Ultrastrukturtomographische Darstellung lebender Zellen und ihre Beeinflussung durch nicht-thermische physikalische Felder

U.G. Randoll[1], R. Dehmlow[2], G. Regling[3], K. Olbrich[4]

Zusammenfassung

Unter Kontrolle eines neuartigen Tomoskops werden Lebensstrukturen, -funktionen und -prozesse im ultrastrukturellen Bereich dargestellt, unter Beeinflussung unterschiedlicher physikalischer Felder. Die hohe Sensitivität einzelner Zellen sowie Zellen im Gewebsverband läßt sich on-line feststellen.

Schlüsselwörter

Ultrastruktur-Vitaltomoskopie, Zellkommunikation, Kanzerogenese, Selbstorganisation, mitochondriale Rhythmik, Membranfusion, nichtlineare Dynamik, elektromagnetisches Feld.

Summary

Using a newly-developed tomoscope, living ultrastructures, ultrafunctions and processes under the influence of different physical fields can be observed. The high sensitivity of the individual cells and cells in tissue can be recorded on-line.

Keywords

Tomoscopy of vital ultrastructures, cell communication, carcinogenesis, self-organisation, mitochondrial rhythms, membranefusion, nonlinear dynamics, electromagnetic fields.

[1] Klinik und Poliklinik für Mund-Kiefer-Gesichtschirurgie, Universität Erlangen-*Nürnberg, Glückstraße 11, 91054 Erlangen* (Dir. Prof. Dr. *E. W. Steinhäuser*).

[2] Institut für Therapieforschung, 16321 Berlin-Bernau.

[3] Orthopädische Klinik Charité/Humbold-Universität, 10098 Berlin.

[4] Institut für interdisziplinäre Grundlagenforschung, 64756 Mossautal 3.

Unterstützt von der Rut- und Klaus-Bahlsen-Stiftung, Hannover, der Gesellschaft für Biologische Krebsabwehr, Heidelberg sowie der Gesellschaft für Forschung auf biophysikalischen Grenzgebieten, Basel.

Einleitung

Lebende Zellen tauschen laufend miteinander oder mit dem sie umgebenden extrazellulären Raum Stoffe, Energie und Informationen aus. Diese zellkommunikativen Prozesse, seien sie chemischer oder physikalischer Natur, erfolgen auch durch die Zellmembranen.

Das klassische Modell einer solchen Zellmembran besteht aus drei miteinander verbundenen Schichten, der Glycocalix, der Protein-Lipid-Doppelschicht und dem Membrananteil des Cytoskeletts. Proteine tauchen mit ihren hydrophoben Domänen in die Lipiddoppelschicht ein, treten mit ihr auch über elektrochemische Prozesse in Wechselwirkung und präsentieren ihre hydrophilen Domänen auf der Zelloberfläche als Rezeptoren oder Kommunikationsstrukturen. Die bindende Domäne eines Rezeptormoleküls überträgt durch Konformationsänderung seines intramembranalen Anteils ein Signal auf die Zytoplasmaseite der Membran. Dort wird dann durch weitere Kopplung an einen sog. "second messenger" das Signal verstärkt und moduliert, um z.B. eine Reaktion im Kern, wie die Aktivierung von c-Onkogenen, auszulösen.

Ohne diese metastabilen Membranen, die sich selbstorganisierend, ausgehend von flüssigkristallinen Phasen, Lipiden micellarer Systeme und Liposomen bis hin zu ihrer individuellen Funktion und Charakteristik differenziert haben, wäre kein Leben möglich.

Ein selbstorganisierender Prozeß wird charakterisiert durch das spontane Auftreten von dynamischen Ordnungszuständen unter Berücksichtigung vorhandener oder vorgegebener Randbedingungen. Sich dabei bildende Strukturen werden durch alle Vorgänge unterhalten, die in dem Begriff des Stoffwechsels zusammenfließen. Stoffwechsel (permanente molekulare Umwandlung) findet in und an den Kolloiden statt, dem viskösen Basis-Substrat (Protoplasma) jeder Zelle.

