

Schwermetalle als Auslöser sekundärer Mitochondriopathien

Peter Jennrich

Die Signalverarbeitung und der Energiehaushalt der Zelle ist unmittelbar von der Calciumhomöostase abhängig. Die Mitochondrien nehmen hierbei eine Schlüsselposition ein.

Die Calciumaufnahme in die Mitochondrien führt zur ATP Synthese und ermöglicht der Zelle die extrazellulären Signale zu beantworten. Die Calciumabgabe ins Cytosol erfolgt unter Energieaufwand und regeneriert die negative Ladung an der inneren Mitochondrienmembran. Dies ist von großer Bedeutung für die Aufrechterhaltung des mitochondrialen Membranpotentials, das als Indikator für den Energiestatus der Mitochondrien gilt.

Zahnmetalle und weitere potentiell toxische Metalle können die Mitochondrien auf vielfältige Weise schädigen. Dazu zählen die Bildung von freien Radikalen, reaktiven Stickstoffverbindungen und Peroxinitrit, die Blockade von Calciumkanälen in der Zellmembran und die Störung der intrazellulären Calciumhomöostase. Unmittelbare Folgeschäden der Pathophysiologie der Metalle sind ein Potentialabfall an der Mitochondrienmembran, die Hemmung der Atmungskette, die Auslösung des mitochondrialen Permeabilitätsübergang (mPT) und der Zelltod durch Apoptose oder Nekrose.

Die Prophylaxe und Therapie von sekundären Mitochondriopathien ist durch die Entfernung potentiell toxischer Metalle und die Zufuhr von Antioxidantien und NO Scavengern möglich.

Aufbau und Funktion der Mitochondrien

Mitochondrien dienen durch die Verstoffwechslung von Fett und Kohlehydraten der Energiegewinnung. Ferner haben sie Einfluß auf die Regulation der Apoptose und auf die Synthese der DNA und RNA. Je nach Zellart können sie weitere Funktionen ausüben.

In Vorläufern der roten Blutkörperchen synthetisieren sie Häm, in Leberzellen entgiften sie Ammonium, in Drüsenzellen bilden sie Hormone (z.B. Testosteron, Östrogen) und in Nervenzellen sind sie am Stoffwechsel von Neurotransmittern beteiligt.

Eugene Kennedy und Albert Lehninger entdeckten in der Mitte des 20. Jahrhunderts, dass die Mitochondrien die Komplexe der Atmungskette, die Enzyme des Citratzyklus und die Enzyme der Fettsäureoxidation beinhalten (1).

Die Fettsäureoxidation findet in der Mitochondrienmatrix statt und liefert durch den Abbau von Fettsäuren Acetyl CoA für den Citratzyklus.

Der Citratzyklus ist ein zentraler Kreislauf biochemischer Reaktionen im Stoffwechsel aerober Zellen, der hauptsächlich dem oxidativen Abbau organischer Stoffe dient.

Das beim Abbau von Fetten, Zuckern und Aminosäuren als Zwischenprodukt entstehende Acetyl-CoA wird darin unter Freisetzung von Kohlenstoffdioxid (CO₂) und Wasser (H₂O) zur direkten und indirekten Erzeugung von biochemisch für den Organismus verfügbarer Energie genutzt. Der Citratzyklus läuft in der Matrix der Mitochondrien ab und führt zur Bildung von NADH und FADH₂, welche Elektronen für die Atmungskette bereitstellen.

Die Atmungskette ist ein wichtiger Teil des Energiestoffwechsels. Sie besteht aus einer Kette von nacheinander stattfindenden

biochemischen Redoxreaktionen und findet in der inneren Mitochondrienmembran statt. An der Reaktion sind nacheinander die Enzym-Komplexe I bis V und die Wasserstoff- / Elektronenüberträger Ubichinon (Coenzym Q) und Cytochrom c, die in die innere Mitochondrienmembran eingelagert sind, beteiligt.

Die durch NADH, FMN₂ und FADH₂ übertragenen Elektronen werden mit Hilfe einer Reihe von Redoxvorgängen, die an der inneren Mitochondrienmembran ablaufen, dazu genutzt, aus ADP und Phosphat die „universelle Energie“ der Zelle, ATP, zu synthetisieren.

Wenige Jahre nach Lehninger und Kennedy konnten der Schwede Fritjof Sjöstrand und der Rumäne George Palade mit Hilfe des Elektronenmikroskops den Membranaufbau der Mitochondrien darstellen (2, 3). Sie konnten zeigen, dass die Mitochondrien eine äußere und eine innere Membran besitzen. Die äußere Membran hat Kontakt zum Cytoplasma und zum endoplasmatischen Retikulum. Sie besitzt Transmembranproteine, die sie für viele kleine Moleküle und Ionen durchlässig macht. Die innere Mitochondrienmembran hingegen ist für nahezu alle Ionen und polare Moleküle undurchlässig. Spezifische Protein-Carrier-Moleküle haben hier die Aufgabe Moleküle wie ADP und langkettige Fettsäuren durch die innere Mitochondrienmembran zu transportieren. Durch das Doppelmembransystem entstehen zwei Kompartimente: ein Intermembranraum zwischen äußerer und innerer Membran und die intramitochondriale Matrix, die von der inneren Membran umgeben und begrenzt wird. Dort finden sich neben den schon erwähnten Enzymen des Citratzyklus und der Fettsäureoxidation auch das mitochondriale Genom (mtDNA) und Ribosomen, die der Proteinsynthese dienen.

Die Proteinsynthese in den Mitochondrien unterscheidet sich hinsichtlich ihrer Empfindlichkeit gegenüber verschiedenen Medikamenten von der Eiweißsynthese des Zytoplasmas. So ist die mitochondriale Proteinsynthese durch Antibiotika wie Chloramphenicol, Erythromycin und Tetracycline hemmbar.

