoide oder Vitamin C zurückgeführt. Unter präventivmedizinischem Aspekt wurde eine weltweite Kampagne, „5 am Tag – Obst und Gemüse“, initiiert, die den erhöhten Verzehr von Obst und Gemüse zur Vorbeugung von Alterserkrankungen propagiert.

Im Rahmen dieser Kampagne wird in Kooperation mit Univ.-Prof. Dr. Siegrist vom Institut für Medizinische Soziologie, dem Zusatzstudiengang Public Health und dem betriebsärztlichen Dienst des Universitätsklinikums Düsseldorf eine Studie durchgeführt, die Zusammenhänge zwischen dem Antioxidantienstatus und Risikofaktoren für Herz-Kreislauf-Erkrankungen untersucht. Es soll nachgewiesen werden, ob durch die Intervention mit „5 am Tag – Obst und Gemüse“ eine Erhöhung der Plasmaspiegel an Mikronährstoffen erreicht werden kann und Änderungen an Biomarkern für das Risiko von Herz-Kreislauf-Erkrankungen erfolgen.

Eigene Untersuchungen weisen darauf hin, dass bei verschiedenen Erkrankungen das Antioxidantienmuster unterschiedlich beeinflusst ist.[32] Die Bestimmung des Antioxidantienmusters[33] kann daher zur Entwicklung einer gezielten Supplementierungs- oder Ernährungsstrategie eingesetzt werden, erlaubt aber auch Rückschlüsse auf pathobiochemische Mechanismen der Erkrankung. Klinische Parameter wie Ejektionsfraktion des Herzes oder Intima-Media-Dicke, die Schwere und Verlauf bestimmter Erkrankungen indizieren, sind signifikant mit einem spezifischen Antioxidantienprofil und mit standardisierten Markern für oxidativen Stress korreliert. Solche Korrelationen wurden in Arbeiten zu Biomarkern des oxidativen Stresses und zum Antioxidantienstatus im Organismus von Patienten mit Erkrankungen wie Hirninfarkt, Alzheimerdemenz und Herzinsuffizienz aufgezeigt.[34]

Danksagung: Unsere Forschungsarbeiten wurden dankenswerterweise unterstützt von der Deutschen Forschungsgemeinschaft (Sonderforschungsbereich 503/B1; Sonderforschungsbereich 575/B4; Si 255/11-3), der National Foundation for Cancer Research (NFCR), Bethesda, USA, und dem Bundesministerium für Bildung und Forschung (Verbundprojekt Carotinoide).

Wir bedanken uns bei den jetzigen und ehemaligen Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern des Instituts sowie allen Kooperationspartnern für ihr Engagement und die vertrauensvolle Zusammenarbeit.

Literatur

ABDELMOHSEN, K., P. A. GERBER, C. VON MONTFORT, H. SIES und L. O. KLOTZ. „Epidermal growth factor receptor is a common mediator of quinone-induced signaling leading to phosphorylation of connexin-43: role of glutathione and tyrosine phosphatases“, *Journal of Biological Chemistry* 278 (2003), 38360-38367.

AUST, O., H. SIES, W. STAHL und M. C. POLIDORI. „Analysis of lipophilic antioxidants in human serum and tissues: tocopherols and carotenoids“, *Journal of Chromatography* 936 (2001), 83-94.

AUST, O., W. STAHL, H. SIES, H. TRONNIER und U. HEINRICH. „Supplementation with tomato-based products increases lycopene, phytofluene, and phytoene levels in human serum and protects against UV-light-induced erythema“, *International Journal of Vitamine and Nutrition Research* (im Druck).

[32] Vgl. Polidori *et al*. (2001).
[33] Vgl. Aust *et al*. (2001).
[34] Vgl. Polidori *et al*. (2002a) und Polidori *et al*. (2002b).

BRENNEISEN, P., J. WENK, L. O. KLOTZ, M. WLASCHEK, K. BRIVIBA, T. KRIEG, H. SIES und K. SCHARFFETTER-KOCHANEK. „Central role of Ferrous/Ferric iron in the ultraviolet B irradiation-mediated signaling pathway leading to increased interstitial collagenase (matrix-degrading metalloprotease (MMP)-1) and stromelysin-1 (MMP-3) mRNA levels in cultured human dermal fibroblasts“, *Journal of Biological Chemistry* 273 (1998), 5279-5287.

