

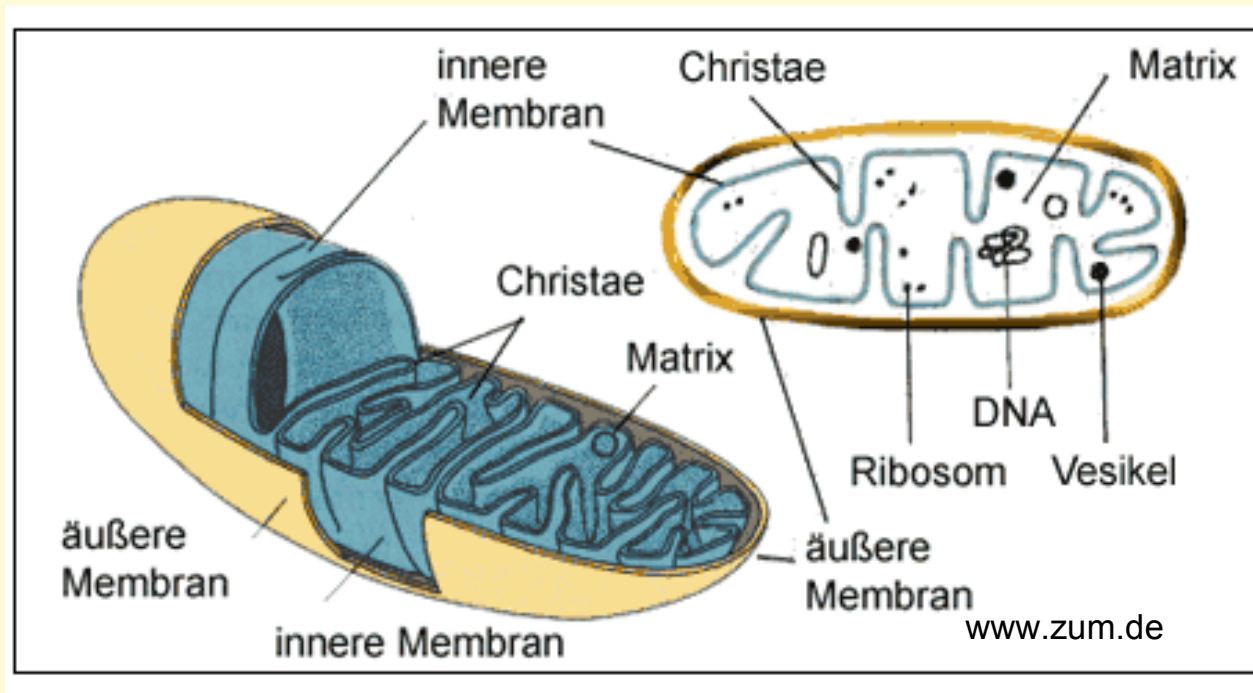
**Mitochondriopathie und systemische Entzündung**  
-  
**Ein Teufelskreis mit unspezifischer  
Krankheitssymptomatik**

**19. September 2012, 15.00 Uhr**

**Dr. Volker von Baehr**  
**Institut für Medizinische Diagnostik MVZ GbR, Berlin**

## Was sind Mitochondrien ?

- von einer Doppelmembran umschlossene Organellen in Eukaryontenzellen
- 0,5 – 1,5  $\mu\text{m}$  Durchmesser
- 500 – 2000 pro Zelle
- andauernde Fusion und Teilung (hohe funktionelle Dynamik)



## **Mitochondrien haben ein eigenes Genom ?**

- eigenes Genom (nur mütterlich vererbt)
- 10 – 15 zirkuläre dsDNA-Moleküle mit ca. 16.500 Basenpaaren
- 37 Gene u.a. 13 von 80 Atmungskettenuntereinheiten (Rest nDNA)
- 1500 mitochondriale Proteine (fast alle Zellkern-kodiert)

## **Besonderheiten mitochondrialer DNA**

- kein Schutz der mtDNA durch Histone, dadurch ca. 10 x höhere Mutationsrate
- Fehlen von Introns begünstigt Gen-lokalisierte Mutationen (gefährdet vor allem durch ROS)

# Theorie: Mitochondrien als Endosymbionten

Entwicklung von Mitochondrien aus Proteobakterien (Rickettsien)

## Funktion der Mitochondrien

- ATP-produzierende Kraftwerke in der Energiegewinnung

**zelluläre Energiegewinnung:**

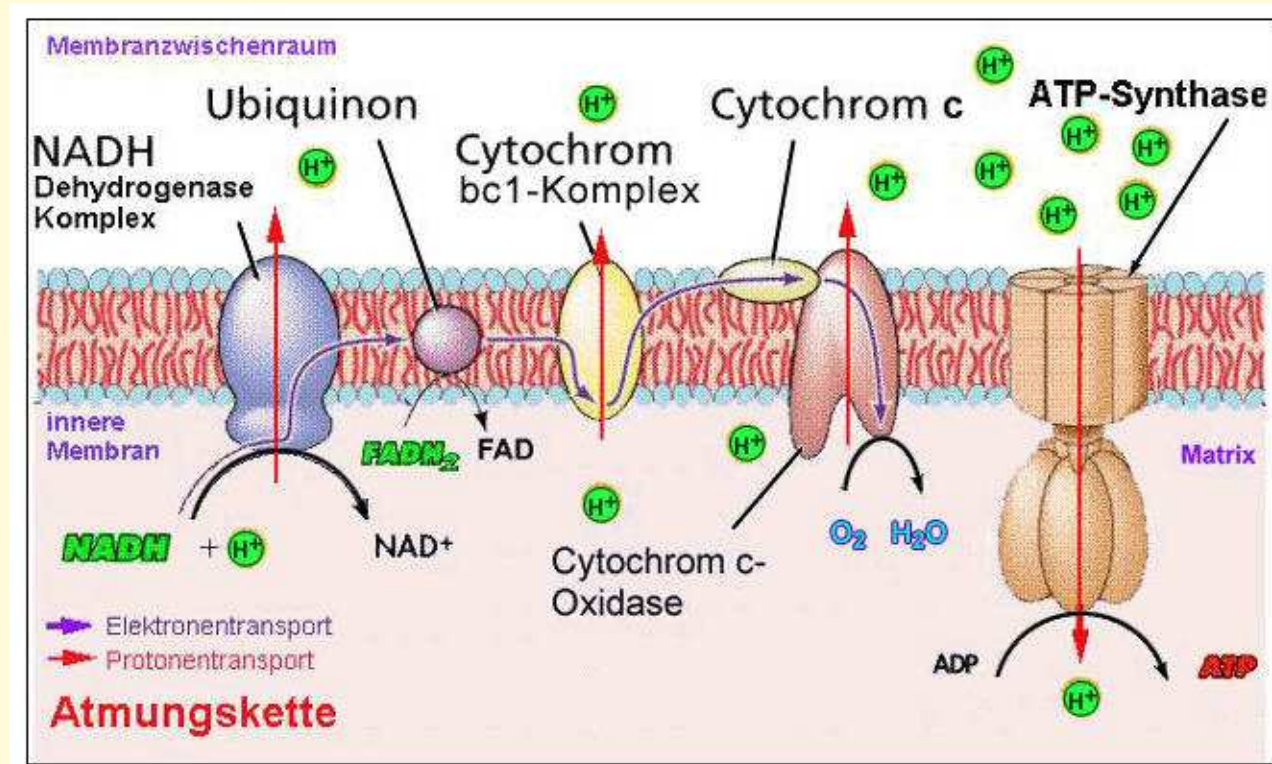
Zellatmung = Oxidation der Glukose

$\beta$ -Oxidation = Oxidation der Fettsäuren aus den Fetten

- Citrat-Zyklus
- Aminosäure- und Fettsäuremetabolismus
- Synthese von Eisen-Schwefel-Clustern (z.B. Häm-Synthese)
- Calcium-Puffer
- Steroidmetabolismus
- zentrale Rolle bei der Apoptose

## Was passiert in der Atmungskette?

Kette in der inneren Mitochondrienmembran von nacheinander stattfindenden biochemischen Redoxreaktionen (Elektronentransportkette)



**Komplexe 1-4 :** Protonentransport aus der Matrix in den Membranzwischenraum

**ATP-Synthase:** die Energie des dabei entstehenden elektrochemischen Protonengradienten wird zur ATP-Bildung genutzt.

# Mitochondriale Erkrankungen

## Definition Mitochondriopathie

⇒ Erkrankungen in Folge dysfunktionaler Mitochondrien

## Im engeren Sinne:

Alle Störungen von an der Energiegewinnung beteiligten Enzymen

1. **Atmungskettendefekte**
2. Pyruvat-Oxidation
3. Fettstoffwechsel
4. Citratzyklus

## Besonders betroffen sind Gewebe mit hohem Energiestoffwechsel:

Nervengewebe,

Muskel (Herzmuskel 36 % Mitochondrien-Volumenanteil)

Verdauungstrakt

bestimmte Hirnregionen

Eizellen

Aktivierte Immunzellen

# Primäre (angeborene) Mitochondriopathien

## mitochondriale Vererbung (nur maternal)

- Lebersche Optikusatrophie [LHON) - Sehnervschädigung mit Netzhautveränderungen
- Enzephalomyopathien wie z.B.

