

Mitochondriale Dysfunktion - Eine aktuelle Übersicht

Wilfried P. Bieger

Zu unterscheiden sind die Mitochondriopathien, seltene hereditäre oder erworbene somatische Mutationen der mitochondrialen oder nukleären DNA (engl. Deoxyribonucleic Acid; dtsh. Desoxyribonukleinsäure - DNS) und die Mitochondriale Dysfunktion, die durch reversible oder irreversible Inaktivierung mitochondrialer Enzymsysteme bzw. Schädigung mitochondrialer Funktionskomplexe durch Stickstoff-Sauerstoff- bzw. Sauerstoff-Radikale (NOS/ROS) entsteht. Mitochondriopathien führen zur progressiven Inaktivierung der Atmungskette und der anderen mitochondrialen Funktionen und in der Folge zu schwerwiegenden Neuropathien, Enzephalopathien, Kardio-/Myopathien und Endokrinopathien. Die vielfach häufigere mitochondriale Dysfunktion wird heute bei zahllosen Erkrankungen intensiv diskutiert und als wichtiger Teil des Krankheitsgeschehens erkannt.

In Folgenden werden Genetik und Pathophysiologie der mitochondrialen Störungen dargestellt, die diagnostischen Möglichkeiten und Ansätze der Mitochondrientherapie diskutiert.

Schlüsselwörter: Mitochondriopathie, Mitochondriale Dysfunktion, Genetik, Atmungskette, ROS, NOS, Peroxynitrit, Glutathion

Einführung

Mitochondrien sind subzelluläre Organellen mit doppelter Membran, die sich aus ursprünglich autonomen bakteriellen Organismen entwickeln und die Energieversorgung der Zellen übernommen haben. Die äußere Membran der Mitochondrien ist für kleine bis mittelgroße Moleküle durchlässig, für die Passage der inneren Membran sind spezifische Transporter erforderlich. Nach der Integration in eukaryotische Zellen hat sich eine perfekte Symbiose entwickelt, die zu engster Verflechtung des mitochondrialen mit dem eukaryontischen Genom geführt hat. 1963 wurde entdeckt, dass Mitochondrien eine eigene DNA haben (NASS & NASS 1963). Das mitochondriale Genom wird in der Regel ausschließlich mütterlicherseits vererbt. Väterliche Mitochondrien werden frühzeitig nach der Konzeption eliminiert. Die Strukturaufklärung hat gezeigt, dass das eigene mitochondriale Genom als doppelsträngiges, zirkuläres Molekül in bis zu 10 Kopien in jedem Mitochondrion vorliegt, was bis zu 100.000 mtDNA Kopien pro Zelle ausmachen kann. Es kodiert 13 Proteine der Respirationskette, 2 ribosomale RNAs und 22 Transfer-RNAs. Die Mehrzahl der mitochondrialen Proteine wird jedoch über die zelluläre DNA kodiert.

Die wichtigsten mitochondrialen Funktionen sind:

- Energieproduktion
- Calciumspeicher
- Aktivierung der Immunabwehr
- Zellproliferation, Apoptose
- Regulation des zellulären Metabolismus
- Steroidsynthese

Mitochondriopathien

Mitochondrien können sich unabhängig vom Zellzyklus vermehren, sich teilen oder auch fusionieren und u.U. lange Ketten fusionierter Mitochondrien bilden („Fission and Fusion“). Normalerweise sind alle Kopien der Mitochondrien in einer Zelle identisch. Spontane Mutationen können einen oder beide Stränge des mtDNA-Doppelstrangs betreffen und im Rahmen mitochondrialer Neusynthese weitergegeben werden. In der Regel kommt es in weiteren Teilungszyklen zu ungleicher Verteilung der Mutation(en), die als Punktmutationen oder Rearrangements (Deletionen oder Duplikationen) auftreten. Die Mitochondrien einer Zelle können daher alle identisch sein (Homoplasmie) oder

aus variablen Mischungen normaler und mutierter mtDNA bestehen (Heteroplasmie). Homoplastische Mutationen maternaler Mitochondrien werden voll vererbt, heteroplasmische dagegen nur in einem geringen Prozentsatz. Väter mit mitochondrialen Mutationen vererben diese nicht. Homoplastische mütterliche Mutationen werden zwar 100 %ig vererbt, die entsprechenden Erkrankungen treten jedoch nur bei maximal 50 % der Nachkommen auf, da offensichtlich die über die nukleäre DNA kodierten Faktoren mit ausschlaggebend sind.

Die erste angeborene mitochondriale DNA-Mutation wurde vor 20 Jahren entdeckt (SHADEL 2008). Eine Mutation im Gen der Leucin-transferRNA ist verantwortlich für das MELAS-Syndrom mit Enzephalomyopathie, Lactacidose und intermittierenden Hemiparesen, die in der Kindheit einsetzen. Seitdem sind bis heute 300 weitere angeborene Mitochondriopathien unterschiedlichen Schweregrades entdeckt worden und ein Ende ist nicht absehbar (KOOPMANN et al. 2012). Bei den klinischen Manifestationen ist das zentrale Nervensystem besonders häufig betroffen. Zu den neurologischen Erscheinungen zählen Optikusatrophie, Ataxie, Epilepsien, Paresen, Taubheit, Sprachstörungen, zentrale Fatigue, Demenz, und motorische Störungen, die alle wegen der meist ungleichen Verteilung mitochondrialer Mutationen in sehr unterschiedlicher Stärke auftreten können. Daneben auch gastrointestinale Störungen wie Reizdarm, Obstipation, Schluckstörungen; kardiale Komplikationen wie Herzfehler, Kardiomyopathien, Arrhythmien; endokrine Störungen wie Schilddrüsenerkrankungen, Diabetes, Parathyreoidismus, Infertilität; vor allem bei Kindern auch renale und hepatische Komplikationen, Anämie, Panzytopenie, Addison, Dystonie, Dysphagie, Ophthalmoplegie.