Die innere Mitochondrienmembran besteht im Gegensatz zur glatten äußeren Membran aus einer Vielzahl von Einstülpungen, die Cristae genannt werden und der Oberflächenvergrößerung dienen. An der inneren Membran finden sich kleine Poren, die sogenannten Crista Junctions. Hinter diesen Poren weitet sich die innere Mitochondrienmembran zum Eingang in längliche Hohlräume (Crista). Die Crista Junction ist dabei eng genug, um den dahinter liegenden Intracrista-Raum gegen die Matrix hin abzugrenzen. Während des programmierten Zelltodes weiten sich die Poren und geben das in den Cristae gespeicherte Cytochrom C ins Cytosol frei, welches die Apoptose einleitet.

— Calcium synchronisiert die ATP Bereitstellung der Mitochondrien mit der Zellfunktion

Die Ca²⁺-Konzentration außerhalb der Zelle ist 10 000 mal größer als die intrazelluläre Ca²⁺-Konzentration. Der Durchtritt aus dem Extrazellulärraum ins Zellinnere wird durch Calciumkanäle in der Zellmembran gesteuert. Calcium wird intrazellulär gespeichert. Dort ist Calcium ein wichtiger Botenstoff, der extrazelluläre Signale innerhalb der Zelle weiterleitet und zur Steuerung vielfältiger Zellfunktionen dient. Dazu zählen Zellwachstum, Drüsensekretion,

Kontraktion von glatten Muskeln, die Sinneswahrnehmung und die Weiterleitung neuronaler Signale. Oft werden externe Signale in wiederholte Anstiege der cytosolischen Calciumkonzentration übersetzt, die als Calcium-Oszillationen sichtbar gemacht werden können. Im Ruhezustand der Zelle ist Calcium vorwiegend im Endoplasmatischen Retikulum (ER) gespeichert. Als wichtiger sekundärer Botenstoff, der die Ca²⁺-Freisetzung aus dem intrazellulären Speicher veranlasst, fungiert Inositoltriphosphat (IP₃). Die Anregung einer Vielzahl von Plasmamembranrezeptoren führt zur Aktivierung der membrangebundenen Phospholipase C, die durch Spaltung von Phosphatidylinositol-bisphosphat (PIP₂) das Inositoltriphosphat (IP₃) bildet. IP₃ mobilisiert über spezifische Rezeptoren gespeichertes Calcium aus dem endoplasmatischen Retikulum. Dieses wird einerseits von den Mitochondrien aufgenommen und zur Energieerzeugung verwendet, was der Zelle die Beantwortung des extrazellulären Signals ermöglicht, andererseits löst das intrazelluläre freigesetzte Calcium eine erhöhte Aktivität von Calciumkanälen der Plasmamembran aus, was zu einem Calciumeinstrom in die Zelle führt (4). Dieser wird als speicherabhängiger Calciumeinstrom (store-operated calcium entry/ SOCE) bezeichnet.

Die Mitochondrien haben einen großen Einfluß auf den SOCE:

- 1.) Sie nehmen das aus den ER freigewordene Calcium auf. Dies führt zu einer weiteren Entleerung der intrazellulären Calciumspeicher und verstärkt somit den speicherabhängigen Calciumeinstrom in die Zelle.
- 2.) Der Anstieg des intrazellulären Calciums führt als feed back zum Verschluss der speicherabhängigen Calciumkanäle. Die Mitochondrien nehmen intrazellulär einströmende Calciumionen auf, verlangsamen dadurch den Anstieg des intrazellulären Calciums und führen so zu einer Verlängerung des speicherabhängigen Calciumeinstroms (5).

Der lokale Calciumtransfer zwischen angrenzenden Domänen des Endoplasmatischen Retikulums und den Mitochondrien ermöglicht die Freisetzung von Calcium aus dem ER, die Aufnahme von Calcium in die Mitochondrien und einen Anstieg der Calciumkonzentration in der mitochondrialen Matrix. Dort dient Calcium als Aktivator des Citratzyklus und der Oxidativen Decarboxylierung, die Acetyl CoA bereitstellt. Dadurch führt der intramitochondriale Calciumanstieg über verschiedene Schritte zu einer Synchronisation der ATP Bereitstellung mit den Zellfunktionen (6). Calcium vermittelt also extrazelluläre Signale im Zellinneren und sorgt gleichzeitig in den Mitochondrien dafür, dass der Zelle genügend Energie bereitsteht um das Signal zu beantworten.

Andererseits kann die Ausbreitung des Calciumsignals auf die Mitochondrien auch zur Öffnung von Permeabilitäts-Transitions-Poren (PTP) und zur Induktion der Apoptose führen.

Dies geschieht wenn die Calciumfreigabe aus dem ER mit einer Sensibilisierung der PTP einhergeht. Sauerstoff-Radikale und hoch reaktive Sauerstoff-Verbindungen (ROS) vermögen beides: sie haben Einfluß auf die Sensitivität der Calciumkanäle des ER und die PTP der Mitochondrien. Auf diese Weise begünstigen sie die Apoptose (6).

Die Calciumhomöostase der Mitochondrien ist energieabhängig

Die mitochondriale Calcium-Aufnahme erfolgt in 3 Schritten:

- 1) Anlagerung des Calciums vom intrazellulären Calcium-Rezeptor (IP₃-Rezeptor oder Ryanodinrezeptor) an die äußere Mitochondrienmembran,
- 2) Transport durch die äußere Membran in den Inter-membranraum,
- 3) Transport durch die innere Mitochondrienmembran in die Matrix (7).

Zur Aufrechterhaltung der Calciumhomöostase bedarf es nach erfolgter Signalverarbeitung der Ausschleusung des Calciums aus den Mitochondrien ins Cytosol. Es erfordert einen bedeutsamen Energieeinsatz der Mitochondrien um die Calciumionen gegen den elektrochemischen Gradienten der Mitochondrienmembranen aus der Matrix ins Cytosol zu transportieren (8). Innerhalb eines gewissen Toleranzbereiches wird eine erhöhte Calciumkonzentration in den Mitochondrien toleriert, weshalb sie auch als intrazelluläre Calciumspeicher gelten. Sind die Mitochondrien jedoch nicht mehr in der Lage genügend Calcium ins Cytosol zu transportieren um die Homöostase aufrecht zu erhalten, so kommt es zu einem übermäßigen Anstieg der Calciumkonzentration in der Mitochondrienmatrix. Dies gilt als ein wichtiges proapoptotisches Signal, das letztlich den Zelltod einleitet (9).