Im energieliefernden mitochondrialen Oxidationsstoffwechsel einer intakten Zelle wird Wasserstoff durch Sauerstoff oxidiert, jedoch so langsam, daß die freiwerdende Energie ohne explosiven thermischen Effekt, d.h ohne Knallgasreaktion in biologische Energie überführt wird. Der gerichtete Elektronenstrom „Redoxstrom" als Masse und Energie verwandelt permanent unpolare Moleküle in polare, reaktionsfähige Moleküle (freie Radikale), wobei Dipole mit umgebenden Magnetfeldern entstehen und vergehen.

Vom Elektronenfluß induzierte magnetische Bahnmomente richten ordnend molekulare Strukturen im flüssig-kristallinen Medium aus und summieren sich unter gegenseitiger Stabilisierung zu meßbaren dia- bzw. paramagnetischen Größen auf. Es ist vorstellbar, daß lebende Organismen auf diese Weise, beginnend auf dem submolekularen Organisationsniveau (also primär ohne direkte chemische Bindung), ihre kolloidalen Moleküle als elektroma-

gnetisch „gekoppelte" Anordnungen in charakteristischen kohärenten elektromagnetischen Feldern ausbilden, die sich supramolekular und zellulär in der räumlichen Geometrie ihres Aussehens widerspiegeln.

Der Zustand einer Zelle als kleinste Lebenseinheit ließe sich sinnvoll durch die Analyse ihres Gestaltwertes beurteilen, d.h. sowohl hinsichtlich ihrer stofflich-materiellen Eigenschaften als auch ihrer zeitlich-rhythmischen Strukturelemente. Beispielsweise könnte aus glykolytischen und mitochondrialen Rhythmusprozessen die biologische Oszillation der ATP-Synthese resultieren, welche interstitiell sowie neuronal koppelt und so die bekannten sekundenrhythmischen Herzwellen bzw. minutenrhythmischen Kreislaufwellen gesunder Gefäßsysteme praktisch autonom antreiben und unterhalten. Bestimmte Felder und Frequenzen, die in den Begriff der „Randbedingungen" einfließen, könnten diese „endogene Rhythmik" stabilisieren.

In den nachfolgenden Untersuchungen wird der Frage nachgegangen, wie sich vitale Membranen und Zellen verhalten, wenn man die physikalischen Randbedingungen beeinflußt.

Material und Methoden

Es wurden Biopsien von Tumorgewebe und Normalgewebe unterschiedlicher Organe sowie künstlich erzeugte Membranen, die weit primitiver sind als ausdifferenzierte Zellmembranen (Zellvesikel, wie sie sich von Tumorgewebszellen abschnüren und Vesikel, wie sie sich leicht in einer Zellnährlösung herstellen lassen), untersucht.

Unter dem verwendeten Lichtmikroskop „Ergonom-400" wurde das Untersuchungsmaterial unterschiedlich statischen bzw. quasi-statischen elektromagnetischen Feldern ausgesetzt und on-line dargestellt, wobei die Proben auf 37 °C erwärmt wurden. Insbesondere sollten die bereits bei Ciba Geigy, Basel, erforschten makroskopisch sichtbaren Auswirkungen solcher Felder, z.B. in der Forellenzucht, mikroskopisch aufgespürt werden. Das „Ergonom 400" hat eine Auflösung von < 200 nm, große variable Tiefenschärfe, wobei eine zellzerstörende bzw. zellfunktionsbeeinflussende Präparierung bzw. Einfärbung zur Darstellung der Zellstrukturen und Zellprozesse nicht erforderlich ist. Die Beobachtung erfolgt in Echtfarbendarstellung, wobei auch tomographische Schnittbilder in vivo zur 3D Rekonstruktion gewonnen werden können.

Ergebnisse

(Abb. 1–3) Plattenepithelzellen (Abb. 1, 2) bilden in Kultur über gap-junctions verbundene Zellkolonien. Ihre Oberflächen sind nach selbstähnlichem Baumuster strukturiert. Plattenepithelkarzinomzellen (Abb. 3) weisen diese geordnete Struktur nicht auf. Die Mitosen (hier in selektiver Resonanzfarbanregung dargestellt), werden, je häufiger sie stattfinden, ungeordneter, wobei die Zellen immer weniger selbstähnliche Muster erkennen lassen und Vesikel unterschiedlichster Größe mit mehr oder weniger Zellinhalt absondern.

