

Intrazelluläres ATP

Marker der mitochondrialen Dysfunktion



Intrazelluläres ATP

Marker der mitochondrialen Dysfunktion

messung der Regeneration von ATP nach Blockade der Neubildung.

In den Zellen unseres Organismus wird ununterbrochen chemische, osmotische oder mechanische Arbeit geleistet. Für diese ablaufenden metabolischen Prozesse wird stetig Energie benötigt, die in einer universalen Form bereitgestellt werden muss. Dies wird durch das Molekül ATP, dem allgemeinen Energieträger unseres Organismus, gewährleistet. Es ist in allen lebenden Zellen enthalten, wird vornehmlich bei der oxidativen Phosphorylierung an der inneren Mitochondrienmembran gebildet und spielt die zentrale Rolle im Energiehaushalt.

Die intrazelluläre Konzentration von ATP ist sorgsam reguliert und wird in allen Zellen auf einem stabilen Niveau gehalten. Nach starkem Verbrauch, bei erhöhtem Energiebedarf oder nach Blockade der Neubildung muss ATP kurzfristig regeneriert werden. Eine verminderte ATP-Bildung durch mitochondriale Dysfunktion kann z.B. bei CFS (Chronic Fatigue Syndrom) auftreten.

Das Energiemolekül ATP

ATP (Adenosintriphosphat) ist das Triphosphat des Adenosins, einem Baustein der Nukleinsäure RNA bestehend aus Ribose und Adenin. ATP ist jedoch auch die universale Form unmittelbar verfügbarer Energie in jeder Zelle und gleichzeitig ein wichtiger Regulator energieliefernder Prozesse. Somit kommt dem ATP die Rolle eines allgemeinen Energieträgers zu. Die drei organischen Phosphate im ATP-Molekül sind über sehr energiereiche chemische Bindungen an das Adenosin geknüpft. Werden diese Bindungen durch Enzyme hydrolytisch gespalten, entstehen Adenosindiphosphat (ADP) und Phosphat. Die dabei freiwerdende Energie ermöglicht die Arbeitsleistungen in den Zellen. Als Energiequelle wird ATP für die grundlegenden energieverbrauchenden Prozesse aller Lebewesen genutzt: Synthese von organischen Molekülen, aktiver Stofftransport durch Biomembranen hindurch in die Zellen oder hinaus sowie Bewegungen wie z. B. bei der Muskelkontraktion.

Bei einem durchschnittlichen Erwachsenen entspricht die Menge ATP, die täglich in seinem Körper auf- und wieder abgebaut wird in etwa seinem Körpergewicht. Bei intensiver körperlicher Betätigung kann der Umsatz kurzfristig auf ca. 0,5kg pro Minute ansteigen.

Verminderung des intrazellulären ATP

Als Kraftwerke der Zellen sind die Mitochondrien die wichtigste Bildungsstätte für ATP. Eine mitochondriale Funktionsstörung geht daher in aller Regel mit reduziertem intrazellulärem ATP einher. ATP-Verminderungen wurden beispielsweise bei zellulärer Hypoxie, aktiver EBV-Infektion, bei Fibro-

myalgien, nitrosativem Stress und bei chronisch degenerativ-entzündlichen Prozessen beobachtet. Große Bedeutung hat die intrazelluläre ATP-Konzentration bei Patienten mit CFS (Chronic Fatigue Syndrom). Eine Studie der Universität Oxford belegte, dass CFS häufig mit einer Verminderung des granulozytären ATP korreliert. Die Bestimmung des intrazellulären ATP stellt somit einen wichtigen diagnostischen Parameter für die aktuell herrschende Mitochondrienfunktion dar. Allerdings kann hierbei keine genaue Aussage getroffen werden, ob eine verminderte ATP-Konzentration primärer ist oder das Resultat veränderter biochemischer Prozesse spiegelt.

Die labordiagnostische Messung von intrazellulärem ATP

Die Granulozyten des peripheren Blutes eignen sich gut für die Bestimmung der intrazellulären ATP-Konzentration. Vorteile sind die leichte Verfügbarkeit des Zellmaterials, ohne aufwendige Gewebebiopsie sowie der hohe Anteil an Mitochondrien in den Granulozyten.