Bedeutung des mitochondrialen Membranpotentials

Die an der mitochondrialen Innenmembran lokalisierte Atmungskette mit den Enzymkomplexen I bis V und den Protonen- und Elektronenüberträgern Ubichinon und Cytochrom c setzt Protonen und energiereiche Elektronen frei. Die positiv geladenen Protonen werden über die Innenmembran aus der Matrix in den Membranzwischenraum transportiert und bilden mit den negativ geladenen Elektronen an der Innenmembran einen Protonen- und Spannungsgradienten, das mitochondriale Membranpotential. Dieser elektrochemische Protonengradient treibt die ATP-Synthase zur Bildung von ATP an.

Der elektrochemische Protonengradient übt eine Triebkraft aus, die man in Millivolt (mV) messen kann und die etwa 200 mV beträgt. Da die meiste Kraft im mitochondrialen Membranpotential (MMP) gespeichert ist (~140 mV), betrachtet man vereinfachend das MMP als Indikator für den Energiestatus eines Mitochondriums (10).

Die oben beschriebene Anreicherung von Calcium in den Mitochondrien führt durch die damit verbundene Ladungsverteilung zu einer vorübergehenden Depolarisation des MMP (11). Dies macht deutlich, dass zur Regeneration des Membranpotentials der Calciumtransport aus der Matrix notwendig ist. Gelingt dies nicht, so kommt es zu einer nachhaltigen Schädigung des MMP sowie des mitochondrialen und letztlich auch des zellulären Energiehaushaltes.

Doch nicht allein die Höhe der Calciumkonzentration in den Mitochondrien ist von Bedeutung. Auch Cofaktoren wie Stickstoff

(NO) triggern gemeinsam mit Calcium den Zusammenbruch des mitochondrialen Membranpotentials und führen zu einem verzögertem Zelltod (11).

Die Schädigung der Mitochondrien durch potentiell toxische Metalle

Zahnmetalle und andere potentiell toxische Metalle haben vielfältigen negativen Einfluss auf die Aktivität der Mitochondrien, die ATP Synthese und das Energieniveau von Körperzellen.

Potentiell toxische Metalle

- führen zur Bildung von
 - freien Radikalen,
 - reaktiven Stickstoffverbindungen,
 - Peroxinitrit,
- blockieren Calciumkanäle in der Zellmembran,
- stören die intrazelluläre Calciumhomöostase,
- führen zu einem Potentialabfall an der Mitochondrienmembran,
- lösen den mitochondrialen Permeabilitätsübergang (mPT) aus,
- hemmen die Atmungskette,
- führen zur Deletion der mtDNA.

Freie Radikale, reaktive Stickstoffverbindungen und Peroxinitrit

Die Toxizität und Kanzerogenität von Metallen korreliert mit ihrer Eigenschaft freie Sauerstoffradikale (ROS) und reaktive Stickstoffverbindungen (RNS) zu bilden. Verschiedene Modifikationen von DNA-Basenpaaren, eine verstärkte Lipidperoxidation, eine Veränderung des Calcium- und Schwefelgleichgewichtes und eine Störung der ATP-Produktion der Mitochondrien sind Folgen der metallinduzierten ROS-Bildung. Lipidperoxide, die durch den Einfluß von ROS auf mehrfach ungesättigte Fettsäuren entstehen, können mit Metallen reagieren und sowohl mutagene als auch karzinogene Verbindungen bilden (Malondialdehyd, u.a.). Während Eisen, Kupfer, Chrom, Vanadium, und Cobalt mit Hilfe von Metallredoxzyklen ROS und andere Radikale produzieren, führen Quecksilber, Nickel und Cadmium vorwiegend zu einem pathologisch gesteigerten Verbrauch von Glutathion und zu einer Verbindung mit Sulfhydrylgruppen (12).

Miyamoto et al. vom japanischen National Institute for Minimata Disease haben im Jahr 2001 darauf hingewiesen, dass Methylquecksilber den NMDA Rezeptor aktivieren und durch die Bildung von Peroxinitrit neurotoxisch wirken kann. Als Marker für die erhöhte Peroxinitritbildung diente den japanischen Wissenschaftlern die Bestimmung von Nitrotyrosin (13).

In diesem Zusammenhang sind mehrere Untersuchungen aus den 1970er- und 1980er-Jahren von Bedeutung, die nachgewiesen haben, dass Mikroorganismen verschiedenen Ursprungs die Fähigkeit besitzen anorganisches Quecksilber, wie es beispielsweise in Amalgamfüllungen verwendet wird, durch Methylierung in organisches Methylquecksilber zu transformieren.

Diese Fähigkeit besitzen sowohl menschliche Darmbakterien als auch Bakterien, die die Mundhöhle besiedeln (14, 15). Methylquecksilber ist wesentlich stärker toxisch als die anorgani-

schen Quecksilberverbindungen. Dies beruht auf der stärkeren Lipophilie von organischen Methylquecksilberverbindungen, die dadurch leichter in die Zellen aufgenommen werden und stark neurotoxisch sind. Diese Aspekte und die sich daraus ergebenden Konsequenzen für die Toxizität und Neurotoxizität von Quecksilber werden bei der Risikobewertung von quecksilberhaltigen Amalgamzahnfüllungen nicht ausreichend berücksichtigt.