Ebenso wie das mitochondriale Genom kann auch das nukleäre Genom von Mutationen betroffen sein und - soweit mitochondriale Funktionen kodiert werden - ähnliche Auswirkungen haben, allerdings seltener als die Mutationen der mtDNA. Erkrankungen, bei denen Defekte nukleärer Gene zur Beeinträchtigung mitochondrialer Funktionen führen, sind die Friedreich Ataxie, Morbus Wilson, die spastische Paraplegie oder hereditäre CoQ10-Mangelsyndrome. Bei einer wachsenden Zahl von Erkrankungen wird angenommen, dass Umweltfaktoren mit hereditär prädisponierenden mitochondrialen Funktionsstörungen zur späteren Manifestation von Erkrankungen führen können. Hierzu werden z.B. Parkinson, Alzheimer, Schizophrenie, bipolare Erkrankungen, Diabetes mellitus, kardiovaskuläre Erkrankungen oder Retinitis pigmentosa gerechnet. Ein besonders relevanter Mechanismus ist die Aktivierung von „Uncoupling Proteinen“ (UCP's) durch mitochondriale ROS (reaktive Sauerstoffspezies), die Verlust von Protonen und verminderte ADP/ATP-Translokation zur Folge hat. Die Entkopplung der Mitochondrien erhöht deren Sauerstoffbedarf und in der Folge wiederum den Anfall von ROS, was in einen sog. „vicious cycle“ (= Teufelskreis) mündet (PALL 2007).

Während man anfangs lange dachte, dass die angeborenen mtDNA-Mutationen seltene klinische Kuriositäten sind, weiß man heute, dass sie im Einzelfall bis zu 1 von 3.500 Personen betreffen. Wegen der komplizierten genetischen Verhältnisse der Mitochondrien sind viele mtDNA-Mutationen lange übersehen worden. Inzwischen wird selbst bei Volkskrankheiten wie

Bluthochdruck (Hypertonus), Koronare Herzkrankheit (KHK) oder Diabetes mellitus die Beteiligung mitochondrialer Mutationen angenommen (TAYLOR & TURNBULL 2005).

Neben der wachsenden Zahl hereditärer Mitochondriopathien gibt es die erworbenen Mutationen der mtDNA, über deren Häufigkeit sehr unterschiedliche Auffassungen bestehen. Erworbene Mutationen nehmen mit dem Alter zu, wobei in erster Linie oxidative Metaboliten für bleibende DNA-Schäden verantwortlich gemacht werden. Die „Mitochondrial Theory of Ageing“ wurde bereits in den 1950er Jahren postuliert (HARMAN 1956, 1992), der erste Beleg für derartige erworbene Mutationen mit biochemischer Relevanz wurde dann 1989 erbracht, als erstmals Cytochrom C-Defekte in postmitotischen Zellen nachgewiesen wurden (DINAUER et al. 1989). In der Regel sind diese erworbenen Mutationen nur sporadisch verteilt und ohne oder nur von geringer klinischer Bedeutung. In einigen Fällen kann es jedoch offensichtlich zu klonaler Expansion mutierter Mitochondrien kommen, z.B. durch selektive Replikation oder längere Überlebensdauer mutierter Mitochondrien. Dies wurde z.B. in Tumorzellen nachgewiesen. Sowohl Leukämien als auch solide Tumoren weisen klonal expandierte mtDNA-Mutationen bis zur Homoplasie auf. Im Alter kann es in einigen Geweben (*Substantia nigra*) und Stammzellen zur Akkumulation von mtDNA-Mutationen kommen (NEKHAEVA et al. 2002). Man geht heute davon aus, dass erworbene Mutationen am Alterungsprozess beteiligt sind. Allerdings scheint die Rate mitochondrialer Mutationen nach aktuellen Schätzungen insgesamt extrem gering zu sein, nur maximal 0,2 % wurden in sehr alten Zellen gefunden. Es bleibt letztlich offen, ob die „Häufung“ mitochondrialer Mutationen im Alter ursächlich oder nur ein paralleles Phänomen ist (DE GREY 2004).