Die Zellen werden aus heparinisiertem Blut des Patienten aufgereinigt und anschließend lysiert. Dabei wird das intrazelluläre ATP in das Umgebungsmilieu freigesetzt, wo es mit Hilfe eines Chemolumineszenzverfahrens nachgewiesen wird. Dies geschieht durch Zugabe von Lucifrein, welches durch das Enzym Luciferase unter ATP-Verbrauch oxidiert wird. Dabei wird Licht produziert, das mittels eines Lumino-meters detektiert werden kann. Das emittierte Licht ist zur ATP-Konzentration direkt proportional.

Regeneration von ATP

Neben dem in den Zellen nachweisbaren ATP gibt auch die Fähigkeit zur Regeneration von ATP nach einem Energieverbrauch wichtige Hinweise auf die Funktionalität der Mitochondrien. Aus dem bei der Abspaltung eines Phosphates vom ATP entstandenen ADP regeneriert die Zelle neues ATP durch die Anbindung eines Phosphatrestes. Dies geschieht an der inneren Membran der Mitochondrien. Bei dieser oxidativen Phosphorylierung werden Elektronen

innerhalb der Mitochondrienmembran entlang mehrerer Redox-Systeme transportiert, wobei sie jeweils auf ein niedrigeres Energieniveau fallen. Die freiwerdende Energie wird benutzt, um die durch die Oxidation von Koenzymen entstehenden Protonen (H⁺) durch die innere Mitochondrienmembran zu pumpen, wodurch ein Protonengradient über

die Membran entsteht. Der Rückfluss der Protonen durch das Transmembranprotein ATP-Synthase treibt die von diesem Enzym katalysierte Bindung anorganischer Phosphatreste an das ADP an. Somit entsteht neues ATP in der Mitochondrienmatrix, welches der Zelle wieder zur Verfügung steht.

Zur Bestimmung des intrazellulären ATP bietet GANZIMMUN zwei Messpanel an:

Panel 1: Intrazelluläres ATP in den Granulozyten

Bestimmung des intrazellulären ATP. Abklärung der verfügbaren mitochondrialen Energieversorgung und Erkennung einer verminderten ATP-Bildung. Es wird das intrazellulär verfügbare ATP in 1×10^6 Granulozyten bestimmt.

Normwerte	
in Granulozyten	0,4 – 1,0 nmol/1 x 10 ⁶ Zellen
Abrechnung	
GOÄ-Ziffer	3776, 4003
Preis Selbstzahler	40,80 Euro
Preis Privatpatient	46,93 Euro
Präanalytik	
Probenmaterial	Heparin-Vollblut
Probenversand	Proben innerhalb von 24 Stunden einsenden

Panel 2: Intrazelluläres ATP-Profil; Regeneration von ATP nach Blockade der Neubildung

Zusätzlich zur ATP-Bestimmung aus nativen Granulozyten des peripheren Blutes wird im Panel „intrazelluläres ATP-Profil“ die ATP-Konzentration nach einer Blockade der Mitochondrien durch ein Zellgift (z.B. Thiomersal, eine toxische Quecksilberverbindung) ermittelt. Durch die Unterbindung einer Neubildung sinkt die ATP-Konzentration deutlich ab. Als weiterer Messwert wird im ATP-Profil die Regeneration des ATP nach Wegnahme der Thiomersalblockade bestimmt. Intakte Zellen sind in der Lage genügend ATP nachzubilden. Man erhält mit dem ATP-Profil somit drei Messgrößen für die ATP-Konzentration in Granulozyten:

- intrazelluläres ATP in Granulozyten
- intrazelluläres ATP unter Blockade der Mitochondrien mit Thiomersal
- intrazelluläres ATP durch Regeneration

Generell sollte die ATP-Konzentration unter einer Blockade deutlich abnehmen. Bei der folgenden Regeneration können zwei Ergebnismuster unterschieden werden. Bei guter Regeneration steigt die ATP-Konzentration nach Beendigung der Blockade wieder auf ein moderates Level. Bei einer unzureichenden Regeneration zeigt sich ein weiteres Zusammenbrechen der intrazellulären ATP-Konzentration. Dies deutet dann stark auf eine mitochondriale Dysfunktion.