Neben Quecksilber führt Blei zu den häufigsten im menschlichen Körper vorkommenden Schwermetallbelastungen. Die chronische Zufuhr von niedrigen Mengen Blei ist dabei nicht an eine Arbeitsplatzbelastung gebunden, sondern allein schon durch die generelle Umweltextposition möglich. Zu den pathophysiologischen Folgen einer chronisch niedrig dosierten Bleizufuhr zählt auch eine hoch signifikante Zunahme von Nitrotyrosin. Dies wurde an Nierentubuluszellen nachgewiesen und spricht für die Folgen einer bleibedingten Peroxinitritbildung (16). Peroxinitrit entsteht aus der Reaktion von Stickstoff mit dem Superoxidion. Eine chronische niedrig dosierte Bleibelastung führt zur Bildung von ROS und primär zum Verbrauch von NO. Als Folge wird über die Aktivierung der NO-Synthasen (eNOS, iNOS und nNOS) die Stickstoffbildung in Niere, Aorta, Herz, Großhirn und Hirnstamm ausgelöst (17). Somit liefert Blei beide Ausgangssubstrate für die Peroxinitritbildung: das Superoxidion und Stickstoff.

Die Pathologen Reddy, Rao und Norenberg von der Universität Miami entdeckten, dass Kupfer die Nitrotyrosinbildung in Astrozyten und Neuronen erhöht. Sie kommen zu dem Schluss, dass die Neurotoxizität von Kupfer vorwiegend auf der Bildung von oxidativem und nitrosativem Stress beruht. Darüber hinaus entdeckten sie, dass Kupfer in Astrozyten die mitochondriale Permeabilitäts-Transition (mPT) induziert, die die Freisetzung mitochondrialer apoptogener Proteine auslöst und zum programmierten Zelltod führt. Sie machten darauf aufmerksam, dass die Zufuhr von Antioxidantien in den Zellkulturen der Astrozyten die kupferinduzierte mPT verhindern konnte (18).

Den durch Schwermetallen gebildeten freien Radikalen, reaktiven Stickstoffverbindungen und Peroxinitrit wird eine Schlüsselrolle bei der Entstehung sekundärer Mitochondriopathien zugeschrieben, die wiederum als Trigger für viele chronische Krankheiten gelten (19).

Molekulares Mimikry potentiell toxischer Metalle

Essentielle Metalle und Mineralien unterliegen der Homöostase. Proteine regeln ihre Aufnahme aus dem Extrazellulärraum, die Verteilung innerhalb der Zelle und die Abgabe aus der Zelle. Dies dient als Grundlage für die Ladungsverteilung, Informationsweiterleitung und weitere vielfältige spezifische Zellfunktionen. Für potentiell toxische Metalle hingegen ist eine Homöostase innerhalb des Körpers nicht vorgesehen.

Zwischen essentiellen Metallionen und den polyvalenten Kationen potentiell toxischer Metalle bestehen strukturelle Ähnlichkeiten in Bezug auf den Ionenradius, die Konfiguration der Elektronenorbitale und weiterer chemischer Eigenschaften. Dies ermöglicht toxischen Metallen mit unspezifischen Transportproteinen zu reagieren, die eigentlich dazu dienen, die Aufnahme essentieller Elemente in die Zelle zu regulieren. Durch

dieses molekulare Mimikry gelangen Schwermetalle einerseits ins Zellinnere, wo sie grundlegende Zellfunktionen stören, die von einem ausgewogenen Gleichgewicht essentieller Mineralien abhängig sind (20). Andererseits können sie auch über eine Blockade von Membrankanälen den Zellstoffwechsel nachhaltig stören bis hin zum Zelltod. Bei der Einschätzung von Metallen als potentielle Karzinogene hat Karen Wetterhahn Jennette bereits 1981 darauf hingewiesen, dass Cobalt, Nickel und Quecksilber den Platz von Mg, Ca, Fe und Zn einnehmen können und so zum Funktionsverlust von kleinen Molekülen, Enzymen und Nucleinsäuren führen. Sie prägte als erste den Begriff des „ionic mimicri“. Zusätzlich können Co, Ni, Hg-Ionen auch ROS bilden und Zellmembranen/-organellen schädigen (21).

Blei und Quecksilber stören die intrazelluläre Calciumhomöostase

Blei und Quecksilber können sowohl über Calciumkanäle ins Zellinnere gelangen als auch zur hoch effektiven Blockade von Calciumkanälen führen. Dies vermittelt unter anderem die Neurotoxizität dieser beiden Umweltgifte (22). Folge ist eine Veränderung der intrazellulären Calciumkonzentration und eine Schädigung der davon abhängigen Zellfunktionen.

Calcium ist als second messenger wichtig für die biologische Regulation durch Transmitter und Hormone. Es ist beteiligt an der Muskelkontraktion, der Synthese und Sekretion von Neurotransmittern und Hormonen, der Expression von Genen und der Aktivität verschiedener Enzyme. Wird die intrazelluläre Calciumhomöostase gestört, so hat dies auch unmittelbare Auswirkungen auf die Aktivität der Mitochondrien, die zur ATP-Bildung auf Calcium angewiesen sind. Wie bereits ausgeführt führt die Calciumaufnahme in die Mitochondrien zu einer Veränderung des mitochondrialen Membranpotentials (MMP) an der inneren Mitochondrienmembran. Das MMP ist Ausdruck des Energiezustandes der Mitochondrien und von essentieller Bedeutung für deren Funktionsfähigkeit. Die mitochondriale Calciumhomöostase erfordert sowohl ein intaktes MMP als auch eine aktive Calciumabgabe aus der Mitochondrien-Matrix ins Cytosol.

Potentiell toxische Metalle führen zu einem Potentialabfall an der Mitochondrienmembran

Das Schwermetall Cadmium ist ein weit verbreitetes Umweltgift, das im menschlichen Körper eine Halbwertszeit von ca. 10 Jahren besitzt und dementsprechend als Kumulationsgift anzusehen ist. Forscher der Universität Paris haben den Einfluß von Cadmium auf gesunde Leberzellen untersucht. Sie konnten nachweisen, dass die Ursache für die durch Cadmium induzierte Apoptose ein messbarer Potentialabfall an der Mitochondrienmembran ist, der zur Einleitung des programmierten Zelltodes führt (23). Auch russische Wissenschaftler vom St. Petersburger Sechenov Institut für Evolutionsphysiologie und Biochemie weisen darauf hin, dass Mitochondrien Zielorganellen für toxische Schwermetalle sind. In Zellkulturen fanden sie einen Potentialabfall an der Mitochondrien-Membran und eine Hemmung der Atmungskette, der durch Quecksilber ausgelöst wurde. Zudem schädigten Kupfer, Cadmium und Quecksilber die Mitochondrien durch die Produktion von ROS (24).

