



Das Mitochondrienproblem in der Krebsforschung

Zur Frage der Defektmutierung der Zellorganellen bei Tumorentstehung

von Dr. med. Wolfram Seyfarth

veröffentlicht in SANUM-Post Nr. 36/1996, Seite 20 - 22

Diese Darstellungen betreffen das Forschungsgebiet der Mitochondrien und Mikrosomen als Zellorganellen und ihre Bedeutung im Rahmen der Krebs- und Virusforschung. Noch während meiner Tätigkeit an der Geschwulstambulanz der Deutschen Akademie der Wissenschaften in Berlin-Buch stellte ich fest, daß im Pleurapunktat Krebskranker außerhalb der Zellen (im Phasenkontrast- und Dunkelfeldmikroskop beobachtet) strukturierte Körper zu finden sind, die morphologisch in Größe und Gestalt mit den Mitochondrien übereinstimmen, wie sie normalerweise im Zellplasma der Endothelien und Tumorzellen zu beobachten sind. Färbt man mit TTC das Pleurapunktat Krebskranker an, so ist auffallend, daß die Mitochondrien der Zellen und die der außerhalb liegenden strukturierten Körper mit Formazan rot angefärbt werden. Ausgehend von den bekannten Beobachtungen der Kernverschiebung in Sichelform bei Tumorzellen läßt sich im Pleurapunktat Krebskranker das Phänomen kernloser Zellen demonstrieren, die in auffallend vermehrter Weise Mitochondrien enthalten. Das zeigt sich in jedem Fall reproduzierbar vital bei guter Dunkelfeldbeobachtung. Hierbei läßt sich feststellen, daß diese kernlosen Zellen platzen und die Mitochondrien in Massen in die Zellumgebung austreten.

Während ich zu Beginn meiner Forschungen über das Mitochondrienproblem noch nicht ganz im klaren war, ob diese kernlosen Zellen mit den Massen von Mitochondrien zu den Tumorzellen gehören, bin ich

heute aufgrund weiterer Studien voll und ganz überzeugt, daß wir diese Zellen zu den Tumorzellen zählen müssen. Diese Beobachtungen über kernlose Zellen im Pleurapunktat Krebskranker sind augenscheinlich in der Literatur der früheren Jahre noch nicht beschrieben worden, während Tumorzellen mit randständigem Kern und im Zellplasma in Massen liegende Mitochondrien bekannte Tatsache sind. Nur zur Orientierung möchte ich hierzu eine Mitteilung von Thomssen anlässlich der 4. Verhandlung des Komitees für Krebsforschung im Jahr 1903 anführen. Er schreibt: „Bei den jugendlichen Karzinomzellen liegt der Zellkern mehr im Zentrum und der fragliche Einschlußkörper daneben, später aber bei weiterem Wachstum der Zelle wird der Zellkern an die Peripherie gedrängt, während das Zentrum der Zelle ausgefüllt ist mit diesen eigentümlichen Einschlüssen“, diese sind heute morphologisch, färberisch und histochemisch mit den Merkmalen der Mitochondrien vergleichbar. War um die Zeit von Altmann (um 1900) die Existenz der Bioplasten, die nach der Beschreibung nichts anderes sind als Mitochondrien, noch sehr umstritten und von Kritikern als Kunstprodukte, für Ausfällungsarten von Eiweiß (Fischer) deklariert, so wurden sie andererseits durch das Urteil von R. Metzner, Rolsowsky, Daheehl etwa um die gleiche Zeit als präexistierende, wichtige Bestandteile des Protoplasmas angesehen.

Mitochondrienproblem verlangt endlich Klärung

Ich habe Einwände, ja sogar auch schwerwiegende Bedenken bezüglich meiner mitgeteilten Beobachtungen über die Zellorganellen erwartet. Diese ohne weitere Bemühung als Verunreinigung zu deklarieren, erscheint mir aber doch als Ausdruck mangelnder wissenschaftlicher Kritik. Die seit 1900 und auch schon zuvor überraschend vielseitige Behandlung der Frage in der Stellung der Mitochondrien entweder als der der Zelle zugehörigen Strukturen oder als selbständige freibewegliche Eigenkörper mit ganz speziellen Aufgaben innerhalb und außerhalb der Zelle macht es zur Pflicht, eine Abgrenzung der bisher widersprechenden Auffassungen über die Mitochondrien vorzunehmen.