MELAS-Syndrom

⇒ Hirn-/Muskelstörung, Lactatacidose (Milchsäureüberladung), Schlaganfälle

MERRF (Myoklonus-Epilepsie mit "ragged red fibres)

⇒ Epilepsie, Demenz, Muskelschwäche

**Variable Klinik und späte Manifestation durch Heteroplasmie und unterschiedliche Mitochondrienverteilung in verschiedenen Geweben**

## Mendelscher Erbgang (nDNA-Mutationen)

- Chorea Huntington,
- Friedreich Ataxie u.a.

# **Sekundäre (erworbene) Mitochondriopathien**

## **1. Vorwiegend sporadische Erkrankungen**

- Alzheimer
- Parkinson
- Amyotrophe Lateralsklerose (ALS) u.a.

## **2. Mitochondriopathie als „Symptom“ bei chronisch entzündlichen Multisystemerkrankungen**

- Chronic Fatigue Syndrome
- zelluläre Hypoxie (Bell, 2007)
- aktive EBV-Infektion (Vernon SD BMC Infect Dis. 2006)
- Fibromyalgie u.a. systemischen Entzündungserkrankungen



## **Parkinson als Beispiel für eine sporadische sekundäre Mitochondriopathie**

0,3 % der Bevölkerung betroffen

nur 10 % genetisch fixiert (PARK Gene), Rest sporadisch , idiopathisch

## **Die Komplex I-Aktivität in der Substantia nigra von Parkinsonpatienten ist um 30 – 40 % erniedrigt.**

### **Mitochondrial complex I deficiency in Parkinson's disease.**

Schapira AH et al. J Neurochem. 1990 Mar;54(3):823-7.

### **Deficiencies in complex I subunits of the respiratory chain in Parkinson's disease.**

Mizuno Y et al. Biophys. Res. Commun 163; 1450-55

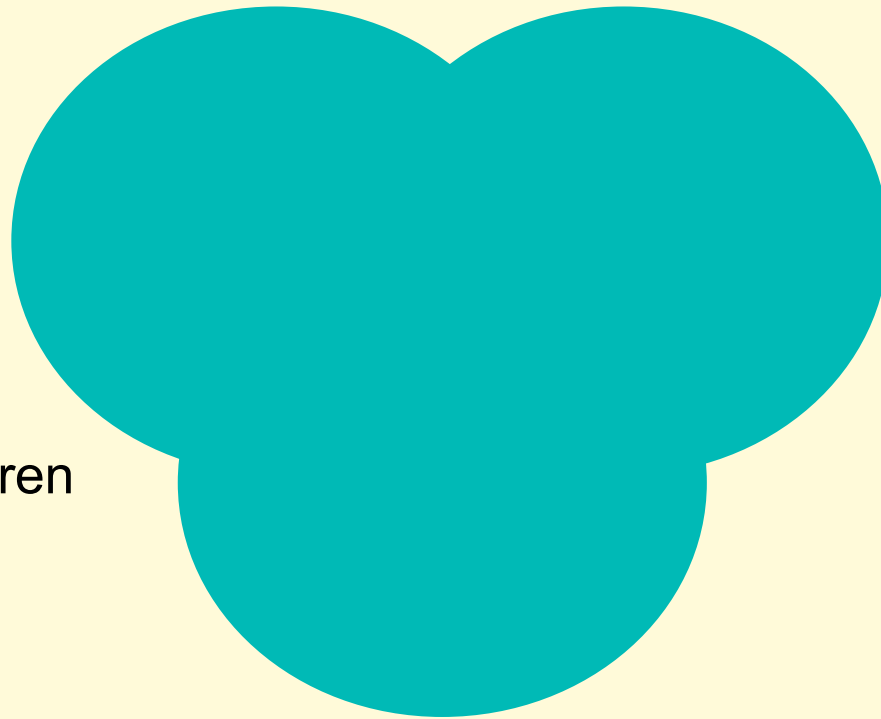
### **Biochemical analysis of respiratory chain enzymes in different brain regions of patients with Parkinson's disease**

Reichmann H., Riederer P. BMBFT Symposium "Morbus Parkinson" Bad Kissingen 1989.

## Sekundäre (erworbene) Mitochondriopathien (z.B. Parkinson)

### Umwelt

Exposition  
gegenüber  
Triggerfaktoren  
(Toxine)



### Genetik

Individuelle  
Empfindlichkeit

**Alter** ↑

spontane Degeneration  
dopaminerger Neurone  
im Alter

## Sekundäre (erworbene) Mitochondriopathien

TNF-alpha i.S.	<b>22.6</b>	pg/ml	< 8.1
Der Befund spricht für eine systemische Entzündung			
IP-10 i.Serum (ELISA)	<b>1433</b>	pg/ml	< 1072
Das erhöhte IP-10 spricht für eine Beteiligung der TH1-Immunzellen am Entzündungsprozess (Allergie, Virus, intrazellulär persistierende Bakterien u.a.).			
ATP intrazellulär <sup>oo</sup> (CLIA)	<b>0.77</b>	µM	> 2.0
Vermindertes intrazelluläres ATP als Hinweis auf eine sekundäre Mitochondriopathie (wahrscheinlich Folge der systemischen Entzündung).			
MDA-LDL i.S. (EIA)	<b>74.5</b>	U/l	< 35.0
Erhöhtes MDA-modifiziertes LDL als Hinweis auf eine signifikante Lipidperoxidation als Folge eines oxidativen Stress.			

**Ist die Mitochondriopathie Ursache oder Folge der Multisystemerkrankung ?**

# Der Circulus vitiosus bei chronisch entzündlichen Multisystemerkrankungen

**Triggerfaktoren (Stressoren)** wie z.B. bakterielle und virale Antigene, Pilze, Allergene, Schadstoffe und Xenobiotika (Pestizide, Lösungsmittel), Stress