Auch die chronisch niedrig dosierte Zufuhr von Blei schädigt die Ultrastruktur und den Energiehaushalt von Mitochondrien in einem Stadium, in dem noch keine klinische Zeichen einer Bleivergiftung sichtbar sind (25).

Nanopartikel

Ernst zu nehmen sind auch Beobachtungen, dass Nanopartikel von Titandioxid zu einem Abfall des mitochondrialen Membranpotentials in menschlichen Lymphozyten führen, was darauf hinweist, dass auch Nano-TiO₂ durch die Schädigung der Mitochondrien die Apoptose induziert (26). Titandioxid findet Verwendung als Zusatzstoff E171, der Medikamenten, Mineralpräparaten, Zahncreme und Lebensmitteln einen „weißen Glanz“ verleiht. Neben Titan findet in der Nanotechnologie auch Silber Verwendung. Silber-Nanopartikel werden aufgrund ihrer antimikrobiellen Eigenschaften zunehmend in Wundverbänden, Kathetern und verschiedenen Haushaltsgegenständen eingesetzt. Untersuchungen an menschlichen Zellkulturen, die Kontakt mit Nano-Silberpartikeln hatten, zeigten eine dosisabhängige Reduzierung der ATP-Synthese, eine erhöhte ROS-Bildung und DNA-Schäden. Dies gab den untersuchenden Wissenschaftlern Anlass zur Hypothese, dass die Toxizität von Silber-Nanopartikeln primär durch die Störung der mitochondrialen Atmungskette, die daraus resultierende Bildung von freien Sauerstoffradikalen und die Unterbrechung der ATP Synthese ausgelöst wird, was in Folge zur Schädigung der Zellkern-DNA führt (27).

Wenn isolierte menschliche Lymphozyten mit Nickelsulfid behandelt werden, dann kann ein zeit- und dosisabhängiges Absterben der Lymphozyten beobachtet werden. Die Mechanismen die den Zelltod einleiten, beruhen auf der Produktion von freien Sauerstoffradikalen, einer Störung des mitochondrialen Membranpotentials und einer Destabilisierung der intrazellulären Calcium-Homöostase. Das Absterben der Lymphozyten kann durch Radikalfänger und Metallchelatoren verhindert werden (28).

Bei der Erforschung der pathophysiologischen Grundlagen des Morbus Alzheimer gibt es Hinweise darauf, dass Beta-Amyloid-Oligomere eine höhere neurotoxische Potenz besitzen als Monomere oder Fibrillen. Die Beta-Amyloid-Aggregation über verschiedene Zwischenstufen wie Oligomere, Protofibrillen und Fibrillen zu den Amyloiden Plaques, sind ein histopathologisches Kennzeichen der Erkrankung und werden erheblich durch Aluminium-, Kupfer-, Eisen- und Zink-Ionen beeinflusst, die in hoher Konzentration in den senilen Plaques gefunden werden. Die Entkopplung der Calciumhomöostase und die mitochondriale Dysfunktion sind dabei starke Trigger für ein Absterben der Neuronen, das Grundlage für die Erkrankung ist (29).

Der mitochondriale Permeabilitätsübergang (mPT)

Die innere und äußere Mitochondrienmembran sind besonders anfällig gegenüber oxidativem Stress, der zu strukturellen und molekularen Schädigungen und einer veränderten Membranpermeabilität führt. Während die Innenmembran etwas unempfindlicher ist, treten in der Außenmembran häufig irreversible Schäden und Rupturen auf, die ein Freisetzen von Proteinen aus

dem Intermembranraum und schließlich ein Absterben der Zellen zur Folge haben (30).

Neben oxidativem Stress führt auch Peroxynitrit zum Öffnen der mitochondrialen Proteinporen und zum mitochondrialen Permeabilitätsübergang (MPT), der zu strukturellen und funktionellen Veränderungen der Mitochondrien und letztlich zur Ruptur der Außenmembran führt (30, 31).

Auch bei einer sehr hohen Calciumkonzentration in der Mitochondrienmatrix kommt es zum MPT, der mit der Öffnung von Proteinporen einhergeht, und zu einem Ausströmen der mitochondrialen Calciumionen und weiterer Moleküle führt (32). Dadurch kommt es zu einem Absinken des mitochondrialen Membranpotentials (MMP), zu einer Entkopplung der Atmungskette von der ATP-Produktion, zu einem Anschwellen der Matrix und zu einer Ruptur der äußeren Mitochondrienmembran. Über diesen Weg kann die Schädigung der Mitochondrien neben der Apoptose auch zu einem Zelltod durch Nekrose führen (33).

Untersuchungen an Leberzellen haben gezeigt, dass Kupfer zur Bildung von ROS, zur Störung der Calciumhomöostase, zum Absinken des MMP führt und den mitochondrialen Permeabilitätsübergang induziert (34).

Auch Cadmium und Quecksilber können an isolierten Mitochondrien aus Leberzellen dosisabhängige Schäden auslösen, die zu einer erhöhten Durchlässigkeit der Mitochondrienmembran, zu einer Hemmung der Atmungskette und zu einem Absinken des MMP führen (35).

Wissenschaftler der Universität Toronto haben den Einfluss von ökotoxikologisch bedeutsamen Schwermetallen auf die Schädigung von Leberzellmitochondrien untersucht. Sie entdeckten, dass ROS-Scavenger (Antioxidantien) in Kombination mit Substanzen, die den mitochondrialen Permeabilitätsübergang (MPT) verhindern können (z.B. Carnitin), in der Lage sind, Hepatozyten vor der durch Cadmium (Cadmiumchlorid) und Chrom (Kaliumdichromatlösung) induzierten Lyse zu schützen (36).