(Abb. 4-6) Einzeller (Abb. 4) im elektrostatischen Feld (Erlanger Ciliatentest nach Prof. *W. Gräf*). Die Membranen sind wie alle Zellmembranen durch Kooperation stabilisiert. Durch das Feld bilden sich an den Membranen lokale Domänen, die sich blasig abheben. Intrazellulär ist an jenen Stellen eine erhöhte Dynamik erkennbar. Erfolgt eine Feldänderung abrupt, so platzen diese lokalen Domänen (Abb. 5). Die Zelle „läuft nicht aus", sondern verliert teilweise Zellinhalt und repariert sofort den Membrandefekt. Unter wiederholtem elektrostatischem Streß erfolgen wiederholte „Membraneruptionen", bis sich die Zelle auflöst (Abb. 6).

(Abb. 7-9) Formflexible Riesenliposome geben modellhaft Einblicke in Struktur und Funktion von Biomembranen. Bereits auf Distanz nehmen sie im elektrostatischen Feld richtungsweisende Beziehungen auf (Abb. 7). Am Punkt der kürzesten Verbindung zwischen den Liposomen bilden sich weiße Muster. Oberhalb einer Grenzspannung erkennt man eine deutliche Umwandlung der Morphologie der Liposome (Abb. 8). Offensichtlich werden die Membranen als konjugierte Systeme polarisiert, wodurch bereits eine Energie- oder Informationsübertragung stattfindet, die die ursprünglich quasikristalline Membran besonders strukturiert. Die Membranen haben die Fähigkeit zur Orientierung sowohl in der direkten Kontaktzone, als auch innerhalb der Lipidschichten. Die Membranen verschmelzen an dieser Stelle miteinander und es entstehen Strukturen ähnlich wie Ionenkanäle (Abb. 9). An der Kombination dieser molekularen Beweglichkeit und der definierten Ordnung, hier der Orientierung innerhalb der Membranflächen, zeigt sich typisch flüssig-kristallines Verhalten mit erhöhter Wahrscheinlichkeit zur Selbstorganisation in Abhängigkeit der Randbedingungen.

(Abb. 10-12) Promonozytische Leukämiezelle (HL 60) im elektrischen Feld (Abb. 10). Die Zelle weist bereits einen stark ungeordneten Bau auf. Sie richtet sich im elektrischen Feld aus und wandert (Abb. 11). An einem bestimmten Punkt kommt es offenbar innerhalb der Lipidmembran zu ionogenen Kopfgruppenspaltungen, wodurch die Zellmembran destabilisiert wird, daß sie platzt (Abb. 12).

Diskussion

Der Nachweis physikalischer Effekte auf Membranen und Lebensprozesse hörte bisher dort auf, wo die Strukturen und Funktionen durch die Probenbearbeitung (Färben, Bedampfen) mehr verändert wurden, als durch einen pathologischen oder physiologisch-therapeutischen Reiz.

Erstmals können die mittels des „Ergonom 400" erfaßten on-line Daten auch auf subzelluläre, intrazelluläre Strukturen und Prozesse von < 200 nm ausgedehnt werden, sodaß in bisher als amorph geltenden Dimensionen Strukturen und funktionelle Abläufe erkannt werden können.