Wie es scheint, liegt die Schwierigkeit der Abgrenzung weniger in der Forschung selbst begründet als vielmehr in der doktrinären Auffassung von der Zelle als letzter Einheit des Lebens nach Virchow. Zur Klärung des Mitochondrienproblems muß die Lehre von Virchow heute erweitert werden, zumal sich verschiedene Autoren bemühen, zugunsten einer erweiterten Lebensfunktion der Zelle das dogmatisch Erscheinende von der Virchowschen Lehre auszubauen. Als Beweis dafür verweise ich auf eine im Amerikanisch-Bakteriologischen Journal schon im Jahre 1951 erschienene fachwissenschaftliche Zusammenfassung über Mitochondrien der Mycobakterien tuberculosis, die von Robert Koch und anderen als Sporen aufgefaßt wurden. Der Titel



lautet: „Beweis für die Vermutung, daß die Granula von Mycobakterien Mitochondrien darstellen“. Diese Gruppe von Wissenschaftlern bestand aus S. Nudo, L. Winterscheidt und de Lamster. In der Arbeit kommt man zu dem grundlegenden Schluß, daß die in den Bakterien festgestellten Sporen als Mitochondrien aufzufassen sind, die enzymatisch, färberisch und morphologisch den Mitochondrien aus der tierischen Zelle gleichen.

Bedeutung der Mitochondrien der Soorhefe

Während nun im Vergleich zu den Mitochondrien der tierischen Zellen die genannten Forscher das Mycobakterium tuberculosis einer eingehenden histochemischen Untersuchung unterzogen haben, habe ich mein Studium an dem Mitochondrium der Soorhefe durchgeführt und bin unabhängig von dieser Fachgruppe zu ähnlichen Schlüssen gekommen. Neben färberischen Methoden habe ich die Mitochondrien sowohl der Tumorzelle als auch die Mitochondrien der Sproßzelle im Antiforminversuch beobachtet. Ich konnte feststellen, daß sowohl die Tumorzelle als auch die Sproßzelle durch Antiformin zerstört wird und nur noch die Mitochondrien beider Zellen zur Beobachtung übrig bleiben, die sich nach weiteren Untersuchungen mit Rhodamin standard anfärben lassen. Zur selben Zeit wurden Zylinderstückchen von menschlicher Leber untersucht, die während einer Laparaskopie gewonnen wurden. Bei Zusatz von 25% Antiforminlösung lösten sich die Leberzellen auf und nach Abzentrifugierung fanden sich im Zentrifugat nur zahlreiche, an der Grenze des mikroskopisch Sichtbaren geformte Gebilde verschiedener Größen mit Hantelform und Anhängsel, die nach Einwirkung von TTC sich rot färbten. Aufgrund dieser Befunde ist mit guter Sicherheit darauf zu schließen, daß das Zytoplasma tierischer und

pflanzlicher Herkunft noch Elementarkörper aufweist, folglich nicht kolloider Struktur ist.

1930 führte Jonas Versuche durch, bei denen er Hefezellen Formaldehyd aussetzte. Hierbei konnte er feststellen, daß das Leben in den kleinen Plasmakörperchen, also in den Mitochondrien und Mikrosomen, erhalten bleibt, während die Hefezelle selbst zugrunde geht. Jonas nennt diese kleinen Körperchen „Sporoidkörper“. Er konnte beobachten, daß sie durch die Zellwand hindurch aus der Zelle austreten oder bei der Auflösung der Wand frei werden können. Der „Tod der Hefezellen“ entspricht somit nach Jonas nicht der Beendigung des Lebens. Diese kurzen Ausführungen sind der Arbeit „Vines and Vines“ vom Januar 1953 von Dr. Radoslav Dvornik entnommen und belegen, daß dem Problem der Mitochondrien als Eigenkörper bzw. Elementarkörper auch von ausländischen Fachwissenschaftlern große Beachtung beigemessen wird und es auch heute noch nicht an Aktualität eingebüßt hat.