Normwerte	
in Granulozyten	0,4 – 1,0 nmol/1 x 10 ⁶ Zellen
unter Blockade	0,2 – 0,7 nmol/1 x 10 ⁶ Zellen
nach Regeneration	0,3 – 0,8 nmol/1 x 10 ⁶ Zellen
Abrechnung	
GOÄ-Ziffer	3 x 3776, 1 x 4003
Preis Selbstzahler	75,78 Euro
Preis Privatpatient	87,15 Euro
Präanalytik	
Probenmaterial	Heparin-Vollblut
Probenversand	Proben innerhalb von 24 Stunden einsenden

Literaturangaben

Bell, C. J. et al.: Luciferase expression for ATP imaging: application to cardiac myocytes. *Methods in Cell Biology*, 2007, 80: 341–352

Lundin, A.: Use of firefly luciferase in ATP-related assays of biomass, enzymes, and metabolites. *Methods in Enzymology*, 2000, 305: 346–370

Myhill, S. et al.: Chronic fatigue syndrome and mitochondrial dysfunction. *International Journal of Clinical and Experimental Medicine*, 2009, 2: 1–16

Raam, B. J. et al.: Mitochondrial membrane potential in human neutrophils is maintained by complex III activity in the absence of supercomplex organisation. *PLoS One*, 2008, 23: e2013

Vernon, S. D. et al.: Preliminary evidence of mitochondrial dysfunction associated with post-infective fatigue after acute infection with Epstein Barr Virus. *BMC Infectious Diseases*, 2006, 6: 15

Ansprechpartner

Bei der GANZIMMUN AG sind Sie gut beraten!

Ihre persönlichen Ansprechpartner zu allen Fragen:

■ Kundenbetreuung

bei Fragen zu Service, Befund, Bestellungen,
Expressversand etc.

Tel. **06131 7205-0**

Fax **06131 7205-100**

info@ganzimmun.de

■ bundesweiter wissenschaftlicher Außendienst

fordern Sie Ihre persönliche Betreuung an unter

Tel. **06131 7205-0**

■ wissenschaftliche und medizinische Beratung

täglich von 8 – 18 Uhr

kostenlose medinfo-Hotline: **0800 444 6686**

medwiss@ganzimmun.de

■ Ernährungsberatung

bei Fragen zur Ernährungsumstellung

montags und mittwochs: 16 – 18 Uhr

dienstags und donnerstags: 11 – 13 Uhr

Tel. **06131 7205-205**

ernaehrungsberatung@ganzimmun.de

■ GANZIMMUN-Akademie

Tel. **06131 7205-277**

Fax **06131 7205-50118**

seminar@ganzimmun.de

■ Buchhaltung

bei Fragen zur Abrechnung von Selbstzahlern
und Privatpatienten

Tel. **06131 7205-132 -134**

bei Fragen zur Abrechnung von Kassenleistungen

Tel. **06131 7205-178**

buchhaltung@ganzimmun.de

■ Bestellung von kostenlosen Probennahme- und Versandmaterialien

Tel. **06131 7205-0**

Fax **06131 7205-100**

info@ganzimmun.de

www.ganzimmun.de

Impressum

Herausgeber

GANZIMMUN
Diagnostics AG

Hans-Böckler-Straße 109
55128 Mainz

Tel. 06131 7205-0

Fax 06131 7205-100

www.ganzimmun.de

info@ganzimmun.de

Ärztlicher Leiter

Dr. med. Ralf Kirkamm

Verantwortlich

Dr. med. Ralf Kirkamm

Autor

Dr. med. Ralf Kirkamm

Redaktion

Dr. med. Ralf Kirkamm

Gestaltung

Habemus Dito Design Agentur
www.habemus.de