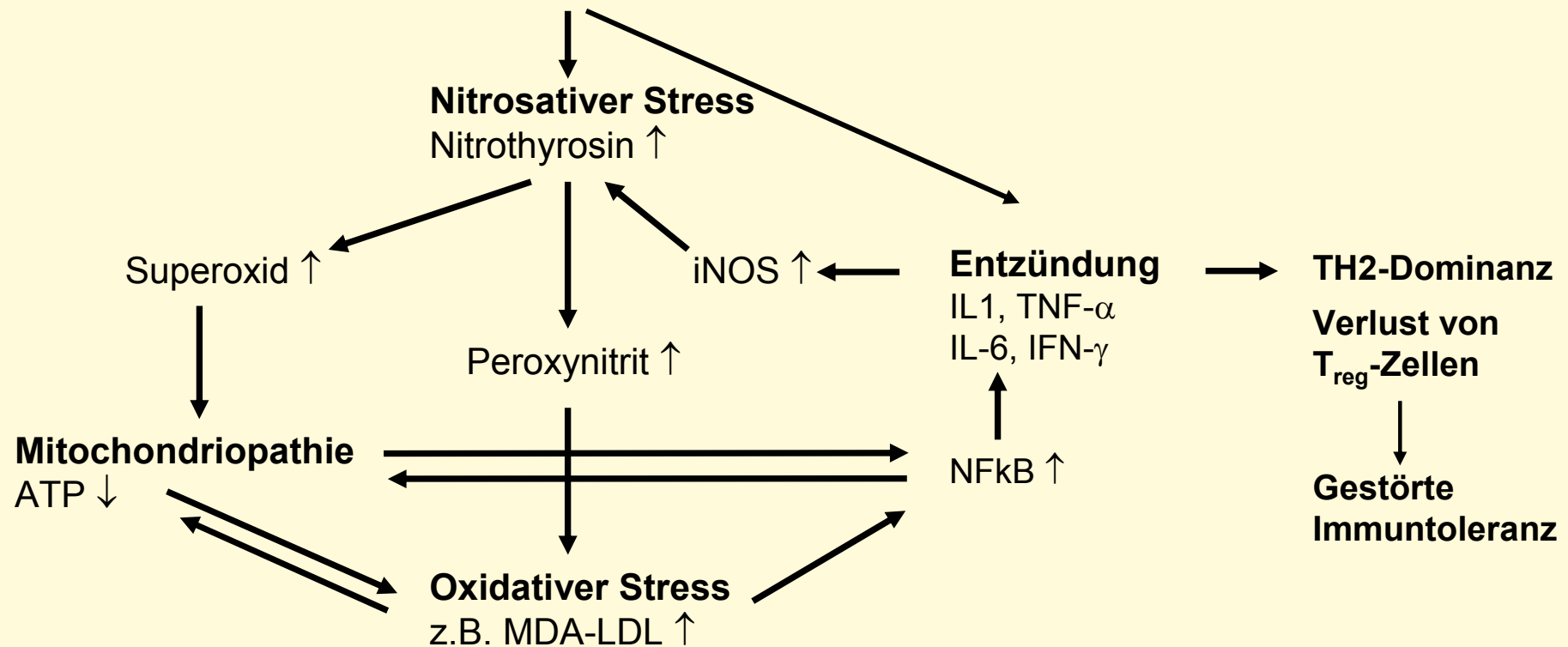
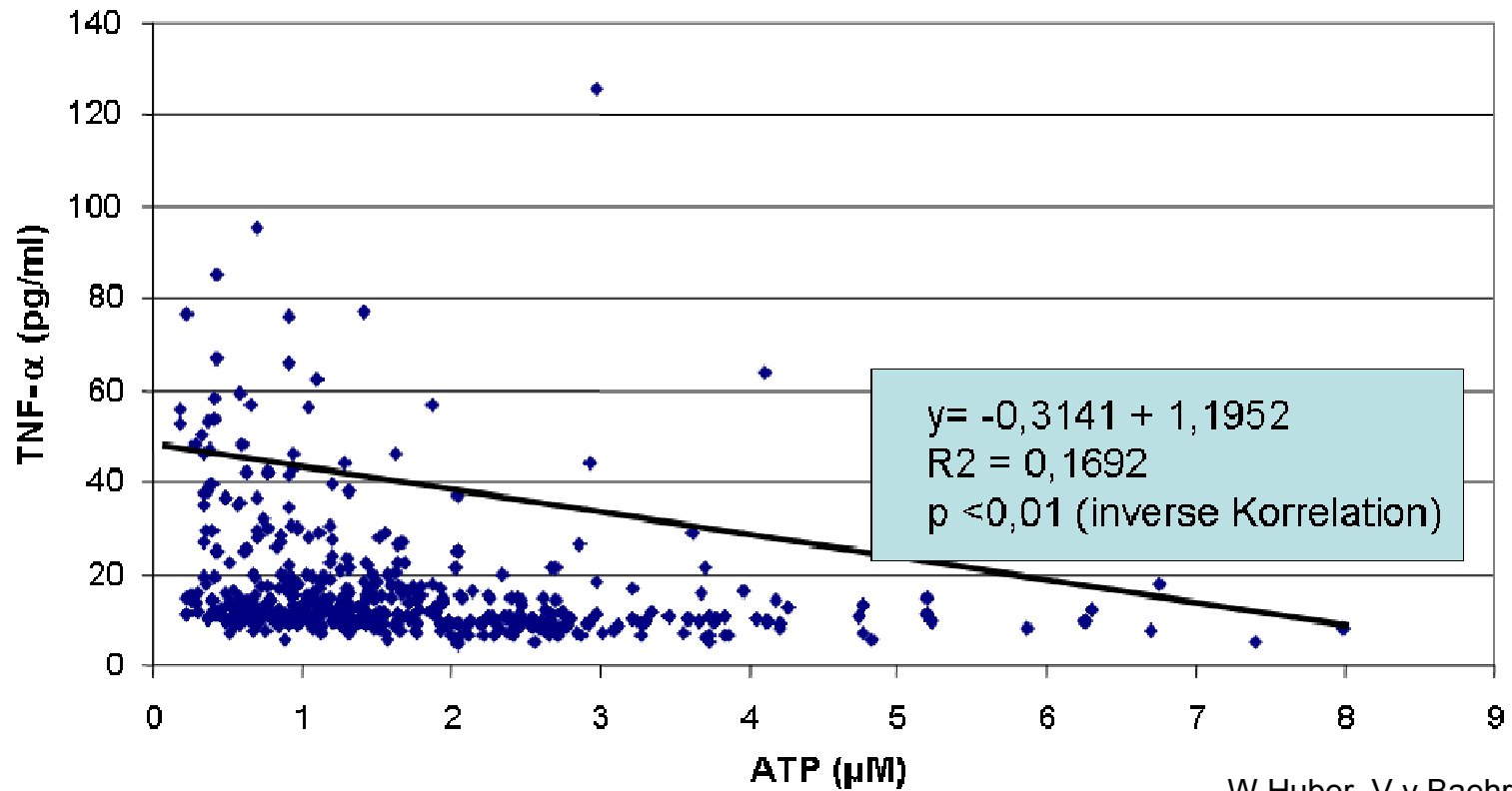


Abb. modifiziert nach Pall, Dr. (PhD) Martin L.: Explaining 'Unexplained Illnesses': Disease Paradigm for Chronic Fatigue Syndrome, Multiple Chemical Sensitivity, Fibromyalgia, Posttraumatic Stress Disorder, Gulf War Syndrome and Others, ISBN 078902389X

Entzündung → nitrosativer Stress → Mitochondriopathie



Hohe Serum-TNF- $\alpha$ -Spiegel gehen mit vermindertem ATP als Hinweis auf eine Mitochondrienstörung einher (n=455 Patienten)



W.Huber, V.v.Baehr

# Was sind chronisch entzündliche Multisystemerkrankungen?

## Allergien

Typ I-Allergie  
Typ-IV-Allergie  
„Nahrungsmittelintoleranzen“

## Chronische Infektionsverläufe

Parodontitis  
Reaktive Arthritiden  
Chronische Borreliose ? CMV?

## Autoimmunerkrankungen

Organspezifische und systemische Erkrankungen,  
z.B. Hashimoto-Thyreoditis  
Kollagenosen u.a.

## Chronische Organentzündungen

Multiple Sklerose  
Chronisch-entzündliche Darmerkrankungen  
Sarkoidose u.a.

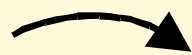
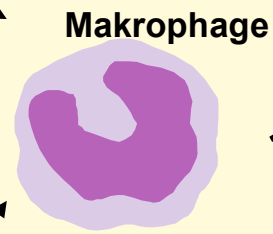
Bakterien

LPS

Pilze

Partikel  
(z.B. Titanoxid)

Immunkomplexe



TNF- $\alpha$   
IL-1  
IL-6  
IL-8 u.a.



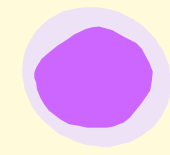
**Myelomonocytaire  
Entzündung**

Viren

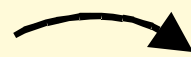
intrazellulär  
persistierende  
Bakterien

Xenobiotika  
(z.B. Metalle,  
Acrylate,  
Biozide usw.)

Allergene  
(bei Sensibilisierung)



T-Lymphozyt



IFN- $\gamma$   
IL-17  
IL-4  
IL-10 u.a.



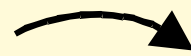
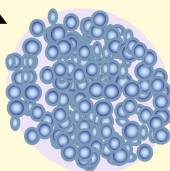
**Lymphozytäre  
Entzündung  
(TH1-Immunaktivierung)**

Bakterien

Pilze

Xenobiotika  
(z.B. Flammschutzmittel,  
Biozide usw.)

Mastzelle



Histamin  
Leukotriene  
TGF- $\beta$   
Serotonin u.a.



**Entzündung durch  
Mastzellaktivierung  
(Typ I)-allergische  
Entzündung**

**Untersuchung****Ergebnis****Einheit****Referenzbereich**

TNF-alpha i.S.

(CLIA)

**17.8**

pg/ml

&lt; 8.1

IP-10 i.Serum

(PIA)

**1555**

pg/ml

&lt; 1072

Hinweis auf systemische Entzündung (TNF-a) und auch  
TH1-Immunaktivierung (IP-10).

Histamin (gesamt) i. Hep.-Bl. (EIA)

11.5

ng/ml

&lt; 75

Kein Hinweis auf Mastzell-assoziierte Entzündung

ATP intrazellulär<sup>oo</sup>

(CLIA)

**1.44**

µM

&gt; 2.0

Vermindertes intrazelluläres ATP als Hinweis auf eine  
sekundäre Mitochondriopathie.

MDA-LDL i.S. (EIA)

**144**

U/l

&lt; 40.0

Ein erhöhtes MDA-modifiziertes LDL spricht für eine  
gesteigerte Lipidperoxidation bei oxidativem Stress.