Auch bereits 1953 erschien aus dem Budapester Biochemischen Institut der Akademie der Wissenschaften eine Arbeit, die der bisherigen Meinung ebenfalls entgegensteht. Hier ist speziell der Beweis geführt worden, daß nach Zerstörung der Zellhüllen der Hefe durch Ultraschall mit anschließender Filtration des Zellbreies die kleinsten Körper aus der Hefe, die Mikrosomen und Mitochondrien, sich in entsprechender Nährlösung wieder zu Kleinhefen entwickeln können. In Ergänzung zu dieser Forschung sollen noch die Arbeiten von Klever und Hoffmann aus der wissenschaftlichen Station des Brauereiwesens in München angeführt werden, die den Beweis erbrachten, daß auch die „Hefekokken“, die Mitochondrien also, die Fähigkeit zur Diacetylbildung haben, Vorgänge, die darauf schließen lassen, daß die Tetraden oder Hefekok-

ken nicht als Luftinfektion anzusehen sind.

Was ist die Bedeutung der Mitochondrienforschung der pflanzlichen Zelle, in diesem Fall der Sproßzelle? Um das manchen Klinikern noch nicht vertraute Gebiet der Mitochondrien der tierischen Zelle als Zellorganelle und Elementarkörper nahezubringen, ist besonders die Beobachtung der Zellorganellen der Sproßzelle erforderlich, denn von hier aus können sich am besten Rückschlüsse auf die Mitochondrien der tierischen Zelle ziehen lassen. Hierbei besteht ein weiterer Grund, die Eigenschaft der Soorhefe zu analysieren, konnten doch diese Sproßzellen in den Tumorzellkulturen bei entsprechendem Nährmilieu in vitro zur Entwicklung gebracht werden, Vorgänge, über die schon um die Jahrhundertwende von Sanfelice und später von Leopold berichtet worden ist.

Zusammenhang zwischen Mitochondrien und Tumorzelle

Ein Zusammenhang der Soorhefe mit der Tumorbildung muß nicht unbedingt gesehen werden, obwohl man diese Hefe in der Vitrokultur von Tumorzellen in ihrer Entwicklung regelmäßig verfolgen kann. Züchtet man sie aus Tumorzellen, dann lassen sich mit diesen Sproßzellen, die Mäusen und Meerschweinchen injiziert werden, Granulationstumore erzeugen. Das sind Beobachtungen, die zuerst von Sanfelice um die Jahrhundertwende angestellt wurden. In Ergänzung zu diesen Vorgängen sei auf die Polymorphie der Soorhefe aufmerksam gemacht. Injiziert man z.B. Mäusen, die mit cancerogenen Kohlenwasserstoffen gepinselt wurden, Soorhefe intraperitoneal, so finden sich oftmals in Peritonealzellen Mitochondrien, die nach meinen Beobachtungen als Soorhefemitochondrien gedeutet werden müssen, wobei eine ganz exakte Differenzierung gegenüber den Mitochondrien der tierischen Zelle nicht



vorzunehmen ist, sei es histochemisch, färberisch oder morphologisch.

In der einschlägigen Literatur sind ähnliche Vorgänge schon von Sanfelice beschrieben worden, der betonte, daß die in Plastomyceten-immunserum auftretenden Antikörper Sproßzellen in Russellsche Körper - in fuchsinophile - verwandeln, Körper, die Russell 1890 besonders in Karzinomzellen fand und sie für Sproßpilze hielt. Die Russellschen Körper wurden bei der Nachprüfung vom Autor früher als hyaline Degeneration des Protoplasmas angesehen, ein Standpunkt, der heute nicht mehr beibehalten werden kann. In früherer Zeit wurden die Körperchen identisch mit den Altmanschen Dioplasmen gesehen, im Jahr 1908 aber von Neves als Mitochondrien signifiziert. Geschichtlich gesehen läßt sich daraus entnehmen, daß die im Zytoplasma eingeschlossenen Granula, die Mitochondrien, seit ihrer Entdeckung bis heute nichts an Aktualität verloren haben.