BRENNEISEN, P., J. WENK, M. WLASCHEK, T. KRIEG und K. SCHARFFETTER-KOCHANEK. „Activation of p70 ribosomal protein S6 kinase is an essential step in the DNA damage-dependent signaling pathway responsible for the ultraviolet B-mediated increase in interstitial collagenase (MMP-1) and stromelysin-1 (MMP-3) protein levels in human dermal fibroblasts“, *Journal of Biological Chemistry* 275 (2000), 4336-4344.

BRENNEISEN, P., H. SIES und K. SCHARFFETTER-KOCHANEK. „Ultraviolet-B irradiation and matrix metalloproteinases: from induction via signaling to initial events“, *Annals of the New York Academy of Sciences* 973 (2002), 31-43.

BRUCH-GERHARZ, D., O. SCHNORR, C. SUSCHEK, K. F. BECK, J. PFEILSCHIFTER, T. RUZICKA und V. KOLB-BACHOFEN. „Arginase-1 overexpression in psoriasis: limitation of inducible nitric oxide synthase activity as a molecular mechanism for keratinocyte hyperproliferation“, *American Journal of Pathology* 162 (2003), 203-211.

HEINRICH, U., C. GÄRTNER, M. WIEBUSCH, O. EICHLER, H. SIES, H. TRONNIER und W. STAHL. „Supplementation with beta-carotene or a similar amount of mixed carotenoids protects humans from UV-induced erythema“, *Journal of Nutrition* 133 (2003), 98-101.

HEISS, C., A. DEJAM, P. KLEINBONGARD, T. SCHEWE, H. SIES und M. KELM. „Vascular effects of cocoa rich in flavan-3-ols“, *Journal of the American Medical Association* 290 (2003), 1030-1031.

KLOTZ, L. O., S. M. SCHIEKE, H. SIES und N. J. HOLBROOK. „Peroxynitrite activates the phosphoinositide 3-kinase/Akt pathway in human skin primary fibroblasts“, *Biochemical Journal* 352 (2000), 219-225.

KLOTZ, L.O. „Oxidant-induced signaling: effects of peroxynitrite and singlet oxygen“, *Journal of Biological Chemistry* 383 (2002), 443-456.

KLOTZ, L. O., P. PATAK, N. ALE-AGHA, D. P. BUCHCZYK, K. ABDELMOHSEN, P. A. GERBER, C. VON MONTFORT und H. SIES. „2-Methyl-1,4-naphthoquinone, vitamin K(3), decreases gap-junctional intercellular communication via activation of the epidermal growth factor receptor/extracellular signal-regulated kinase cascade“, *Cancer Research* 62 (2002), 4922-4928.

KOSTYUK, V. A., T. KRAEMER, H. SIES und T. SCHEWE. „Myeloperoxidase/nitrite-mediated lipid peroxidation of low-density lipoprotein as modulated by flavonoids“, *FEBS Letters* 537 (2003), 146-150.

KRÖNCKE, K. D., C.V. SUSCHEK und V. KOLB-BACHOFEN. „Implications of inducible nitric oxide synthase expression and enzyme activity“, *Antioxidants and Redox Signaling* 2 (2000), 585-605.

KRÖNCKE, K. D., L. O.KLOTZ, C. V. SUSCHEK und H. SIES„Comparing nitrosative versus oxidative stress toward zinc finger-dependent transcription. Unique role for NO“, *Journal of Biological Chemistry* 277 (2002), 13294-13301.

POLIDORI, M. C., W. STAHL, O. EICHLER, I. NIESTROJ und H. SIES. „Profiles of antioxidants in human plasma“, *Free Radicals in Biology and Medicine* 30 (2001), 456-462.

POLIDORI, M. C., A. CHERUBINI, W. STAHL, U. SENIN, H. SIES und P. MECOCCI. „Plasma carotenoid and malondialdehyde levels in ischemic stroke patients: relationship to early outcome“, *Free Radical Research* 36 (2002a), 265-268.