Die schädigende Wirkung von Blei auf Photorezeptorzellen der Retina, beruht auf einer Schädigung der Mitochondrien, die auch bei intramitochondrialem Calciumüberschuss ausgelöst wird: die Öffnung der mitochondrialen Proteinporen führt zum mitochondrialen Permeabilitätsübergang (MPT) und zur Apoptose der Sinneszellen (37).

In diesem Zusammenhang sind Beobachtungen interessant, die eine protektive und regenerative Wirkung von Na-EDTA bei der altersbedingten Maculadegeneration beschrieben haben (38). Dies mag auf der Fähigkeit von Na-EDTA beruhen, sowohl Blei als auch freie Calciumionen zu binden.

Neben Kupfer, Quecksilber, Blei, Cadmium und Chrom können auch Thallium, Silber, Arsen, und Aluminium mitochondriale Proteinporen öffnen und den mitochondrialen Permeabilitätsübergang induzieren (39-42). Da Schwermetalle häufig über gleiche oder ähnliche Pathomechanismen schädigend auf den Körper einwirken, ergeben sich vielfältige Wechselwirkungen, denen man durch die isolierte Bewertung einzelner Metalle nicht gerecht werden kann. So haben ungarische Wissenschaftler darauf hingewiesen, dass ungiftige Mengen (NOEL) von Pb

kombiniert mit Hg oder Cd toxische Wirkungen zeigen. Nach ihrer Ansicht weist dies darauf hin, dass Grenzwerte bei der Exposition gegenüber einer Kombination von Wirkstoffen wirkungslos sein können (43). Dies ist von besonderer Bedeutung für die Humanmedizin, da der menschliche Organismus in der Regel jeden Tag nicht nur mit einem, sondern mit mehreren potentiell toxischen Metallen in Kontakt kommt.

Deletion der mtDNA

Eine Besonderheit der Mitochondrien besteht in ihrer eigenen ringförmigen DNA (mtDNA), die unabhängig von der Zellkern DNA existiert. Sie enthält Gene für die Enzyme der Atmungskette und für die Struktur und Reproduktion der Mitochondrien. Die mtDNA weist im Vergleich zur Zellkern DNA eine 10 - 100 mal höhere Mutationsrate auf. Gleichzeitig ist das Reparatursystem der mtDNA deutlich weniger effektiv als die Reparaturenzyme im Zellkern. Daraus ergibt sich eine höhere Anfälligkeit der mtDNA gegenüber Sauerstoffradikalen und reaktiven Stickstoffverbindungen. Die geschädigte und mutierte mtDNA produziert abnorme Cytochrome. Dadurch kommt es zu einer Störung des Elektronentransportes und zu einer Verringerung der ATP-Produktion (44).

Da einige Zahnmetalle und andere potentiell toxische Metalle in der Lage sind ROS und RNS zu bilden, ist es mehr als wahrscheinlich, dass sie über diesen Weg auch Deletionen der mtDNA auslösen können.

Japanische Wissenschaftler erforschen die Hintergründe der „Itai-Itai“-Krankheit, die durch chronische Cadmiumbelastung von Wasser und Reis entsteht und zur Schädigung der Nierentubuli, zu Störungen im Mineral- und Vitamin-D-Haushalt und zur sehr schmerzhaften Osteomalazie führt. Sie entdeckten, dass Cadmium eine Deletion der mtDNA verursacht. Betroffen waren dabei DNA-Regionen an denen die Gene für die ATPase und die Cytochromoxidase lokalisiert sind. Dies unterscheidet die durch Cadmium verursachten Deletionen von denjenigen, die durch physiologische Alterungsprozesse entstehen und an anderen Stellen der mtDNA auftreten. Durch Cadmium bedingte mtDNA-Deletionen sind nach Ansicht der japanischen Pathologen der erste Schritt zur Schädigung der proximalen Tubuli, der letztlich zur Osteomalazie führt, die für die Itai-Itai-Erkrankung typisch ist (45).

Sideroblastische Anämien (SA) sind charakterisiert durch die Akkumulation von Eisen in den Mitochondrien. Hämatologen der Universität Genf haben bei einem Jungen, der an einer SA erkrankt war, typische Anzeichen für eine Mitochondropathie erkannt. Er litt an einer metabolischen Azidose, Muskelschwäche und neurologischen Beschwerden. Bei der Untersuchung des Knochenmarks fanden die Ärzte eine neue Deletion der mtDNA, die sie auf die intramitochondriale Eisenanreicherung zurückführten (46).

Zusammenfassung

Mitochondrien sind von essentieller Bedeutung für die Energiebereitstellung, die es der Körperzelle erst ermöglicht, ihre physiologische Funktion auszuüben. Durch die enge Verbindung zwischen der intrazellulären Calciumkonzentration und der

Mitochondrienaktivität ist die ATP-Produktion mit der Informationsweiterleitung und der Beantwortung extrazellulärer Signale gekoppelt. Störungen der Calciumhomöostase sind auf Dauer mit dem Überleben der Zelle nicht vereinbar. Ein intramitochondrialer Calciumüberschuss führt über mehrere pathophysiologische Schritte zum Zelltod durch Apoptose oder Nekrose. Potentiell toxische Metalle können die Aktivität der Mitochondrien durch die Bildung von freien Radikalen, reaktiven Stickstoffverbindungen und Peroxinitrit, die Blockade von Calciumkanälen in der Zellmembran und die Störung der intrazellulären Calciumhomöostase schädigen. Dies führt zu sekundären Mitochondriopathien oder zum Absterben der Zelle. Der Einsatz von geeigneten Chelatbildnern, Antioxidantien und NO-Scavengern kann diesen Pathomechanismus unterbrechen. Dies eröffnet neue Möglichkeiten zur Prävention und Therapie von chronischen Krankheiten, die auf einer Dysfunktion der Mitochondrien beruhen.