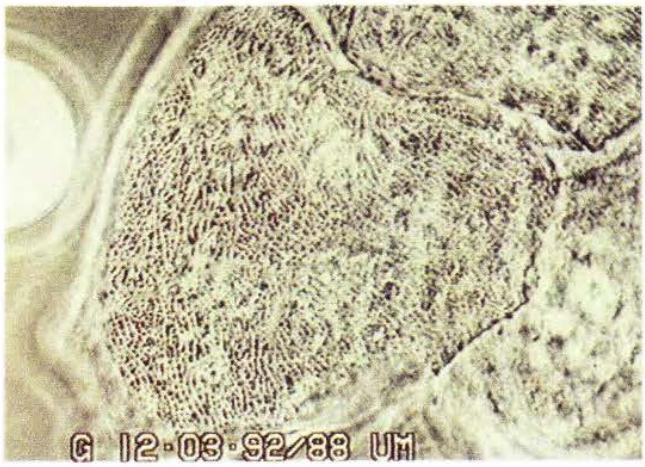

Abb. 1

Abb. 2

Abb. 3

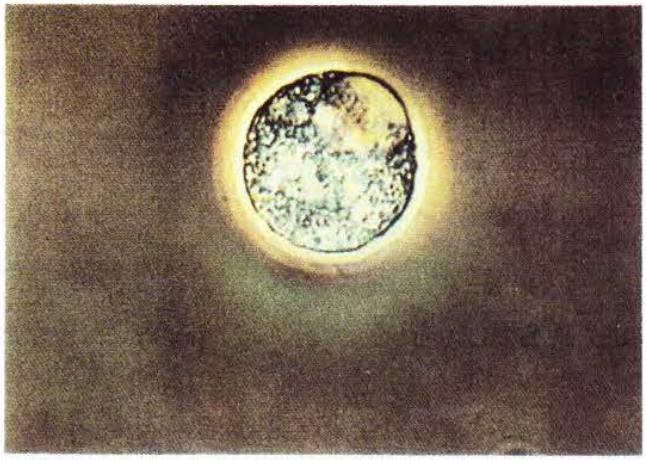

Abb. 4

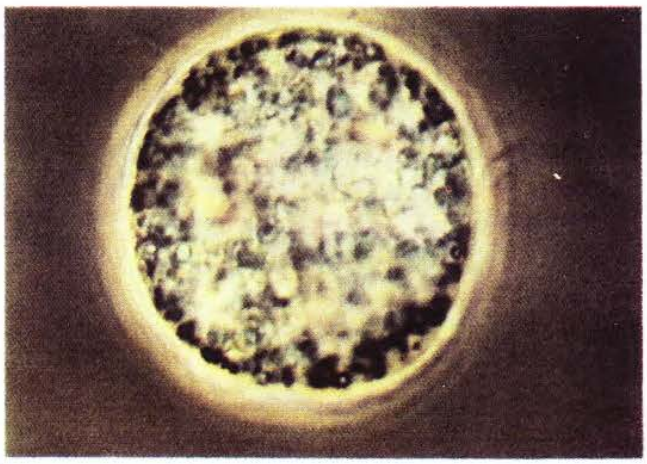

Abb. 5

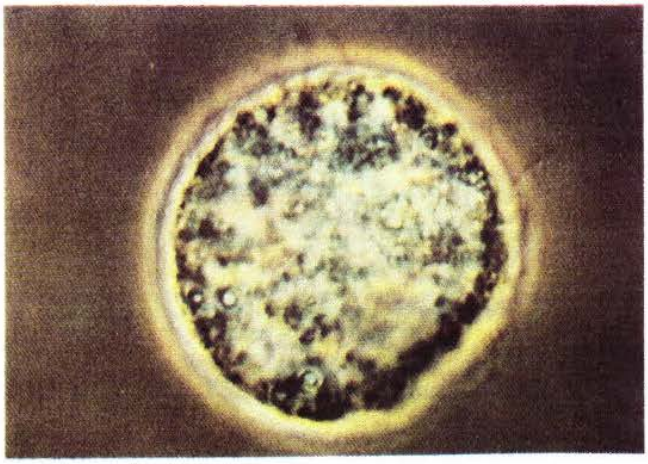

Abb. 6

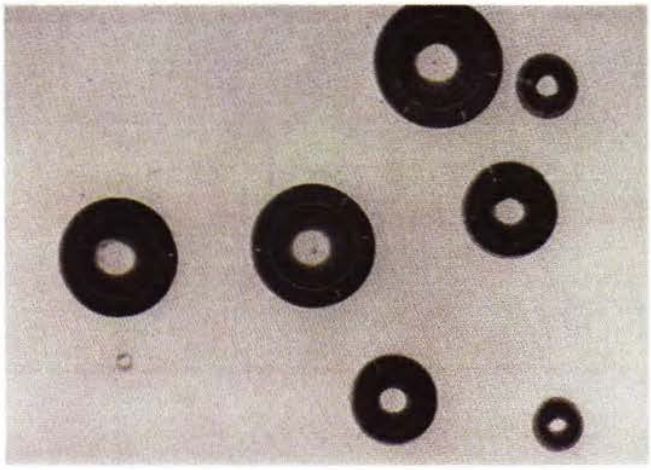

Abb. 7

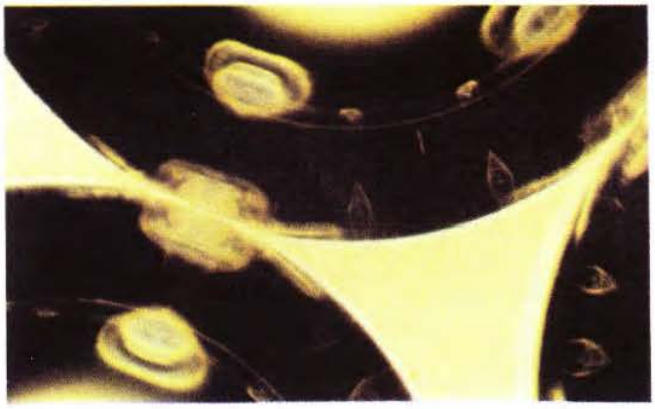

Abb. 8

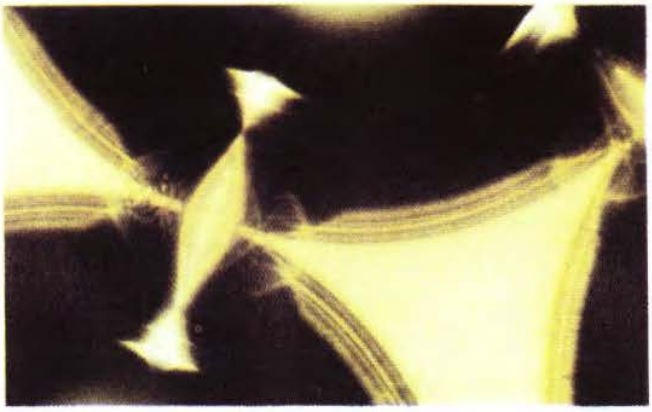

Abb. 9

Abb. 10

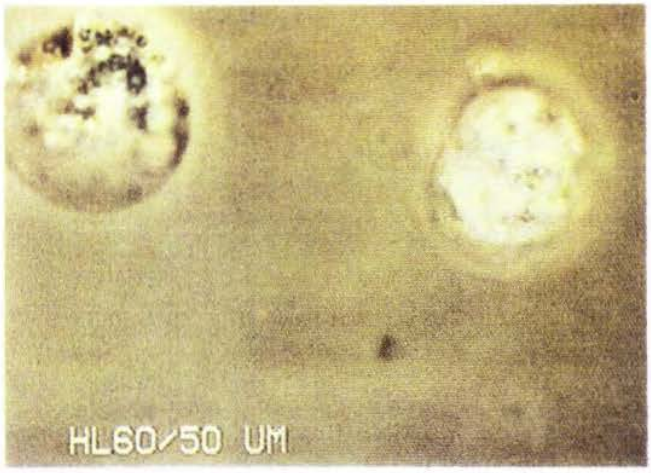

Abb. 11

Abb. 12

Biochemische Oszillationen als periodische Funktionsabläufe, im Gesunden verbunden mit psychischer Ordnung und Gesundheitsstabilität, könnten im Kranken in aperiodische, dissoziierte Zeitverläufe übergegangen sein mit resultierender, pathogener Symptomatik. Wenn Zeitserien chaotisch entarten, verlieren sie ihre ordnende Funktion, was für die Zelle den Verlust an zeitlich-rhythmischer Ordnung bedeuten könnte, wodurch auch sie chaotisch entartet. Solche ätiologischen Faktoren zur Auslösung chronischer Krankheiten rücken mehr und mehr in den Mittelpunkt ärztlichen Denkens.

Die Ergebnisse dieser ultrastrukturtomographischen Beobachtung von Lebensprozessen prädestinieren das Verfahren zukünftig verstärkt zur Dokumentation und zur Wirkungs- bzw. Wirksamkeitsabschätzung von möglichen Wechselwirkungen zwischen exakt definierten em-Frequenz- und Intensitätsfenstern mit biologischen, vitalen Strukturen einzusetzen, da es deren individuelle, augenblickliche Reaktionslage miterfaßt.

Schwellenwertreaktionen als Antwortsignal und Resultat molekularer Prozesse, die nach Prinzipien „nichtlinearer Dynamik" ablaufen, werden festgehalten, sofern die jeweiligen sichtbaren Antwortsignale eines „Reizes" in den Beobachtungszeitraum fallen.