Freies 3-Nitrotyrosin i. EDTA-Pl.<sup>o</sup>

&lt;0.1

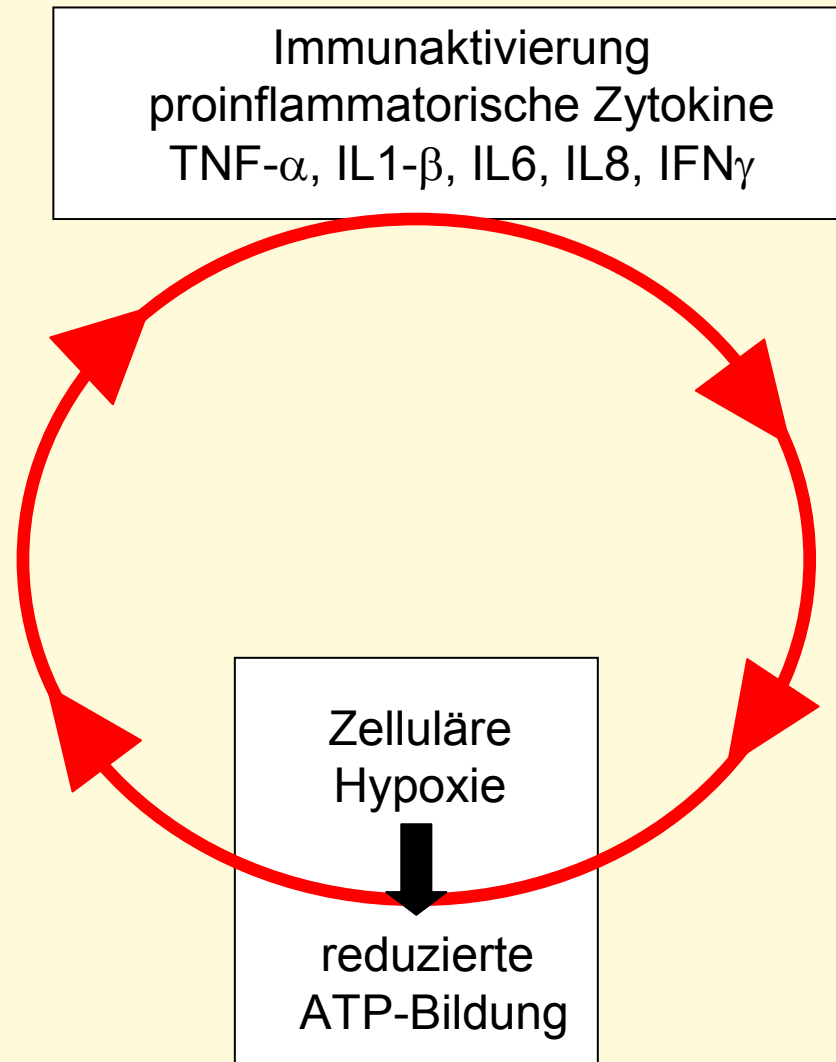
µg/l

&lt; 1



Kein Hinweis auf nitrosativen Stress



## Circulus vitiosus zwischen Entzündung und ATP-Verminderung



# Mastzell-assoziierte Entzündung

Untersuchung		Ergebnis	Einheit	Referenzbereich
TNF-alpha i.S.	(CLIA)	<b>9.3</b>	pg/ml	< 8.1
IP-10 i.Serum	(PIA)	344	pg/ml	< 1072
Hinweis auf leichte systemische Entzündung (TNF-a) ohne TH1-Immunktivierung (normales IP-10).				
 Histamin (gesamt) i. Hep.-Bl.	(EIA)	<b>211</b>	ng/ml	< 75
Nachweis einer Mastzell-assoziierten Entzündung				
ATP intrazellulär <sup>oo</sup>	(CLIA)	<b>1.88</b>	µM	> 2.0
Leicht reduziertes intrazelluläres ATP. Werte in diesem Bereich sind als Hinweis auf eine latente sekundäre Mitochondriopathie anzusehen.				
MDA-LDL i.S. (EIA)		23.7	U/l	< 40.0
Normaler MDA-LDL-Spiegel. Der Befund spricht gegen eine signifikante Lipidperoxidation als Folge eines oxidativen Stress.				
 Freies 3-Nitrotyrosin i. EDTA-Pl. <sup>o</sup>		<b>1.3</b>	µg/l	< 1
Signifikanter Hinweis auf nitrosativen Stress				

## Triggersuche gelenkt auf:

- Typ I-Allergie
- Parasiteninfektion
- Histaminintoleranz oder ausgeprägte TH2-Dominanz

Untersuchung	Ergebnis	Einheit	Referenzbereich
<u>Allergiediagnostik</u>			
IgE i.S. (FEIA)	72.1	kU/l	< 87.0
Allergenspez. IgE-Ak Schimmelpilze			
m1 Penicillium notatum RAST-Klasse 3 (HOCH): 3.51 - 17.50 kU/l neue Nomenklatur: Penicillium chrysogenum	<b>8.41</b>	kU/l	< 0.35
m2 Cladosporium herbarum RAST-Klasse 0 (NEGATIV)	<0.35	kU/l	< 0.35
m3 Aspergillus fumigatus RAST-Klasse 4 (SEHR HOCH): 17.51 - 50.00 kU/l	<b>22.65</b>	kU/l	< 0.35
m4 Mucor racemosus RAST-Klasse 0 (NEGATIV)	<0.35	kU/l	< 0.35
m6 Alternaria alternata RAST-Klasse 2 (MÄSSIG HOCH): 0.71 - 3.50 kU/l	<b>0.88</b>	kU/l	< 0.35
m11 Rhizopus nigricans RAST-Klasse 0 (NEGATIV)	<0.35	kU/l	< 0.35

# TH1-dominante Entzündung

Aktivierung von TH1-Lymphozyten  $\Rightarrow$  IFN- $\gamma$   $\Rightarrow$  IP-10

Untersuchung	Ergebnis	Einheit	Referenzbereich
TNF-alpha i.S. (CLIA)	6.8	pg/ml	< 8.1
IP-10 i.Serum (PIA)	<b>1944</b>	pg/ml	< 1072
Deutlicher Hinweis auf TH1-Immunaktivierung (IP-10) ohne begleitende myelo-monozytäre Entzündung.			
Histamin (gesamt) i. Hep.-Bl. (EIA)	34.8	ng/ml	< 75
Kein Hinweis auf eine Mastzell-assoziierte Entzündung			
ATP intrazellulär <sup>oo</sup> (CLIA)	2.44	$\mu$ M	> 2.0
ATP liegt im unteren Normbereich. Aktuell kein Hinweis auf eine primäre oder sekundäre Mitochondriopathie.			
MDA-LDL i.S. (EIA)	31.5	U/l	< 40.0
Normaler MDA-LDL-Spiegel. Der Befund spricht gegen eine signifikante Lipidperoxidation als Folge eines oxidativen Stress.			
Freies 3-Nitrotyrosin i. EDTA-Pl. <sup>o</sup>	0.1	$\mu$ g/l	< 1
Kein Hinweis auf nitrosativen Stress			



# Typ IV-Allergien auf Medikamente sind häufig unentdeckte Triggerfaktoren

## Ärztlicher Befundbericht

Patient	Geburtsdatum	Tagesnummer	IMD Berlin-Potsdam MVZ GbR Nicolaistraße 22, 12247 Berlin (Steglitz) Telefon: +49 30 77001-220, Fax: +49 30 77001-236	
Eingang	11.09.2012	Ausgang	18.09.2012	Versicherung <b>Kasse</b> Kennz. OI/II/III

Untersuchung / Material : **Lymphozytentransformationstest Medikamente**

( Heparinblut )

### Patient

**Pantoprazol 40 mg Tablette**

	SI
1:50	7,7
1:250	13,1
1:1000	16,3

### Kontrollproband

1:50	1,0
1:250	1,1
1:1000	1,1

Stimulationsindizes <3 bei einem parallel getesteten gesunden Kontrollprobanden schließen eine unspezifische Aktivierung durch das aufbereitete native Medikament weitestgehend aus.

Basalwert **1121** cpm

Positivkontrolle (Antigen) **36,9** SI

Mitogenkontrolle (PWM) **63,5** SI

Ergebnisse von > 8 bei der Mitogenkontrolle PWM und > 3 bei der Antigenkontrolle (Tetanus/Candida/Influenza) sichern die Auswertbarkeit der Untersuchung.

Die angegebenen Werte neben den Balken sind die Stimulationsindizes (SI) für das Medikament (Mittelwert von Mehrfachansätzen), das in 3 Verdünnungsstufen getestet wird. Die Ergebnisse sind als Balken zusätzlich dargestellt. Der Stimulationsindex ist der Quotient aus der medikamenteninduzierten- und der unstimulierten Thymidineinbaurate (Leerwert in cpm). Ein SI > 3 bedeutet eine mehr als dreifache Aktivierung im Vergleich zum Leerwert und beweist die Existenz von zirkulierenden spezifischen T-Zellen im Patientenblut (positives Ergebnis, zelluläre Sensibilisierung). Ein SI < 2 gilt als sicher negativ. Ergebnisse zwischen 2 und 3 sind als grenzwertig anzusehen (schwache bzw. fragliche Sensibilisierung), die ggf. kontrolliert werden sollten.

### Befund:

Im LTT Nachweis einer zellulären Sensibilisierung gegenüber dem nativ im Test eingesetzten Präparat Pantoprazol 40 mg.

Somit spricht der Befund dafür, dass gegenüber der Wirksubstanz oder einem darin enthaltenen Füll- oder Hilfsstoff eine Sensibilisierung im Sinne einer Typ IV-Immunreaktion vorliegt.

# Metalle (auch nicht dentalen Ursprungs) können tag-tägliche Triggerfaktoren sein !

Ärztlicher Befundbericht				
[Redacted Patient Information]			IMD Berlin-Potsdam MVZ GbR Nicolaistraße 22, 12247 Berlin (Steglitz) Telefon: +49 30 77001-220, Fax: +49 30 77001-236	
Eingang	10.09.2012	Ausgang	17.09.2012	Versicherung IGeL Kennz. O/II/III

Untersuchung / Material : **Lymphozytentransformationstest Metalle** ( Heparinblut )

	SI		SI
Chrom	1,0	Quecksilber	3,5
Kobalt	1,0	Gold	1,0
Palladium	1,1	Nickel	1,0
Silber	1,0	Cadmium	1,0
Aluminium	12,4	Ethylquecksilber	1,0
Zinn	1,1	Molybdän	1,0
Kupfer	1,0	Platin	1,0

Leerwert (Negativkontrolle)	2170	( Normalwert < 4000 cpm)
Positivkontrolle (Antigen)	83587 cpm	38,5
Mitogenkontrolle (PWM)	101999 cpm	47,0

Hinweis: Die in Amalgam enthaltenen Legierungsmetalle sind Quecksilber, Silber, Kupfer und Zinn. Diese wurden im Profil einzeln getestet (siehe oben).