POLIDORI, M. C., K. SAVINO, G. ALUNNI, M. FREDDIO, U. SENIN, H. SIES, W. STAHL und P. MECOCCI. „Plasma lipophilic antioxidants and malondialdehyde in congestive heart failure

patients: relationship to disease severity“, *Free Radicals in Biology and Medicine* 32 (2002b), 148-152.

SCHEWE, T., C. SADIK, L. O. KLOTZ, T. YOSHIMOTO, H. KUHN und H. SIES. „Polyphenols of cocoa: inhibition of mammalian 15-lipoxygenase“, *Journal of Biological Chemistry* 382 (2001), 1687-1696.

SCHEWE, T., H. KUHN und H. SIES. „Flavonoids of cocoa inhibit recombinant human 5-lipoxygenase“, *Journal of Nutrition* 132 (2002), 1825-1829.

SCHNORR, O., C. V. SUSCHEK und V. KOLB-BACHOFEN. „The importance of cationic amino acid transporter expression in human skin“, *Journal of Investigative Dermatology* 120 (2003), 1016-1022.

SEN, C. K., H. SIES und P. A. BAEUERLE (Hrsg.). *Antioxidant and Redox Regulation of Genes*. London 2000.

SIES, H. „Biochemistry of oxidative stress“, *Angewandte Chemie Internationale Englische Ausgabe* 25 (1986), 1058-1071.

SIES, H. *Antioxidants in Disease Mechanisms and Therapy*. London 1997.

SIES, H. und W. STAHL. „Antioxidants and human health“, in P. PAOLETTI, H. SIES, J. BUG, E. GROSSI und A. POLI (Hrsg.). *Vitamin C: the State of the Art in Disease Prevention Sixty Years after Nobel Prize*. Heidelberg und New York 1998, 1-11.

SIES, H. „Biochemie des Oxidativen Stress: Oxidantien und Antioxidantien“, *Leopoldina* 48 (2003), 297-305.

SIES, H. und W. STAHL. „Nutritional protection against skin damage from sunlight“, *Annual Reviews of Nutrition* 24 (2004), 173-200.

SPAHL, D. U., D. BERENDJI-GRUN, C. V. SUSCHEK, V. KOLB-BACHOFEN und K. D. KRÖNCKE. „Regulation of zinc homeostasis by inducible NO synthase-derived NO: nuclear metallothionein translocation and intranuclear Zn^{2+}release“, *Proceedings of the National Academy of Sciences U. S. A.* 100 (2003), 13952-13957.

STAHL, W., U. HEINRICH, S. WISEMAN, O. EICHLER, H. SIES und H. TRONNIER. „Dietary tomato paste protects against ultraviolet light-induced erythema in humans“, *Journal of Nutrition* 131 (2001), 1449-1451.

STUHLMANN, D., N. ALE-AGHA, R. REINEHR, H. STEINBRENNER, M. C. RAMOS, H. SIES und P. BRENNEISEN. „Modulation of homologous gap junctional intercellular communication of human dermal fibroblasts via a paracrine factor(s) generated by squamous tumor cells“, *Carcinogenesis* 24 (2003), 1737-1748.

STUHLMANN, D., H. STEINBRENNER, B. WENDLANDT, D. MITIC, H. SIES und P. BRENNEISEN. „Paracrine effect of TGF-beta1 on down regulation of gap junctional intercellular communication between human dermal fibroblasts“, *Biochemical and Biophysical Research Communications* 319 (2004), 321-326.

SUSCHEK, C. V., K. BRIVIBA, D. BRUCH-GERHARZ, H. SIES, K. D. KRÖNCKE und V. KOLB-BACHOFEN. „Even after UVA-exposure will nitric oxide protect cells from reactive oxygen intermediate-mediated apoptosis and necrosis“, *Cell Death & Differentiation* 8 (2001), 515-527.

SUSCHEK, C., O. SCHNORR und V. KOLB-BACHOFEN. „The role of iNOS in chronic inflammatory processes in vivo: is it damage-promoting, protective, or active at all?“, *Current Molecular Medicine* (im Druck).