Kontakt:

Peter Jennrich
 Facharzt für Allgemeinmedizin, Naturheilverfahren
 Wissenschaftlicher Beirat der Ärztesellschaft für Klinische Metalltoxikologie
 Medizinischer Berater des International Board of Clinical Metal Toxicology
 Marienstr. 1
 97070 Würzburg
 peter_jennrich@yahoo.de

Nachweise

- (1) KENNEDY EP, LEHNINGER AL. (1950): The products of oxidation of fatty acids by isolated rat liver mitochondria. *J. Biol. Chem.* 185(1): 275-285.
- (2) SJOSTARND FS. (1953): Electron microscopy of mitochondria and cytoplasmic double membranes. *Nature* 171(4340): 30-32.
- (3) PALADE GE. (1953): An electron microscope study of the mitochondrial structure. *J Histochem Cytochem* 1(4): 188-211.
- (4) PUTNEY JW, BIRD GS. (2008): Cytoplasmic calcium oscillations and store-operated calcium influx. *J Physiol (England)* 586(13): 3055-3059.
- (5) PAREKH AB. (2008): Mitochondrial regulation of store-operated CRAC channels. *Cell Calcium (Scotland)* 44(1): 6-13.
- (6) HAJNOCZKY G, CSORDAS G, DAS S., et al. (2006): Mitochondrial calcium signalling and cell death: approaches for assessing the role of mitochondrial Ca²⁺ uptake in apoptosis. *Cell Calcium (Scotland)* 40(5-6): 553-560.
- (7) HAJNOCZKY G, CSORDAS G, YI M. (2002): Old players in a new role: mitochondria-associated membranes, VDAC, and ryanodine receptors as contributors to calcium propagation from endoplasmic reticulum to the mitochondria. *Cell Calcium (Scotland)* 32(5-6): 363-377.
- (8) GUNTER TE, PFEIFFER DR. (1990): Mechanisms by which mitochondria transport calcium. *Am J Physiol (United States)* 258(5 Pt 1): C755-786.
- (9) RIZZUTO R, BERNARDI P, POZZAN T. (2000): Mitochondria as all-round players of the calcium game. *J Physiol (England)* 529(Pt 1): 37-47.
- (10) TISCHLEDER A. (2008): Untersuchung des mitochondrialen Membranpotentials und der Apoptoserate peripherer mononukleärer Blutzellen HIV-positiver, bisher nicht antiretroviral behandelter Patienten. Dissertation zum Erwerb des Doktorgrades der Humanbiologie an der Medizinischen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität zu München.
- (11) DUCHEN MR. (2000): Mitochondria and calcium: from cell signalling to cell death. *J Physiol (England)* 529(Pt 1): 57-68.