Ergebnisse von > 8 bei der Mitogenkontrolle PWM und > 3 bei der Antigenkontrolle (Tetanus/Candida/Influenza) sichern die Auswertbarkeit der Untersuchung .

Die angegebenen Werte neben den Balken sind die Stimulationsindizes (SI) für das jeweilige Allergen (Mittelwert). Dieser ergibt sich aus dem Mittelwert von 3 isoliert untersuchten Stimulationsansätzen. Dieser Wert ist zusätzlich als Balken dargestellt. Der Stimulationsindex ist der Quotient aus der allergeninduzierten und der unstimulierten Thymidineinbaurate (Leerwert in cpm). Ein SI > 3 bedeutet eine mehr als dreifache Aktivierung im Vergleich zum Leerwert und beweist die Existenz von zirkulierenden allergenspezifischen T-Zellen im Patientenblut (positives Ergebnis, zelluläre Sensibilisierung). Ein SI < 2 gilt als sicher negativ. Ergebnisse zwischen 2 und 3 sind als grenzwertig anzusehen (schwache bzw. fragliche Sensibilisierung), die ggf. kontrolliert werden sollten.

### Befund:

Im LTT Nachweis einer zellulären Sensibilisierung im Sinne einer Typ IV-Immunreaktion gegenüber Aluminium und anorg. Quecksilber.

Sensibilisierungen auf Aluminium können Immunreaktionen auf Aluminiumhydroxid bedingen, welches in Injektionslösungen aber auch Deodorants enthalten sein kann.

Eine Quecksilbersensibilisierung kann Ursache einer allergisch bedingten Amalgamüberempfindlichkeit sein, da es in Amalgam zu ca. 50 % enthalten ist.

## Hier steht der oxidative Stress im Fokus !

Untersuchung	Ergebnis	Einheit	Referenzbereich
TNF-alpha i.S. (CLIA)	5.2	pg/ml	< 8.1
IP-10 i.Serum (PIA)	<b>1012</b>	pg/ml	< 1072
Schwache (grenzwertige) TH1-(Begleit-)Immunaktivierung (IP-10) ohne myelo-monozytäre Entzündung.			
Histamin (gesamt) i. Hep.-Bl. (EIA)	22.1	ng/ml	< 75
Kein Hinweis auf eine Mastzell-assoziierte Entzündung			
ATP intrazellulär <sup>oo</sup> (CLIA)	<b>0.88</b>	µM	> 2.0
Vermindertes intrazelluläres ATP als Hinweis auf eine sekundäre Mitochondriopathie.			
MDA-LDL i.S. (EIA)	<b>183.1</b>	U/l	< 40.0
Das erhöhte MDA-modifizierte LDL weist auf eine signifikante Lipidperoxidation als Folge eines oxidativen Stress hin.			
Freies 3-Nitrotyrosin i. EDTA-Pl. <sup>o</sup>	0.3	µg/l	< 1
Kein Hinweis auf nitrosativen Stress			

**Triggerfaktoren (Stressoren)** wie z.B. bakterielle und virale Antigene, Pilze, Allergene, Schadstoffe und Xenobiotika (Pestizide, Lösungsmittel), Stress

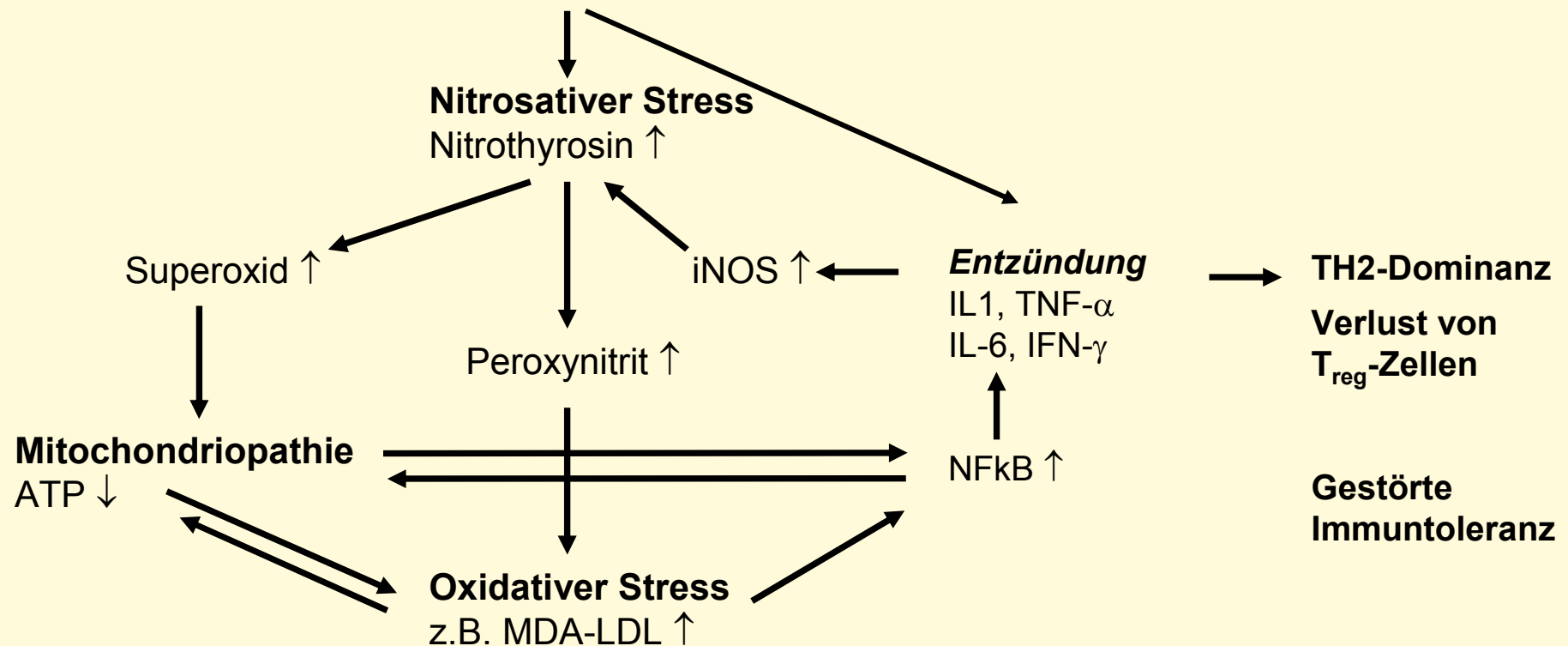


Abb. modifiziert nach Pall, Dr. (PhD) Martin L.: Explaining 'Unexplained Illnesses': Disease Paradigm for Chronic Fatigue Syndrome, Multiple Chemical Sensitivity, Fibromyalgia, Posttraumatic Stress Disorder, Gulf War Syndrome and Others, ISBN 078902389X



# Die klassische Konstellation bei chronischen entzündlichen Multisystemerkrankungen:

## Entzündung + Mitochondriopathie + TH2-Dominanz

TNF-alpha i.S. **23.1** pg/ml

Ein erhöhtes TNF-a spricht für eine bestehende systemische Entzündung, d.h. eine Aktivierung des Monozyten-/Makrophagensystems.

< 8.1  
**Entzündung**

ATP intrazellulär<sup>oo</sup> (CLIA) **0.88** µM

Vermindertes intrazelluläres ATP als Hinweis auf eine sekundäre Mitochondriopathie (wahrscheinlich in Folge der systemischen Entzündung, siehe TNF-a).

> 2.0  
**Mitochondriopathie**

### TH1/TH2 - Zytokinprofil

Angegeben sind die Zytokinkonzentrationen nach 24 Stunden Stimulation mit ConA/SEB.

IFN-g **166** pg/ml

450 - 2000

IL-4 **523** pg/ml

50 - 250

Die stimulierte Zytokinfreisetzung der T-Lymphozyten zeigt einen expandierten TH2-Zell-Anteil (erhöhtes IL-4) bei reduzierter TH1-Antwort (IFNg niedrig).

**TH1/2-Dysbalance**

Dieses spricht für eine TH2 > TH1-Dysbalance, typisch für eine atopische Immundeprivation (DD: z.B. Parasitose, chronische Infektion, Kortikoidtherapie).