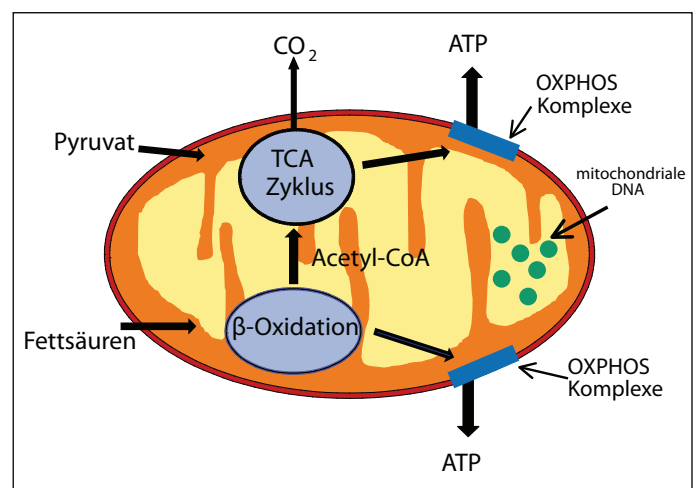


Abb. 1: Mitochondrialer Energiemetabolismus

Durch den oxidativen Metabolismus von Fettsäuren (β -Oxidation) und Kohlehydraten (Zucker; Glycolyse) im mitochondrialen Zitronensäurezyklus (TCA) werden die reduzierenden Äquivalente NADH und FADH₂ generiert. Die Oxidation dieser Substrate zu NAD⁺ und FA D⁺ liefert Elektronen, die entlang der Atmungskette (Komplex I - V) transportiert werden und in Komplex IV Sauerstoff zu H₂O reduzieren. Die Wasserstoffionen (H⁺) aus NADH/FADH₂ generieren einen elektrochemischen Gradienten entlang der inneren Mitochondrienmembran, der die treibende Kraft der ATP-Synthase zur ATP-Bildung in Komplex V liefert. Abk.: ATP = Adenosintriphosphat; OXPHOS = Oxidative Phosphorylierung, TCA Zyklus = tricarboxylic acid cycle, Tricarbonsäure-Zyklus, Acetyl-CoA = Acetyl Coenzym A

Mitochondrien sind vor allem die Kraftwerke der Zelle (siehe Abb. 1). Sie liefern 90 % der zellulären Energie unter Reduktion des Sauerstoffs der Atmung über die Atmungskette (Komplex I – V) unter Mitwirkung von Vitamin B₁ (Thiamin), B₂ (Riboflavin), B₃ (Niacin), K1 und C zu Wasser. Über den Zitronensäurezyklus (TCA-Zyklus, Krebs-Zyklus) werden aus dem Abbau von Fettsäuren und Glucose (und Aminosäuren) die Reduktionsäquivalente beigesteuert. Die bei diesen Reaktionsschritten gewonnene Energie wird zur oxidativen Phosphorylierung von ADP zu ATP (Komplex V der Atmungskette: ATP-Synthase) eingesetzt. Glucose wird zu Pyruvat umgewandelt, das aktiv über die innere Mitochondrienmembran in die Matrix der Mitochondrien transportiert wird und durch den PDH-(Pyruvatdehydrogenase)-Komplex oxidiert und mit Coenzym-A gekoppelt wird, wobei NADH (Niacin) und CO₂ anfallen. Calcium, Magnesium und Thiamin sind essentiell für die PDH-Wirkung. Sehr langkettige Fettsäuren werden zunächst in Peroxisomen zu kurzkettigen Fettsäuren abgebaut, wobei prooxidatives H₂O₂ anfällt. Kürzerkettige Fettsäuren werden im Zytoplasma unter ATP-Verbrauch zu AcylCoA aktiviert, das dann auf Carnitin übertragen wird und über das Carnitin-Acylcarnitin-Transportersystem (Carnitin-Acyltransferase 1 und 2 der äußeren und inneren Mitochondrienmembran) aktiv in die mitochondriale Matrix transportiert wird. Der Acyl-Rest wird wieder an CoA gekoppelt und freies Carnitin über den gleichen Weg ins Zytoplasma rücktransportiert. Anschließend erfolgt die β -Oxidation der unterschiedlich langkettigen Acyl-CoA's mit Abbau zu Acetyl-CoA, wobei FADH₂ (Riboflavin) und NADH gewonnen werden. Acetyl-CoA wird dann im Krebszyklus zu CO₂ reduziert, wobei wieder NADH und FADH₂ entstehen. Bei mangelnder Kapazität des TCA-Zyklus für die Acetyl-CoA Verwertung werden vermehrt Ketonkörper gebildet. Während beim aeroben Glucoseabbau 32 Moleküle ATP gewonnen werden, liefert die β -Oxidation (inklusive TCA-Zyklus) insgesamt 106 ATP.

Wenn die Sauerstoffzufuhr eingeschränkt ist, wird Pyruvat vermehrt außerhalb der Mitochondrien durch anaerobe Fermentation zu Milchsäure abgebaut. Die aerobe, mitochondriale ATP-Gewinnung ist allerdings 13fach effektiver als der anaerobe Weg. Auch bei Funktionseinbuße des Pyruvatdehydrogenase-Enzymkomplexes oder des Pyruvat-Transporters kommt es zum Pyruvat-Rückstau im Zytoplasma und erhöhter Lactatbildung. Bei erhöhtem Energiebedarf wird ebenfalls der Pyruvat-Lactatweg stärker benutzt, da die anaerobe ATP-Gewinnung zwar weniger effizient, aber kinetisch vorteilhaft ist. Der Fettsäureabbau ist wiederum erheblich effizienter als der Glucoseabbau, jedoch kinetisch deutlich benachteiligt, sodass er nur unter Ruhebedingungen (nachts) oder bei submaximalen Ausdauerbelastungen stärker genutzt wird.

Mitochondriale Dysfunktion

Die Redox-Energie von FADH₂ und NADH wird in der Atmungskette genutzt, um den Sauerstoff über mehrere Katalyseschritte zu reduzieren. Über NADH-Dehydrogenase, Cytochrom C-Reduktase und -oxidase werden Protonen generiert und in den Intermembranraum der Mitochondrien transportiert, wo sie einen elektrochemischen Gradienten für die ATP-Synthese aufbauen. Bei diesem Prozess kommt es in geringem Umfang

zur vorzeitigen Reduktion von Sauerstoff über freie Elektronen, wobei das hochreaktive Superoxidanion entsteht, das benachbarte Strukturen oxidieren und die Funktion der Mitochondrien stören oder zu dem stabileren H₂O₂ dismutieren kann. Die mtDNA ist besonders vulnerabel, da sie nicht wie die nukleäre DNA durch eine Histonhülle geschützt ist und das (oxidative) Schädigungspotential in den Mitochondrien besonders hoch ist. Die Oxidationsrate mitochondrialer DNA ist 100fach höher als die der nukleären DNA (AMES et al. 1993).