Dieses patientennahe In-vitro-Verfahren ist demnach auch ideal, um physikochemische Reizwirkungen auf Zell- und Zellmatrixebene darzustellen. Es könnte entscheidend werden zur Entwicklung neuer Tumortherapiestrategien, die zellregulative und zellverbandstrukturierende Einflüsse klar von destruktiven Maßnahmen erkennen läßt.

Literatur

Adey, W. R.: Physiological signalling across cell membranes and cooperative influences of extremely low frequency electromagnetic fields. In: *Fröhlich, H.* (ed.): Biological coherence and response to external low frequency electromagnetic fields. Springer Verlag, Heidelberg, Berlin 1988.

Ciba Geigy AG; *Schürch, H.; Ebner, G.* Europapatentanmeldung 15.06.89, Nr. 89810461.7.

Dehmlow, R.: Two opposite trends in the field of biochmical models to the explanation of the physiological function of biological cells and organelles. 10th int. Conf. on Bioelectrochem. and Bioenergetics 1989.

Dehmlow, R.; Randoll, U.G.: Two trends in the field to the explanation of the biopotentials and the elctromagnetic stimulation. I. World congress for electricity and magnestism in Biology and Medicine, Florida 1992.

Dertinger, H.; Hülser, D.F.: Intercellular Communications in Spheroids. Recent Results in Cancer Research **95** (1984) 67-83.

Eichwald, C.; Kaiser, F.: Model for Receptor Controlled Cytosolic Calcium Oscillations and for External Influences on the Signal Pathway. Biophys. Journ. **65** (1993).

Haken, H.: Erfolgsgeheimnisse der Natur, Synergetik: Die Lehre vom Zusammenwirken. 3. Aufl. DVA, Stuttgart 1991.

Isaacs, J. P.; Lamp, J. C.: Complementarity in Biology. Johns Hopkins Press, Baltimore MD 1969.

Jantsch, E.: Die Selbstorganisation des Universums. Vom Urknall bis zum menschlichen Geist. 3. Aufl. dtv, München 1986.

Ling, G.N.: A revolution in the physiology of the living cell. Krieger Publishing Company, Malabar, Florida 1992.

Prigogine, I.; Nicolis, G. et al.: Thermodynamics of evolution. Physics today **11** (1972) 23-28.

Randoll, U.G.: Die Bedeutung von Regulation und Rhythmus für ärztliche Diagnostik und Therapie. In: *Albrecht, H.* (ed.): Heilkunde versus Medizin. Gesundheit und Krankheit aus der Sicht der Wissenschaften. Hippokrates Verlag, Stuttgart 1993, S. 77-85.

Randoll, U.G.: Elektromagnetische Felder bei der Behandlung der Osteoporose. Therapeutikon **6** (1992) 144-153.

Randoll, U.G.: The role of complex biophysical-chemical therapies for cancer. Bioelectrochemistry and Bioenergetics **27** (1992) 341-346.

Randoll, U.G.; Zänker, K.S. et al.: Vitalmikroskopische Ultrastrukturdarstellung von Plattenepithel- und Plattenepithelkarzinomzellen des Oropharynx. Dtsch. Zschr. Onkol. **24**, 3 (1992) 54-64.

Randoll, U.G.; Zänker, K.S.; Dehmlow, R.: Ultrastrukturelle zelluläre Membranprozesse on-line im Vitalmikroskop. Dtsch. Zschr. Onkol. **24**, 5 (1992) 120-126.

Regling, G.: Wolff's law and connective tissue regulation. de Gruyter, Berlin, New York 1993.

Schwemmler, W.: Symbiogenesis. A Macro-Mechanism of Evolution. de Gruyter, 1989.

Segal, J.; Dehmlow, R.: The origin of biopotentials according to the phase boundery concept. Acta Biochim. Biophys. Hung. **22** (1987) 439-462.

Szent-Gyorgyi, A.: Electronic biology and cancer. UMI, Marcel Dekker, Michigan 1976.

Thomas, F.: Die Anwendung einfacher Prinzipien der Regulation komplexer Systeme auf die Humanmedizin. DLR-Mit. 84-13, Braunschweig 1984.

Korrespondenz an:
Dr. med. *U.G. Randoll*, Klinik und Poliklinik für Mund-Kiefer-Gesichtschirurgie, Universität Erlangen-Nürnberg, Glückstraße 11, 91054 Erlangen.