# Wenig überraschend ! Intrazelluläres ATP ist bei CFS-Patienten vermindert ....

Int J Clin Exp Med (2009) 2, 1-16  
[www.ijcem.com/IJCEM812001](http://www.ijcem.com/IJCEM812001)

## *Original Article*

## Chronic fatigue syndrome and mitochondrial dysfunction

Sarah Myhill<sup>1</sup>, Norman E. Booth<sup>2</sup>, John McLaren-Howard<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Sarah Myhill Limited, Llangunllo, Knighton, Powys, Wales LD7 1SL, UK; <sup>2</sup>Department of Physics and Mansfield College, University of Oxford, Oxford OX1 3RH, UK; <sup>3</sup>Acumen, PO Box 129, Tiverton, Devon EX16 0AJ, UK

Received December 2, 2008; accepted January 12, 2009; available online January 15, 2009

**Abstract:** This study aims to improve the health of patients suffering from chronic fatigue syndrome (CFS) by interventions based on the biochemistry of the illness, specifically the function of mitochondria in producing ATP (adenosine triphosphate), the energy currency for all body functions, and recycling ADP (adenosine diphosphate) to replenish the ATP supply as needed. Patients attending a private medical practice specializing in CFS were diagnosed using the Centers for Disease Control criteria. In consultation with each patient, an integer on the Bell Ability Scale was assigned, and a blood sample was taken for the "ATP profile" test, designed for CFS and other fatigue conditions. Each test produced 5 numerical factors which describe the availability of ATP in neutrophils, the fraction complexed with magnesium, the efficiency of oxidative phosphorylation, and the transfer efficiencies of ADP into the mitochondria and ATP into the cytosol where the energy is used. With the consent of each of 71 patients and 53 normal, healthy controls the 5 factors have been collated and compared with the Bell Ability Scale. The individual numerical factors show that patients have different combinations of biochemical lesions. When the factors are combined, a remarkable correlation is observed between the degree of mitochondrial dysfunction and the severity of illness ( $P < 0.001$ ). Only 1 of the 71 patients overlaps the normal region. The "ATP profile" test is a powerful diagnostic tool and can differentiate patients who have fatigue and other symptoms as a result of energy wastage by stress and psychological factors from those who have insufficient energy due to cellular respiration dysfunction. The individual factors indicate which remedial actions, in the form of dietary supplements, drugs and detoxification, are most likely to be of benefit, and what further tests should be carried out.

# Verminderung des ATP in neutrophilen Granulozyten korreliert zur Schwere des CFS

(Entzündungsmarker wurden leider nicht bestimmt!)

## Chronic fatigue syndrome and mitochondrial dysfunction

**Table 1.** Some features of the factors measured in the “ATP profile” tests

Category	Percentage of patients in normal region					
	ATP	ATP Ratio	Ox Phos	TL OUT	TL IN	TL OUT×TL IN
all (N=71)	28 ± 5	28 ± 5	38 ± 6	39 ± 6	52 ± 6	30 ± 5
very severe	12 ± 7	32 ± 10	32 ± 10	24 ± 9	24 ± 9	8 ± 6
severe	19 ± 9	29 ± 10	19 ± 9	38 ± 11	48 ± 11	14 ± 8
moderate	52 ± 10	24 ± 9	60 ± 10	56 ± 10	84 ± 8	64 ± 10

The errors shown are ±1 SD (Standard Deviation), computed with the binomial distribution.



# Durchführung der intrazellulären ATP-Bestimmung

1. Gewinnung von PBMC aus Patientenblut durch Dichtegradientenzentrifugation

2. Aufnahme der Zellen in Zellkulturmedium, anschließende Lyse der Zellen, wobei das intrazelluläre ATP freigesetzt wird.



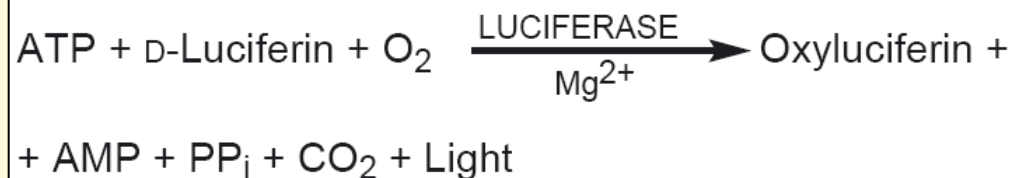
← **PBMC** →

3. Zugabe des Substrats D-Luciferin und Luciferasen



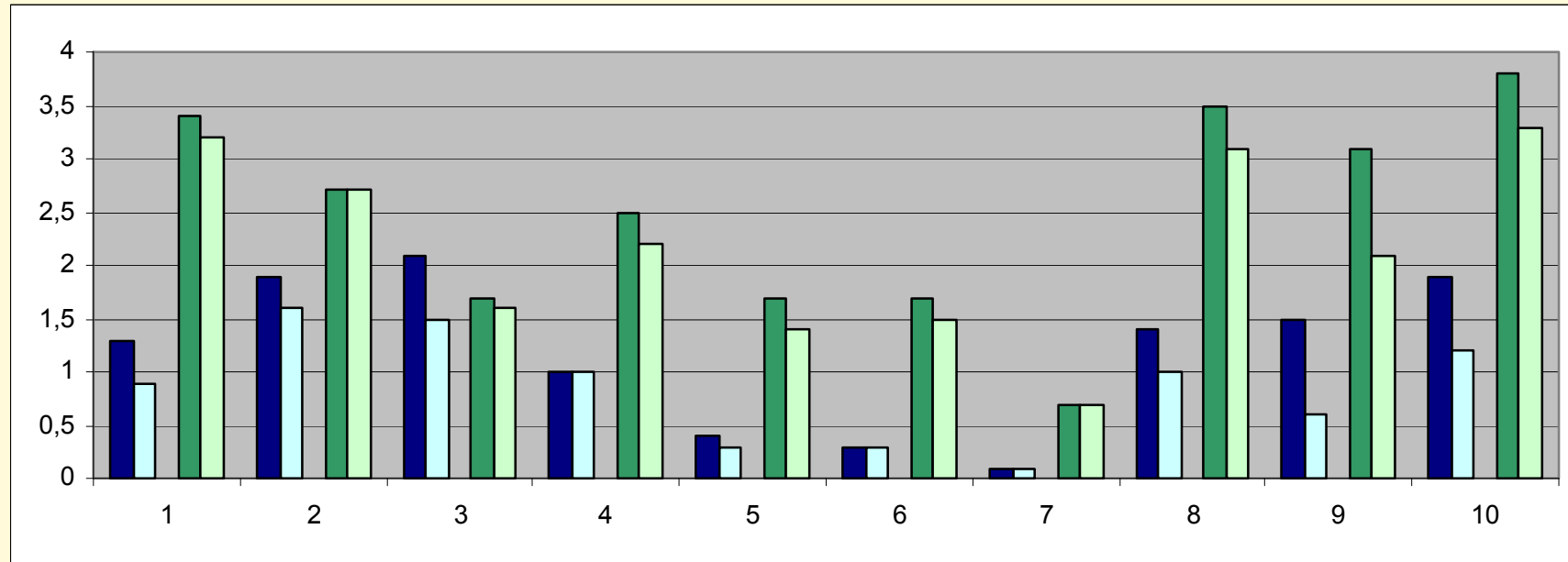
4. Bei der Reaktion des freigesetzten ATP mit dem Substrat D-Luciferin und Sauerstoff wird mittels Luciferasen Licht produziert. Das emittierte Licht kann am Lumineszenz-Counter gemessen werden und ist zur ATP-Konzentration direkt proportional.