Die „Entgiftung“ von Superoxid zum metastabilen H₂O₂ wird durch das Enzym Superoxiddismutase katalysiert. Die besondere Bedeutung dieses Entgiftungsschrittes zeigt sich auch darin, dass die Mitochondrien über eine eigene Superoxiddismutase, die Mangan-abhängige SOD2, verfügen. Die Effizienz der „Entgiftung“ mitochondrialer ROS (engl. Reactive Oxygen Species) wird als Meilenstein der Langlebigkeit angesehen. Allerdings hat dieser Prozess unterschiedliche Facetten. Während in fast allen Tiermodellen Defekte der SOD mit verkürzter Lebenserwartung einhergehen, wurde kürzlich bei dem Modellorganismus der Langlebigkeitsstudien, *Caenorhabditis elegans*, gezeigt, dass bei Mutanten mit Deletion der SOD2 die Lebensspanne sogar verlängert ist. Die Mitochondrien schalten in diesem Fall auf ökonomischere Leistung um (VAN RAAMSDONK & HEKIMI 2009). Ein bis heute ungeklärtes Phänomen ist auch die Rolle der SOD bei der Amyotropen Lateralsklerose (ALS), bei der eine hyperaktive Mutation der zytoplasmatischen SOD1 vorliegt.

Wasserstoffsuperoxid (H₂O₂) diffundiert aus den Mitochondrien ins Zytoplasma, wo es vorrangig durch Katalase weiter zu Wasser reduziert wird. Die Katalaseaktivität ist in den Peroxisomen in enger Nachbarschaft der Mitochondrien konzentriert. Wasserstoffsuperoxid kann andererseits auch katalytisch (Haber-Weiss- und Fenton-Reaktion) zu zwei extrem reaktiven Hydroxylradikalen gespalten werden, die Makromoleküle in den Mitochondrien, dem Zellinneren und in der Umgebung der Zelle oxidativ schädigen. Menschliche Zellen verfügen neben der Katalase über eine Reihe weiterer zytoplasmatischer und mitochondrialer Schutzmechanismen. In erster Linie die Peroxiredoxine und Thioredoxin, die zum Teil auch in den Mitochondrien selbst lokalisiert sind. Darüber hinaus wird Glutathion, das maßgebliche zelluläre Antioxidans, aktiv aus dem Zytoplasma in die Mitochondrien transportiert, die im Unterschied zur Zelle selbst über spezifische Glutathiontransporter auf ihrer inneren Membranseite verfügen. Mitochondrien können Glutathion nicht selbst herstellen. Humane Zellen verfügen über eine Reihe von Glutathionperoxidasen (GPX), die wie Katalase H₂O₂ unter Oxidation von Glutathion zum dimeren Glutathion-Disulfid (GSSG) zu Wasser reduzieren. Von den acht derzeit bekannten GPX ist die Glutathionperoxidase 1 (GPX1) im Zytoplasma der Zellen die wichtigste. U.a. ist hohe GPX1-Aktivität mit reduziertem kardiovaskulärem Risiko assoziiert. Oxidiertes GSSG wird exportiert oder durch Glutathionreduktase wieder in die aktive reduzierte GSH-Form umgewandelt.

Die Sauerstoffradikale (ROS; vor allem Superoxid, Hydroxylanionen, H₂O₂) sind nicht nur wegen ihrer Toxizität zu beachten. Sie erfüllen auch wichtige physiologische Funktionen wie u.a. Signalübermittlung und Aktivierung des zentralen Schutzsystems

der Zelle, des Nukleären Faktors kappaB (NF-κB)-Komplexes, der neben Entzündungsreaktionen auch zahlreiche vitale Schutz- und Erhaltungsmechanismen steuert. Auch die Bakterienabtötung im oxidativen Burst der Phagozyten (Monozyten, Makrophagen, Granulozyten) gehört zu den physiologisch wertvollen Radikalwirkungen.

Außer den ROS entstehen in den Mitochondrien auch Stickstoff-Sauerstoffradikale (NOS). Die Mitochondrien verfügen über eine eigene Stickoxidsynthetase (mtNOS), die die Bildung des stabilen Radikals Stickoxid (NO[•]) aus Arginin katalysiert. Da die zellulären Membranen für NO durchlässig sind, kann außerdem auch extramitochondrial und extrazellulär gebildetes NO in die Mitochondrien gelangen. Die physiologische Funktion von NO in den Mitochondrien besteht offensichtlich in der Regulation der Atmungskettenaktivität, indem NO in Konkurrenz zu Sauerstoff die Aktivität von Cytochromoxidase reversibel hemmt. Höhere NO-Konzentrationen hemmen allerdings auch die anderen Enzyme der Atmungskette. Gleichzeitig können bei NO-Überschuss durch Reaktion mit Sauerstoffradikalen (Superoxid) hochreaktive NO-Derivate wie Stickstoffdioxid, Nitrosothiole und vor allem Peroxynitrit (NO[•] + O₂⁻ ⇒ ONOO⁻) gebildet werden, die zu überwiegend irreversiblen Enzymhemmungen führen, u.a. zur Entkopplung der Atmungskettenenzyme (siehe Abb. 2: Complex II – IV), Öffnung der sog. mitochondrialen Transitionsporen (Permeability Transition Pores - PTP) in der äußeren Membran und Austritt von Cytochrom C aus dem Inter-membranraum, was bis zum Zelluntergang durch Apoptoseaktivierung führt (PACHER et al. 2007).