Aufgrund der Antiforminversuche, der morphologischen, färberischen und histochemischen Untersuchungen bin ich davon überzeugt, daß die die Mitochondrien sowohl in tierischer als auch in pflanzlicher Zelle Elementarkörper sind. Zum Verständnis der Zellvorgänge tierischer und pflanzlicher Natur muß auf das Studium dieser Zellorganellen in der Vitrokultur eingegangen werden. Wie bereits erwähnt, sind diese Organellen, die Mitochondrien, morphologisch gesehen, im Dunkelfeldmikroskop bei bester Beleuchtung inner- und außerhalb der Zelle ringförmige Körper mit hellichtbrechendem Hof und dunklerem Zentrum. Man muß eine exakte Differenzierung zwischen Fetttropfen und diesen beschriebenen Formen vornehmen. Was die Größe dieser Körper anbetrifft, so ist sie sehr variabel, da diese die Fähigkeit besitzen, je nach Assimilation von Fett und Lipoiden Wach-

tumsvorgänge zu zeigen, die sich durch die Größenzunahme des beobachteten lichtbrechenden Hofes anzeigen. Die Größenzunahme der Mitochondrien in Nährlösungen beträgt oft das Zwei- bis Dreifache ihrer Ausgangsgröße, ja sie wachsen sogar bis zu dreiviertel der Größe eines Eythrozyten heran.

Mitochondrien besitzen starke Vermehrungsfähigkeit

Die Mitochondrien als Eigenkörper haben die Fähigkeit, sich sowohl in der tierischen als auch in der pflanzlichen Zelle zu entwickeln. In der Vitrokultur können sie sich außerhalb der Zelle frei in der Nährlösung durch Zweiteilung oftmals in Massen vermehren. Diese Beobachtung läßt sich sowohl bei den Mitochondrien der Tumorzelle als auch bei der Soorhefe verfolgen. Hierbei ist oftmals bei den Körpern der Tumorzelle nach Austritt aus der Zelle ein Platzen zu beobachten, so daß nur noch schadhafte Ringformen übrig bleiben.

Zu betonen ist, daß von einer Verunreinigung durch Luftinfektion bei meinen Versuchen nicht gesprochen werden kann, blieben doch die zur Kontrolle aufgestellten offenen Bouillonkulturen steril. Auch war bei diesem hohen pH-Wert der Bouillon an sich schon keine optimale Bedingung für das Wachsen von Luftkeimen gegeben. Zudem läßt sich beobachten, daß diese Vermehrungsvorgänge der Mitochondrien sowohl tierischer wie pflanzlicher Herkunft außerhalb der Zellen immer wieder rekonstruierbar sind, und zwar mit Ringkörpern, die morphologisch, färbetechnisch und histochemisch mit den in der Zelle liegenden Mitochondrien übereinstimmen.

Die wichtigste Beobachtung bei meinem Studium der Mitochondrien in vitro, sei es tierischer oder pflanzlicher Herkunft, ist die Bildung von Einschlußkörperchen innerhalb dieser Organellen, die mit den Mikrosomen identisch sind. Diese Beobachtung ist für die biologische Zellfor-

schung von ganz besonderer Bedeutung, denn damit wird der von der Biochemie vermutete Syntheseapparat der Mitochondrien und der von einigen Forschern gesehene autokatalytische Vermehrungsvorgang innerhalb der Zelle klar umrissen. Diese Abläufe in der Zelle sind rein biologische Vorgänge, wobei die Ribonukleinsäure an die Mitochondrien gebunden ist. Sie wird nach der Entwicklung der Mikrosomen innerhalb dieser Organbehälter mit diesen nach Abwanderung in das Plasma biochemisch nachweisbar.

Zum Begriff der Defektmutierung

Dieser Normalablauf wird zum pathologischen Ablauf in der Tumorzelle, wenn kanzerogen wirkende Stoffe oder Elemente eine Dysfunktion der Mitochondrien herbeiführen. Das führt zwangsläufig bei der Entwicklung der Mikrosomen innerhalb ihrer Mitochondrien mit ihrer Funktionsänderung zur Defektmutierung. Der experimentelle Nachweis dieses Phänomens ergibt sich aus den durch Filtrierung isolierten pathologischen Mikrosomen und ihrer Wirkung durch Überimpfung. Man kann das Phänomen der pathologischen Mikrosomenwirkung der Mikroform begrifflich als „endogenes Virus“ ausdrücken.