## Reaktionsprinzip



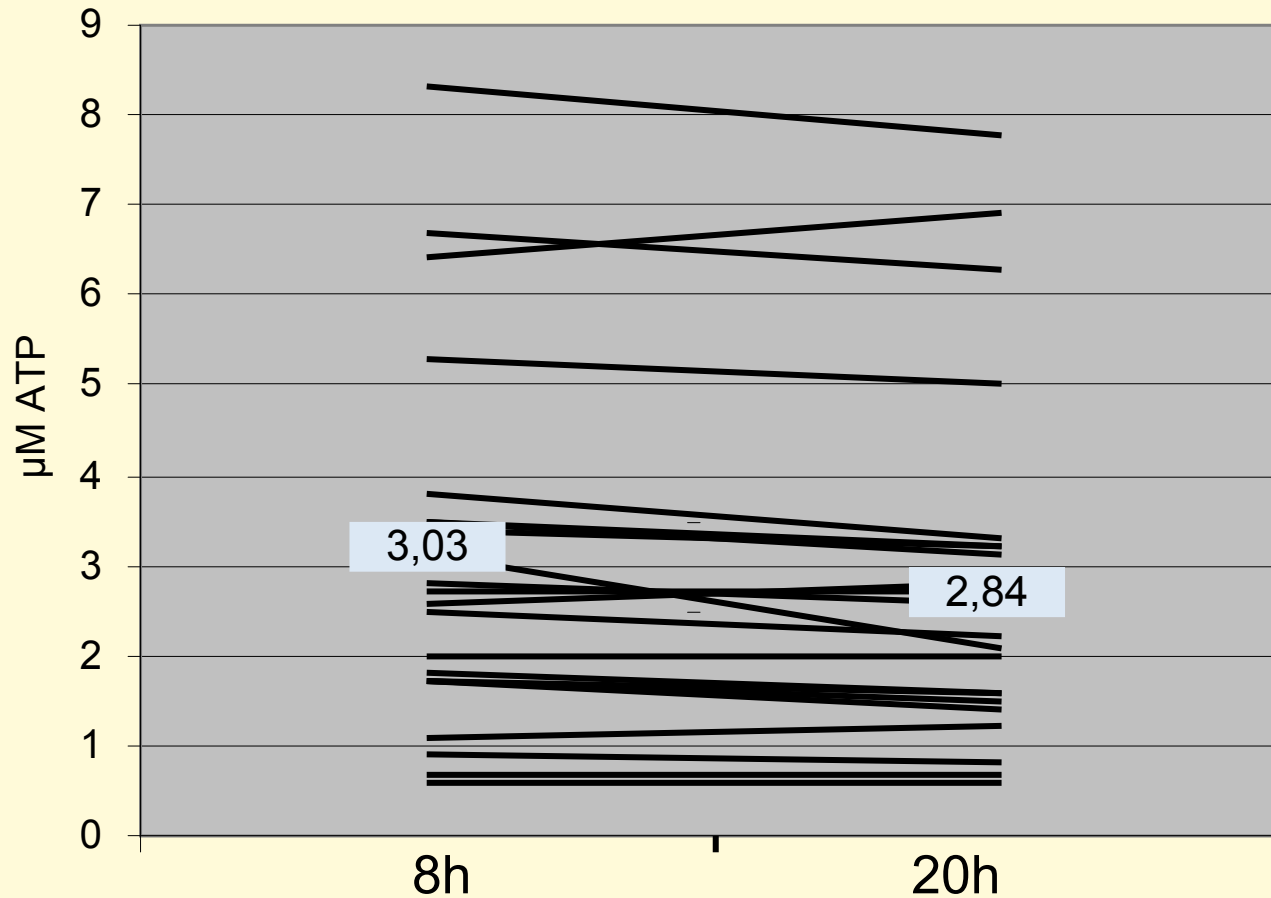
Perkin Elmer

## Lithium-Heparinblut ist besser geeignet als CPDA-Blut



- CPDA-Blut 4 h gelagert
- CPDA-Blut 20 h gelagert
- Li-Heparin-Blut 4 h gelagert
- Li-Heparin-Blut 24 h gelagert

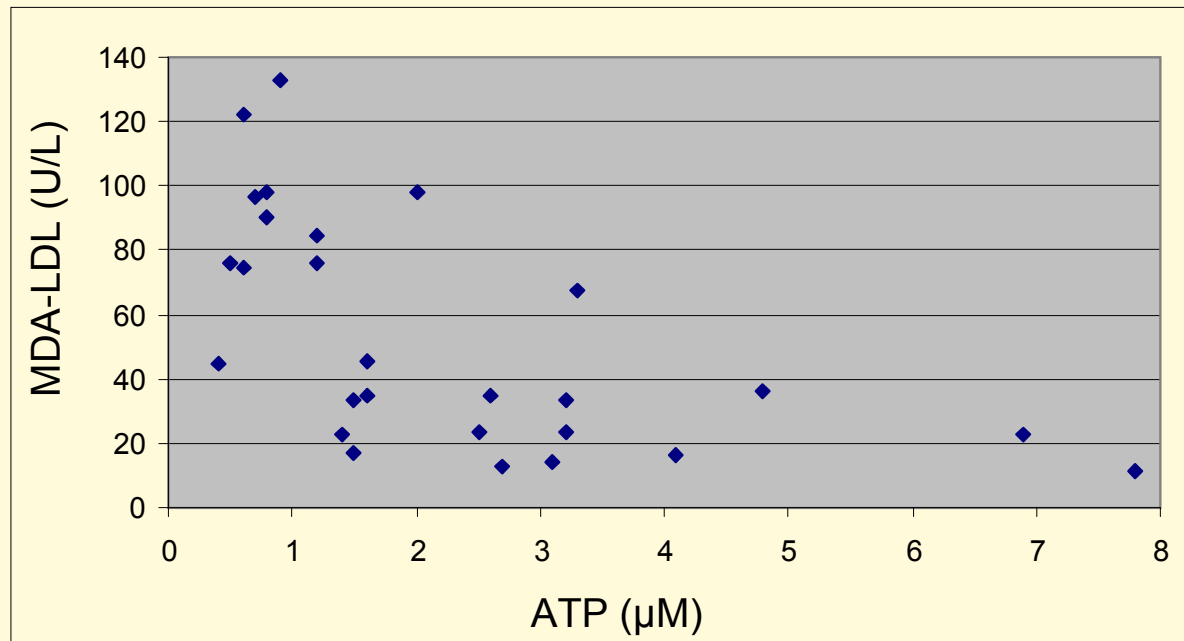
**Bei 24h-Lagerung des Patientenblutes resultiert bei Heparinblut ein durchschnittlicher Abfall des ATP um nur ca. 4 bis 7 %.**



**Das ATP ist ein valider und praktikabler Labormarker für die aktuelle Mitochondrienfunktion eines Patienten.**

# Inverse Korrelation zwischen ATP und MDA-LDL

	<b>ATP</b>	<b>MDA-LDL</b>
	$\mu\text{M}$	U/l
P1	3,2	23,6
P2	2,7	12,6
P3	1,6	45,8
P4	4,8	36
P5	1,4	22,5
P6	1,5	17,4
P7	0,7	96,7
P8	3,1	14,3
P9	1,2	84,3
P10	3,3	67,3
P11	1,5	33,6
P12	2	98,3
P13	3,2	33,7
P14	4,1	16
P15	0,6	74,9
P16	2,6	34,5
P17	0,6	122
P18	0,8	98
P19	1,2	76,2
P20	1,6	34,8
P21	7,8	11,7
P22	6,9	22,5
P23	2,5	23,6
P24	0,5	75,9
P25	0,8	90,3
P26	0,9	132,9
P27	0,4	44,8



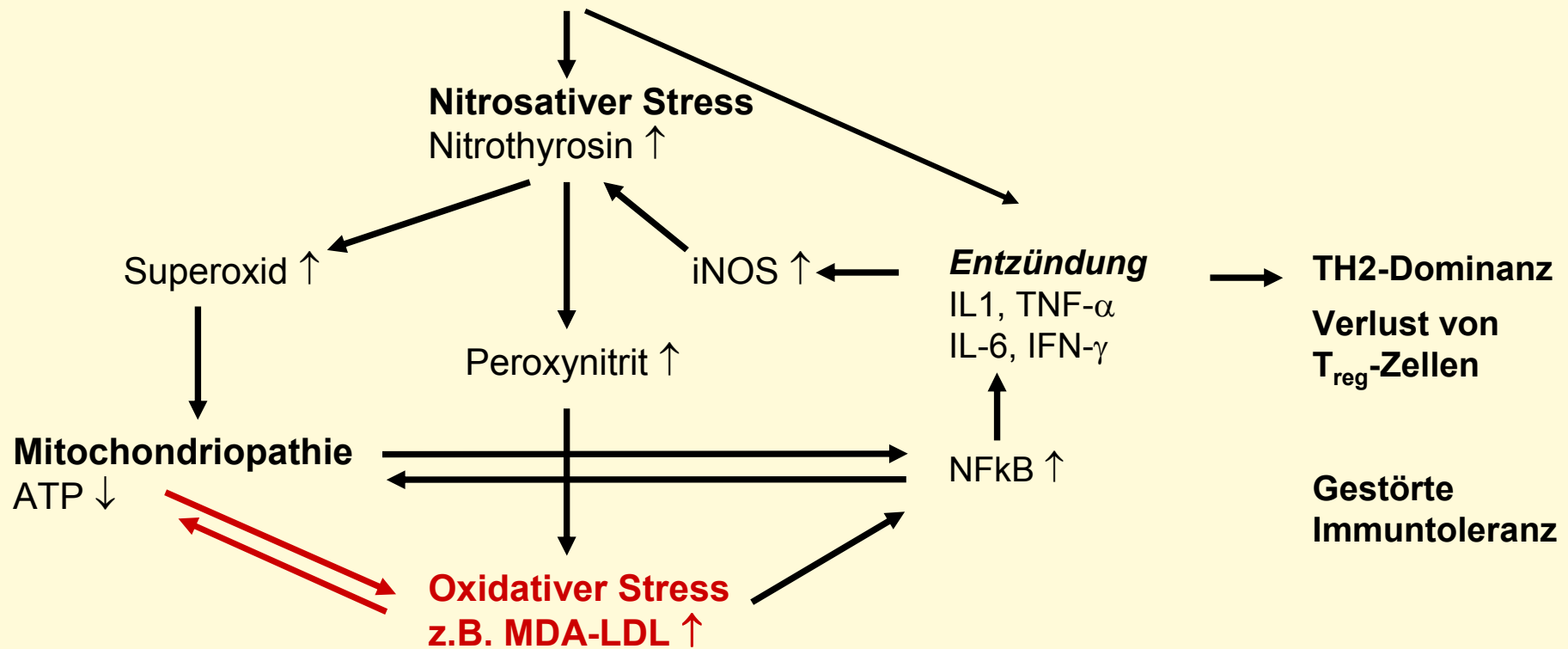
Achtung:  
statistische Berechnung  
Korrelationsquotient  
steht noch aus