Nicht nur die Atmungskettenenzyme können durch ROS/NOS geschädigt werden, sondern auch die Transportersysteme der inneren Membran wie der ADP:ATP-Shuttle oder der Acyl-Carnitin:Carnitin-Shuttle und die Enzyme der anderen mitochondrialen Stoffwechselsysteme wie des Zitronensäurezyklus, der β-Oxidationskette und der Pyruvatmetabolisierung. Vor allem das hochtoxische Peroxynitrit (nicht NO) kann zahlreiche Enzymsysteme (ir)reversibel schädigen: z.B. den für den Pyruvatmetabolismus essentiellen PDH-Komplex oder reversibel die für den Krebszyklus essentielle Aconitase, die die Umwandlung von Citrat in Isocitrat katalysiert (HAN et al. 2005). Aconitase

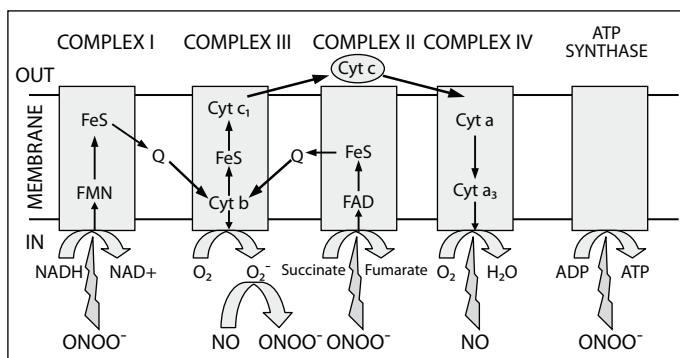


Abb. 2: Wirkungen von Stickoxidradikalen (NOS) (BROWN 1999)
Schematische Darstellung der Effekte von Stickoxidradikalen NOS (Stickoxid NO), Peroxynitrit (ONOO⁻) auf die fünf Komplexe der Atmungskette, die entlang der inneren mitochondrialen Membran lokalisiert sind und durch die NOS reversibel nitrosyliert und gehemmt werden.

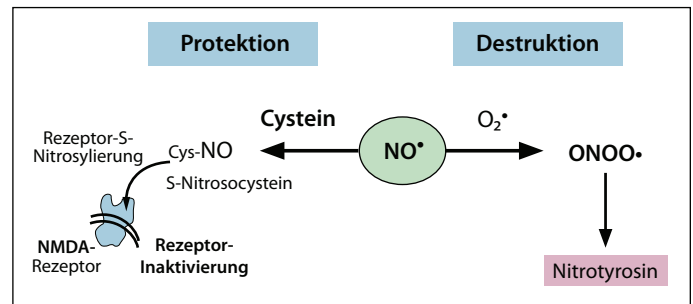


Abb. 3: Protektive Effekte von Cystein/Cysteinylverbindungen wie Glutathion (FERNANDEZ-CHECA et al. 1998)

wird durch Citrat gegen den Angriff von Peroxynitrit und ROS geschützt. Glutathion wirkt schützend, wobei es zu GSSG oxidiert wird, das allerdings dann Aconitase durch Glutathionierung inaktivieren kann. Glutathion ist also nicht nur Antioxidans, sondern auch maßgeblich in die Regulation der mitochondrialen Aktivität involviert. Dazu gehört auch, dass Glutathion über seinen Cysteinylrest (ebenso freies Cystein) nitrosyliert werden kann. Nitrosoglutathion dient so als Stickoxidreservoir, aus dem NO's rasch abgespalten und für Signaltransduktion oder den Stop freier Radikal-Kettenreaktionen benutzt werden können. Nitrosoglutathion und -cystein besitzen im Nervensystem außerdem protektive Wirkung gegenüber toxischen Glutamateffekten und inaktivieren den NMDA-Rezeptor.

Während NO selbst nur reversibel funktionshemmend wirkt, sind die oxidativen Schädigungen durch Peroxynitrit irreversibel. In der Regel werden durch Peroxynitrit die Tyrosinreste von Proteinen nitrosyliert. Das vorgeschädigte Protein wird beschleunigt metabolisiert und Nitrotyrosin wird freigesetzt.

Außer Cystein, Glutathion und anderen Cystein-reichen Proteinen wie Thioredoxin kann auch Vitamin B₁₂ über seinen Kobaltkern NO/NOS binden und entgiften. In den Mitochondrien liegt Vitamin B₁₂ als Adenosyl-Cobalamin vor, während im Zytoplasma Methyl-Cobalamin dominiert.

Labordiagnostik

Zum Basisprofil gehören ATP, Glutathion, Nitrotyrosin, Pyruvat/Lactat, Vitamin B12/Holotranscobalamin, Selen und Magnesium. Im Folgenden wird darüber hinaus die ganze Palette möglicher Parameter vorgestellt und kurz diskutiert (nach HAAS et al. 2008).