- (12) VALKO M, MORRIS H, CRONIN MT. (2005): Metals, toxicity and oxidative stress. *Curr Med Chem (Netherlands)* 12(10): 1161-1208.
- (13) MIYAMOTO K, NAKANISHI H, MORIGUCHI S, et al. (2001): Involvement of enhanced sensitivity of N-methyl-D-aspartate receptors in vulnerability of developing cortical neurons to methylmercury neurotoxicity. *Brain Res (Netherlands)* 901(1-2): 252-258.
- (14) ROWLAND IR, GRASSO P, DAVIES MJ. (1975): The methylation of mercuric chloride by human intestinal bacteria. *Experientia (Switzerland)* 31(9): 1064-1065.
- (15) HEINTZE U, EDWARDSOON S, DERAND T, et al. (1983): Methylation of mercury from dental amalgam and mercuric chloride by oral streptococci in vitro. *Scand J Dent Res (Denmark)* 91(2): 150-152.
- (16) RODRIGUEZ-ITURBE B, SINDHU RK, QUIROZ Y, et al. (2005): Chronic exposure to low doses of lead results in renal infiltration of immune cells, NF-kappaB activation, and overexpression of tubulointerstitial angiotensin II. *Antioxid Redox Signal (United States)* 7(9-10): 1269-1274.
- (17) VAZIRI ND, DING Y, NI Z. (2001): Compensatory up-regulation of nitric-oxide synthase isoforms in lead-induced hypertension; reversal by a superoxide dismutase-mimetic drug. *J Pharmacol Exp Ther (United States)* 298(2): 679-685.
- (18) REDDY PV, RAO KV, NORENBURG MD. (2008): The mitochondrial permeability transition, and oxidative and nitrosative stress in the mechanism of copper toxicity in cultured neurons and astrocytes. *Lab Invest (United States)* 88(8): 816-830.
- (19) KUKLINSKI B. (2010): Mitochondriale Cytopathien als Trigger für Multimorbidität. <http://www.dr-kuklinski.info/publikationen/mitochondriale-cytopathien.pdf> [letzter Zugriff: 21.1.2010].
- (20) BALLATORI N. (2002): Transport of toxic metals by molecular mimicry. *Environ Health Perspect (United States)* 110(Suppl 5): 689-694.
- (21) JENNETTE KW. (1981): The role of metals in carcinogenesis: biochemistry and metabolism. *Environ Health Perspect (United States)* 40: 233-252.
- (22) ATCHISON WD. (2003): Effects of toxic environmental contaminants on voltage-gated calcium channel function: from past to present. *J Bioenerg Biomembr (United States)* 35(6): 507-522.
- (23) LASFER M, VADROT N, AOUDJEHANE L, et al. (2008): Cadmium induces mitochondria-dependent apoptosis of normal human hepatocytes. *Cell Biol Toxicol (Netherlands)* 24(1): 55-62.
- (24) BELYAEVA EA, DYMKOWSKA D, WIECKOWSKI MR, et al. (2008): Mitochondria as an important target in heavy metal toxicity in rat hepatoma AS-30D cells. *Toxicol Appl Pharmacol (United States)* 231(1): 34-42.
- (25) MARCHLEWICZ M, BARANOWSKA-BOSIACKA I, KOLASA A, et al. (2009): Disturbances of energetic metabolism in rat epididymal epithelial cells as a consequence of chronic lead intoxication. *Biometals (Netherlands)* 22(6): 877-887.
- (26) KANG SJ, KIM BM, LEE YJ, et al. (2009): Titanium dioxide nanoparticles induce apoptosis through the JNK/p38-caspase-8-Bid pathway in phytohemagglutinin-stimulated human lymphocytes. *Biochem Biophys Res Commun (United States)* 386(4): 682-687.
- (27) ASHA RANI PV, LOW KAH MUN G, HANDE MP, et al. (2009): Cytotoxicity and genotoxicity of silver nanoparticles in human cells. *ACS Nano (United States)* 3(2): 279-290.
- (28) M'BEMBA-MEKA P, LEMIEUX N, CHAKRABARTI SK. (2006): Role of oxidative stress, mitochondrial membrane potential, and calcium homeostasis in nickel sulfide-induced human lymphocyte death in vitro. *Sci Total Environ (Netherlands)* 369(1-3): 21-34.
- (29) DRAGO D, CAVALIERE A, MASCETRA N, et al. (2008): Aluminum modulates effects of beta amyloid(1-42) on neuronal calcium homeostasis and mitochondria functioning and is altered in a triple transgenic mouse model of Alzheimer's disease. *Rejuvenation Res (United States)* 11(5): 861-871.
- Leitung: Hans Zischka
- (30) INSTITUT FÜR TOXIKOLOGIE (2010): Oxidativer Zelltod: das Mitochondrium. <http://www.helmholtz-muenchen.de/toxi/arbeitsgebiete/oxidativer-zelltod/ag-zischka/hintergrund/index.html> [letzter Zugriff: 21.1.2010].
- (31) BROOKES PS, DARLEY-USMAR VM. (2004): Role of calcium and superoxide dismutase in sensitizing mitochondria to peroxynitrite-induced permeability transition. *Am J Physiol Heart Circ Physiol (United States)* 286(1): H39-46.
- (32) SULLIVAN PG, RABCHEVSKY AG, WALDMEIER PC, et al. (2005): Mitochondrial permeability transition in CNS trauma: cause or effect of neuronal cell death? *J Neurosci Res (United States)* 79(1-2): 231-239.
- (33) SCHINZEL AC, TAKEUCHI O, HUANG Z, et al. (2005): Cyclophilin D is a component of mitochondrial permeability transition and mediates neuronal cell death after focal cerebral ischemia. *Proc Natl Acad Sci U S A (United States)* 102(34): 12005-12010.
- (34) KRUMSCHNABEL G, MANZL C, BERGER C, et al. (2005): Oxidative stress, mitochondrial permeability transition, and cell death in Cu-exposed trout hepatocytes. *Toxicol Appl Pharmacol (United States)* 209(1): 62-73.
- (35) BELYAEVA EA, GLAZUNOV VV, KOROTKOV SM. (2004): Cd²⁺-promoted mitochondrial permeability transition: a comparison with other heavy metals. *Acta Biochim Pol (Poland)* 51(2): 545-551.
- (36) POURAHMAD J, MIHAJLOVIC A, O'BRIEN PJ. (2001): Hepatocyte lysis induced by environmental metal toxins may involve apoptotic death signals initiated by mitochondrial injury. *Adv Exp Med Biol (United States)* 500: 249-252.
- (37) HE L, POBLENZ AT, MEDRANO CJ, et al. (2000): Lead and calcium produce rod photoreceptor cell apoptosis by opening the mitochondrial permeability transition pore. *J Biol Chem (United States)*, 275(16): 12175-12184.
- (38) JENNRICH P. (2009): Die altersbedingte Makuladegeneration. Unkonventionelle Therapiemöglichkeiten mit EDTA-Chelat-Therapie. *CO`MED 08/09*: 8-11.
- (39) KOROTKOV SM. (2009): Effects of TI(+) on ion permeability, membrane potential and respiration of isolated rat liver mitochondria. *J Bioenerg Biomembr (United States)* 41(3): 277-287.
- (40) ALMOFTI MR, ICHIKAWA T, YAMASHITA K, et al. (2003): Silver ion induces a cyclosporine a-insensitive permeability transition in rat liver mitochondria and release of apoptogenic cytochrome c. *J Biochem (Japan)* 134(1): 43-49.
- (41) ZHENG Y, SHI Y, TIAN C, et al. (2004): Essential role of the voltage-dependent anion channel (VDAC) in mitochondrial permeability transition pore opening and cytochrome c release induced by arsenic trioxide. *Oncogene (England)* 23(6): 1239-1247.
- (42) TONINELLO A, CLARI G, MANCON M, et al. (2000): Aluminum as an inducer of the mitochondrial permeability transition. *J Biol Inorg Chem (Germany)* 5(5): 612-623.
- (43) INSTITORIS L, KOVACS D, KECSKEMETI-KOVACS I, et al. (2006): Immunotoxicological investigation of subacute combined exposure with low doses of Pb, Hg and Cd in rats. *Acta Biol Hung (Hungary)* 57(4): 433-439.
- (44) LINNANE AW, ZHANG C, BAUMER A, et al.: (1992): Mitochondrial DNA mutation and the ageing process: bioenergy and pharmacological intervention. *Mutat. Res.* 275(3-6): 195-208.
- (45) TAKEBAYASHI S, JIMI S, SEGAWA M, et al. (2003): Mitochondrial DNA deletion of proximal tubules is the result of itai-itai disease. *Clin Exp Nephrol (Japan)* 7(1): 18-26.
- (46) MATTHES T, RUSTIN P, TRACHSEL H, et al. (2006): Different pathophysiological mechanisms of intramitochondrial iron accumulation in acquired and congenital sideroblastic anemia caused by mitochondrial DNA deletion. *Eur J Haematol (Denmark)* 77(2): 169-174.