**Mitochondriopathie bedingt oxidativen Stress ?**

**Oxidativer Stress bedingt Mitochondriopathie?**

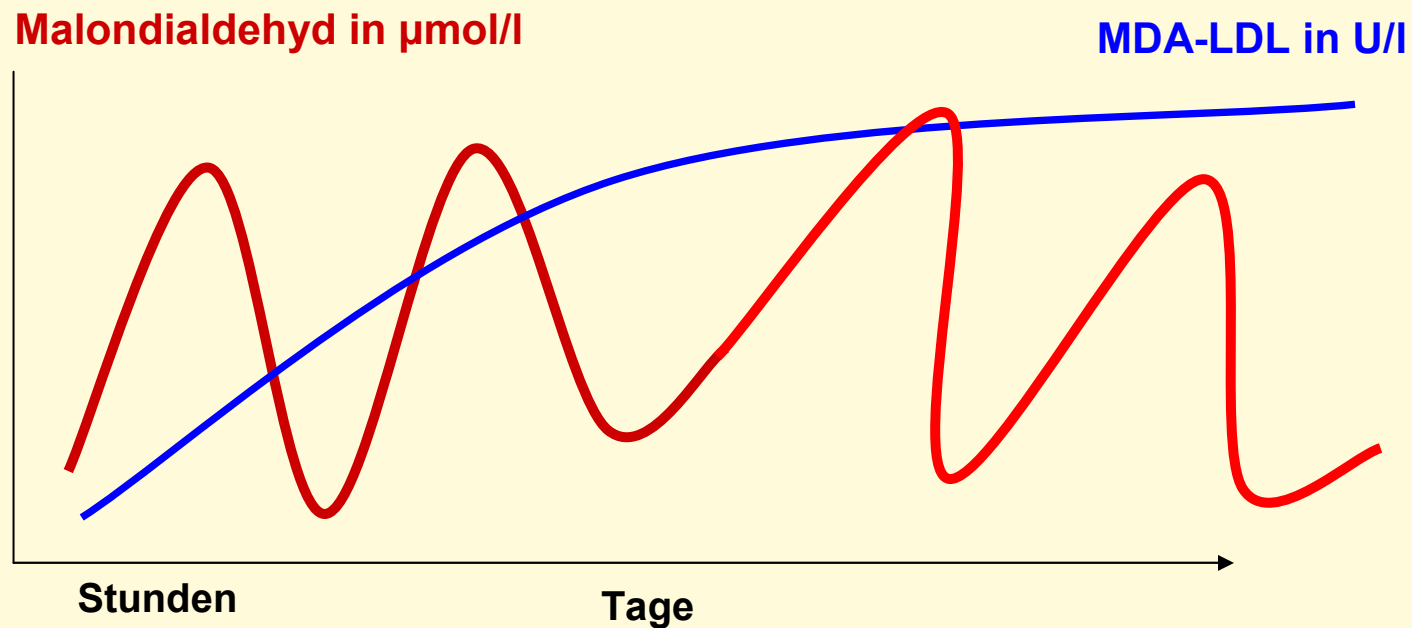
**Beide Phänomene sind (nur) Folge der systemischen Entzündung?**

**Triggerfaktoren (Stressoren)** wie z.B. bakterielle und virale Antigene, Pilze, Allergene, Schadstoffe und Xenobiotika (Pestizide, Lösungsmittel), Stress





**Malondialdehyd (MDA)** ist ein Endprodukt des oxidativen Fettsäureabbaus und dient daher als **labordiagnostischer Marker für die Lipidperoxidation**.



**MDA-LDL** ist ein Serummarker, der die schädigenden Effekte des MDA's im Organismus quantifiziert.

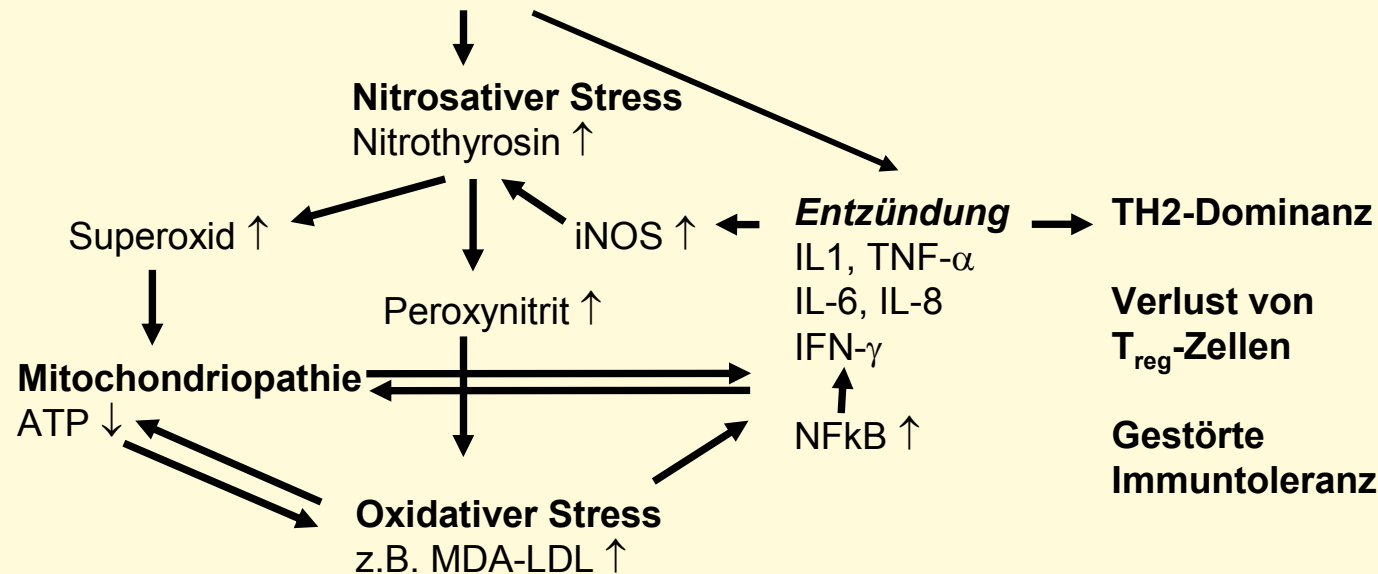
## Malondialdehyd-modifiziertes LDL ist ein Biomarker der Lipidperoxidation im Rahmen des oxidativen Stress

Untersuchung	Ergebnis	Einheit	Referenzbereich
Malondialdehyd im Plasma (HPLC) Ein normales Malondialdehyd im Plasma stellt lediglich eine Momentaufnahme dar und kann eine latent gesteigerte Lipidperoxidation nicht ausschließen (siehe erhöhter Wert beim MDA-LDL).	1.21	µmol/l	0.36 - 1.24
MDA-LDL i.S. (EIA) Das erhöhte Malondialdehyd-modifizierte LDL im Blut spricht für eine verstärkte Lipidperoxidation in Folge eines andauernden oxidativen Stress.	<b>144</b>	U/l	< 83

**Vor allem bei chronisch latenten Belastungen zeigt das MDA-LDL als Biomarker die höhere Analysenstabilität**

# Therapeutische Optionen bei sekund. Mitochondriopathie

**Triggerfaktoren (Stressoren)** wie z.B. bakterielle und virale Antigene, Pilze, Allergene, Schadstoffe und Xenobiotika (Pestizide, Lösungsmittel), Stress



- **Elimination individueller Triggerfaktoren** (v.a. Typ IV-Sensibilisierungen)
- **Entzündungshemmung** (auch mit biologischen Präparaten)
- **Behandlung von nitrosativem und oxidativem Stress** (Kuklinski)
- **NADH** (Birkmeyer)
- **Curcuma, Coenzym Q10** (Huber)
- **Andere ?**

# Inverser Verlauf von ATP und TNF- $\alpha$ nach operativer Sanierung eines apikalen Granuloms

## Erstuntersuchung bei akuter Klinik

**Material: 1x EDTA-Blut**

Untersuchung	Ergebnis	Einheit	Referenzbereich
TNF-alpha i.S. Nachweis einer systemischen Entzündung	<b>34.2</b>	pg/ml	< 8.1
ATP intrazellulär <sup>oo</sup> (CLIA) Vermindertes intrazelluläres ATP, Hinweis auf metabolische zelluläre Defizienz.	<b>0.68</b>	$\mu$ M	> 1.0

## 10 Tage nach OP

Untersuchung	Ergebnis	Einheit	Referenzbereich
TNF-alpha i.S. rückläufige systemischen Entzündung	<b>16.1</b>	pg/ml	< 8.1
ATP intrazellulär <sup>oo</sup> (CLIA) ATP-Anstieg im Vergleich zum Vorbefund, sehr wahrscheinlich als Folge der antientzündlichen Therapiemassnahme	<b>1.78</b>	$\mu$ M	> 1.0

## 4 Wochen nach OP

Untersuchung	Ergebnis	Einheit	Referenzbereich
TNF-alpha i.S. Die systemischen Entzündung ist kaum noch nachweisbar	<b>8.9</b>	pg/ml	< 8.1
ATP intrazellulär <sup>oo</sup> (CLIA) Normalisierung des intrazellulären ATP, sehr wahrscheinlich Folge der durchgeführten Sanierungsmassnahmen.	<b>3.66</b>	$\mu$ M	> 1.0

## Zusammenfassung

- Mitochondrienfunktionsstörungen können (selten) angeboren oder (häufig) erworben sein.
- ATP in Leukozyten ist der am validesten messbare Mitochondrien-Funktionsmarker
- Die sekundäre Mitochondriopathie steht in unmittelbarer Beziehung zur systemischen Entzündung, des nitrosativen und oxidativen Stress sowie der TH2-Dominanz im zellulären Immunsystem.
- Die Elimination von Triggerfaktoren ist die wichtigste therapeutische Massnahme bei sekundärer Mitochondriopathie
- Entzündungshemmung und Vermeidung von nitrosativem Stress sind additiv einzusetzen.