1. Bestimmung der Funktion wichtiger zellulärer/mitochondrialer Schutzfaktoren

Glutathion (GSH) Die Bestimmung des zellulären GSH-Gehaltes ist der Messung im Serum vorzuziehen. GSH wird in der Zelle aus den Vorstufen Cystein, Glycin und Glutamat gebildet, wird frei in reduzierter oder oxidiert Form (GSSG) oder an Metaboliten gebunden aktiv aus der Zelle exportiert und umgehend wieder in die einzelnen Aminosäuren gespalten. Die extrazelluläre GSH-Konzentration ist daher kaum geeignet, den intrazellulären Gehalt wiederzugeben. Sie unterliegt außerdem erheb-

lichen Transportunzulänglichkeiten, da Erythrozyten, deren Gehalt ca. 100fach über der Serumkonzentration liegt, GSH leicht verlieren.

GPX/Glutathionperoxidase-Aktivität im Vollblut. Beim Menschen sind acht Isoenzyme GPX1-8 bekannt, von denen die intrazelluläre GPX1 mit Abstand die wichtigste ist. Im Extrazellulärraum überwiegt die GPX3. Die GPX ist von besonders hoher Bedeutung für die „Entgiftung“ von Lipidperoxiden, wobei GSH zu GSSG oxidiert wird. Das katalytische Zentrum des Moleküls bildet ein Selenocystein-Molekül.

Vitamin B12, wichtiger körpereigener NO/NOS-Scavenger. Für eine genaue Analyse der funktionellen B12-Leistung ist die Bestimmung des aktiven Moleküls *Holo-Transcobalamin* oder von *Methylmalonat* im Serum oder Urin wertvoll. Methylmalonat steigt bei B12-Mangel an.

Eventuell Messung von **Vitamin B1, B2, K1**, die alle in die Funktion der Atmungskette und des mitochondrialen Substratmetabolismus involviert sind.

Coenzym Q10, das Teil der Atmungskette selbst ist und dessen Ausfall die Effizienz der Energiegewinnung empfindlich stört. Außerdem fungiert Q10 als sehr wertvolles, lipidlösliches Antioxidans.

Selen, das Bestandteil zahlreicher Selenoproteine wie u.a. der GPX und Aconitase ist. Außerdem **Zink** (Vollblut) als Bestandteil der zytoplasmatischen Cu, Zn-SOD; Mangan als Bestandteil der mitochondrialen SOD2 und Magnesium.

2. Messung toxischer Metaboliten

In erster Linie das hochtoxische Peroxynitrit, das allerdings nicht direkt, sondern nur über das Reaktionsprodukt **Nitrotyrosin** im Plasma gemessen werden kann. Peroxynitrit nitrosyliert bevorzugt den Tyrosinrest von Proteinen, die abgebaut werden.

Nitrotyrosin wird weiter zu **Nitrophenylelessigsäure** (NPEG) metabolisiert, die im Urin messbar ist, Nachteil ist allerdings, dass NPEG weit überwiegend (ca. 80%) aus peripheren Nitrierungsreaktionen (freies Tyrosin) stammt.

Citrullin wird häufig für die Abschätzung des nitrosativen Stresses empfohlen, da es bei der Generierung von NO aus Arginin gebildet wird. Allerdings ist die NO-Bildung im wesentlichen ein physiologischer Prozess und kann nicht von der toxischen NO-Produktion differenziert werden. Dazu kommt, dass Citrullin wieder in Arginin rückgewandelt wird und in großer Menge im Dünndarm gebildet wird. Die Citrullinkonzentration im Blut reflektiert das Gleichgewicht zwischen intestinaler Synthese und der renalen Umwandlung in Arginin. Es ist daher nicht ersichtlich, dass Citrullin ein Maß der toxischen NO-Bildung sein könnte.

3. Bestimmung der Energieeffizienz der Mitochondrien

ATP wird sowohl im Plasma als auch intrazellulär in Blutzellen gemessen. Die Plasmabestimmung ist potentiell aussagekräftiger insoweit sie den Gesamtkörpergehalt an ATP widerspiegelt. Allerdings wird die Messung sehr leicht verfälscht durch Austritt von erythrozytärem ATP-Überschuss und plasmatische Degradation. Die zelluläre Bestimmung liefert stabilere Ergebnisse, jedoch in erster Linie für die Blutzellen. Die Erfahrungen mit beiden Verfahren in der Analyse der mitochondrialen Dysfunktion sind bisher sehr begrenzt.

4. Analyse von Substraten der Energiesysteme

L-Carnitin bzw. **Acyl-Cyrntin**, das als Carrier fungiert und freie Fettsäuren als Acyl-Carnitin aus dem Zytoplasma in die Mitochondrien transportiert bzw als freies Carnitin rezirkuliert wird.

Pyruvat, Lactat und P:L-Quotient: Pyruvat steigt im Blut bei Aktivitätsverlust der PDH (Pyruvatdehydrogenase) an. Lactat steigt bei Sauerstoffmangel, verminderter mitochondrialer Leistung, kurzfristiger Steigerung des Energiebedarfs (Exercise) oder nach exzessivem Anstieg von Plasmapyruvat an. Der P:L-Quotient verdeutlicht diese Zusammenhänge, ist jedoch entgegen gelegentlicher Behauptungen bei normalen Konzentrationen beider Metaboliten ohne Aussagekraft.

Lactatdehydrogenase (LDH) kommt in nahezu allen Körperzellen vor, katalysiert die Konversion von Lactat in Pyruvat und umgekehrt. Vier gewebespezifische Isoenzyme sind bekannt. Anstieg von LDH im Serum erfolgt bei Zellschädigung, die Differenzierung der Isoenzymmuster ermöglicht eine näherungsweise Zuordnung zum Schädigungsort.

Alanin zählt zu den nicht-essentiellen Aminosäuren. Es wird vorrangig aus Pyruvat gebildet. Ein Anstieg von Pyruvat im Zytoplasma (Pyruvatstau) bei mitochondrialer Dysfunktion induziert erhöhte Alaninsynthese. Der Vergleich von Alanin mit der essentiellen Aminosäure Lysin im Alanin:Lysin-Quotienten verbessert die Aussage.

Ansätze der Mitochondrientherapie

Die mitochondrialen Funktionsstörungen sind eine Domäne der orthomolekularen Therapie (AMES et al. 2005). Funktionsdefekte einzelner Enzymsysteme können durch hoch dosierte Substitution mit Kofaktoren z.T. wirksam behandelt werden (siehe Abb. 4). Hierzu zählen u.a. Coenzym Q10, Acyl-Carnitin, Thiamin (alpha-Ketoglutarat-Dehydrogenase/KGDH-Kofaktor),

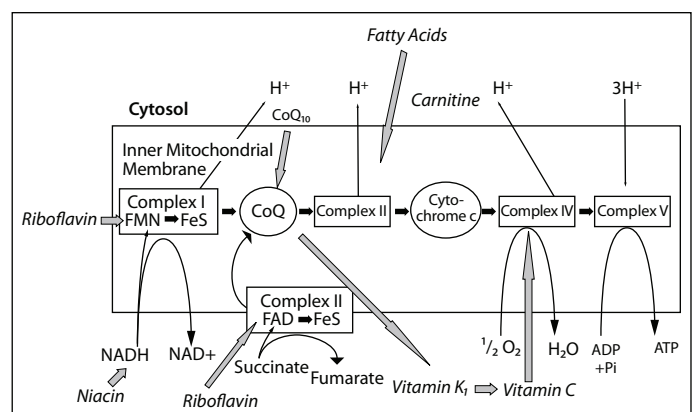


Abb. 4: Nutritive Möglichkeiten der Mitochondrientherapie (MARRIAGE et al. 2003) Bedeutung nutritiver Faktoren für die Funktion der Mitochondrien. Coenzym Q10 (CoQ) transportiert Elektronen von Komplex I und II nach III oder unter Umgehung von II mittels Vit. K und C direkt zu Komplex IV. Riboflavin (Vitamin B2) ist die Vorstufe von Flavinmononukleotid (FMN) und Flavin-Adenin-Dinucleotid (FAD). Niacin (Vitamin B3) ist als Nicotinamid Vorstufe von Nicotinamid-Adenin-Dinucleotid (NAD+). Vit. K fungiert zusammen mit Vit. C als Elektronenakzeptor und kann einen etwaigen defizitären Komplex III überbrücken bzw. den Energiefluss steigern. L-Carnitin transportiert langkettige Fettsäuren über die Mitochondrienmembran ins Innere. Abk.: NADH = reduzierte Form der NAD, FeS = Eisensulfid, ADP = Adenosindiphosphat, Pi = anorganisches Phosphat, ATP = Adenosintriphosphat

Vitamin B2 (Riboflavin; Kofaktor der Protoporphyrinogenoxidase; FADH), Vitamin B3 (Niacin; NADH), Vitamin B5/Pantothenensäure (Vorstufe von Coenzym A), Vitamin B6 und Biotin (Kofaktoren der Hem-Biosynthese), Vitamin B12 (Methyl/Adenosylcobalamin), Vitamin C, Vitamin K1, N-Acetylcystein (Cystein, limitierende Glutathionvorstufe), alpha-Liponsäure (GSSG-Reduktion, Kofaktor der PDH und der KGDH), Selen (GPX, Aconitase), Omega 3-Fettsäuren (Membranstabilisierung), Eisen, Kupfer, Zink (SOD1), Mangan (SOD2), Magnesium (Kofaktor der Atmungskette und zahlreicher mitochondrialer Enzyme).

Zusammenfassung

Mitochondriopathien sind hereditäre oder erworbene somatische Mutationen der mitochondrialen oder auch nukleären DNA, die zur progressiven Funktionseinbuße der Atmungskette und der anderen mitochondrialen Aktivitäten führen können: Kardio/Myopathien, Enzephalopathien, Neuropathien, Endokrinopathien. Das Risiko von Mutationen des mitochondrialen Genoms ist infolge der hohen lokalen Radikalbildung hoch und nimmt mit dem Alter zu. Mitochondriale Mutationen können unabhängig vom Genom der „Wirtszelle“ auftreten, da die Mitochondrien ihr eigenes Genom besitzen und sich unabhängig vom Zellzyklus teilen können. Die somatischen Mutationen, die zunächst nur einzelne Mitochondrien betreffen und wegen der hohen Anzahl von Mitochondrien in jeder Zelle in dieser Phase normalerweise ohne Wirkung sind, können zum Untergang des betreffenden Mitochondrions führen, in weiteren Teilungszyklen wieder eliminiert werden oder auch sich anreichern, um dann eventuell für die Aktivität des zellulären Mitochondrienpools ein relevantes Problem zu werden und die Funktion der Zelle selbst zu beeinträchtigen.

Mitochondriale Dysfunktion: Neben den ggf. schwerwiegenden hereditären oder somatischen Mutationen spielt die reversible oder irreversible Inaktivierung bzw. Schädigung mitochondrialer Enzymsysteme durch ROS/NOS eine weitaus größere Rolle. Sie sind inzwischen Gegenstand vieler Diskussionen und werden als erhebliches Problem für die Entstehung und den Verlauf einer Reihe chronischer gesundheitlicher Störungen angesehen: postinfektiöse oder idiopathische Fatiguesyndrome (**Chronic Fatigue Syndrome – CFS, Fibromyalgie Syndrom – FMS, Multiple Chemical Sensitivity – MCS**, Tumorfatigue, etc.); Umwelterkrankungen (Schadstoffbelastung); metabolisches Syndrom, Diabetes, Arteriosklerose, Kardiomyopathien, Hochdruck; chronische Infektionen; chronische Entzündungen, Autoimmunerkrankungen, Parodontitis; Tumorerkrankungen; Neuropathien, neurodegenerative Erkrankungen wie M. Parkinson, M. Alzheimer oder Amyotrophe Lateralsklerose; Depressionen, bipolare Erkrankungen, Schizophrenie; Altern. Bei Schädigung des PDH-(Pyruvatdehydrogenase)Komplexes kommt es zum Pyruvatrückstau im Zytoplasma und Zunahme der anaeroben Glycolyse mit Lactatanstieg. Allerdings kann in dieser Situation durch vermehrte Zufuhr von Fettsäuren (z.B. durch fettreiche Ernährung, „Ketodiät“), die über den Carnitin-Shuttle unabhängig vom Glucose/Pyruvat-Transfer in die Mitochondrien transportiert werden, weiterhin ausreichend Acetyl-CoA bereitgestellt werden.

Kontakt:

PD Dr. med. Wilfried P. Bieger
Augustenstr. 10
80333 München
E-Mail: wbieger@lab4more.de
www.dr-bieger.de

Nachweise

- AMES BN, SHIGENAGA MK, HAGEN TM. (1993): Oxidants, antioxidants, and the degenerative diseases of aging. *Proc Natl Acad Sci USA* 90(17): 7915-22.
- AMES BN, ATAMNA H, KILLILEA DW. (2005): Mineral and vitamin deficiencies can accelerate the mitochondrial decay of aging. *Mol Aspects Med* 26(4-5): 363-378.
- BAI Y, PARK YS, DENG JH, LI Y, HU P. (2005): Restoration of Mitochondrial Function in Cells with Complex I Deficiency. *Ann NY Acad Sci* 1042: 25-35.
- BROWN GC. (1999): Nitric oxide and mitochondrial respiration. *Biochim Biophys Acta* 1411(2-3): 351-369.
- DE GREY ADNJ. (2004): Mitochondrial mutations in mammalian aging: an over-hasty about-turn? *Rejuvenation Res* 7(3): 171-174.
- DINAUER MC, CURNUTTE JT, ROSEN H, ORKIN SH. (1989): A missense mutation in the neutrophil cytochrome b heavy chain in cytochrome-positive X-linked chronic granulomatous disease. *J Clin Invest* 84(6): 2012-2016.
- FERNANDEZ-CHECA JC, GARCIA-RUIZ C, COLELL A et al. (1998): Oxidative stress: Role of mitochondria and protection by glutathione. *BioFactors* 8: 7-11.
- HAAS RH, PARIKH S, FALK MJ et al. (2008): The in-depth evaluation of suspected mitochondrial disease. *Mol Genet Metab*. 94(1): 16-37.
- HAN D, CANALI R, GARCIA J et al. (2005): Sites and Mechanisms of Aconitase Inactivation by Peroxynitrite: Modulation by Citrate and Glutathione. *Biochemistry* 44: 11986-11996.
- HARMAN D. (1956): Aging: a theory based on free radical and radiation chemistry. *Journal of Gerontology* 11(3): 298-300.
- HARMAN D. (1992): Free radical theory of aging. *Mutat Res* 275: 257-266.
- KOOPMAN WJH, WILLEMS PHGM, SMEITINK JAM. (2012): Monogenic Mitochondrial Disorders. *New Engl J Med* 366: 1132-1141.
- MARRIAGE B, CLANDININ MT, GLERUM DM. (2003): Nutritional cofactor treatment in mitochondrial disorders. *J Am Diet Assoc* 103(8): 1029-1038.
- NASS MM, NASS S. (1963): Intramitochondrial Fibers with DNA characteristics. *J Cell Biol* 19: 593-629.
- NEKHAIEVA E, BODYAK ND, KRAYTSBERG Y et al. (2002): Clonally expanded mtDNA point mutations are abundant in individual cells of human tissues. *Proc Natl Acad Sci USA* 99: 5521-5526.
- PACHER P, BECKMAN JS, LIAUDET L. (2007): Nitric oxide and peroxynitrite in health and disease. *Physiol Rev* 87(1): 315-424.
- PALL ML. (2007): Explaining "Unexplained Illnesses". Harrington Park Press, Binghamton, New York.
- SHADEL GS. (2008): Expression and Maintenance of Mitochondrial DNA. *New Insights into Human Disease Pathology. Am J Pathol* 172: 1445-1456.
- TAYLOR RW, TURNBULL DM. (2005): Mitochondrial DNA mutations in human disease. *Nat Rev Genet* 6(5): 389-402.
- VAN RAAMSDONK JM, HEKIMI S. (2009): Deletion of the Mitochondrial Superoxide Dismutase sod-2 Extends Lifespan in *Caenorhabditis elegans*. *PloS Genet* 5(2): e1000361.