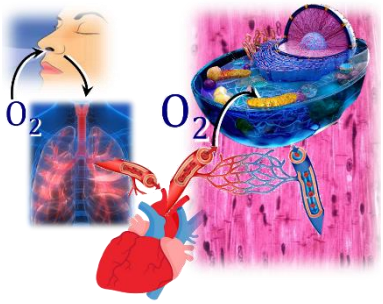
Bioenerg Commun 2025.5DE
https://doi.org/10.26124/bec.2025-0005DE

BEC Fortbildungsreihe: Elemente der mitochondrialen Physiologie und Bioenergetik

Zitat
Gnaiger E (2025) Mitochondriale Atmungsfunktionen der lebenden Zellen (Gnaiger E, Übers.). Bioenerg Commun 2025.5DE https://doi.org/10.26124/bec.2025-0005DE

Einführend



Originalversion (EN)
Gnaiger E (2025) Mitochondrial respiratory function in living cells. Bioenerg Commun 2025.5. https://doi.org/10.26124/bec.2025-0005

Interessenskonflikt
EG ist Herausgeber der BEC Fortbildungsreihe *Elemente der mitochondrialen Physiologie und Bioenergetik* und hatte keinen Einfluss auf den Begutachtungsprozess.

Veröffentlicht (EN) 2025-05-06
Veröffentlicht (DE) 2025-10-10

Wissenschaftlicher Redakteur
Christopher Axelrod

Gutachter
Steven C Hand (EN)
Brian Irving (EN)

Mitochondriale Atmungs-funktionen der lebenden Zellen

Erich Gnaiger

Oroboros Instruments, Innsbruck, Österreich
Korrespondenz: erich.gnaiger@oroboros.at

Zusammenfassung

Das Atmen geschieht unbewusst, aber jeder Atemzug setzt eine vitale Reise in Gang. Sauerstoff (O_2) gelangt durch die Nase in die Lunge und über den Blutkreislauf in das Gehirn, die Muskeln und jede Zelle im Körper. Tief im Inneren dieser winzigen Zellen entfacht Sauerstoff das Feuer des Lebens in den Mitochondrien – mikroskopisch kleine, mit Bakterien vergleichbare Strukturen. Dieser O_2-Transportweg verbindet die *äußere* Atmung mit der zellulären *inneren* Atmung. In den Mitochondrien wird die Energie der Nährstoffe in Wärme und eine für chemische Arbeit verfügbare Energieform umgewandelt. Mitochondrien sind elektrochemische Kraftwerke, die Sauerstoff verbrauchen und Adenosintriphosphat (ATP), die biochemische Energiewährung der Zelle, produzieren. Die Messung der Zellatmung ermöglicht, die bioenergetischen Funktionen der Mitochondrien zu beurteilen, um die menschliche Leistungsfähigkeit zu verbessern, potenzielle Defekte zu erkennen und das ärztliche Fachpersonal dabei zu unterstützen, die aerobe Kapazität und Vitalität ihrer Patienten zu erhalten.

Die folgenden, für die Zellatmung grundlegenden Konzepte werden erläutert:

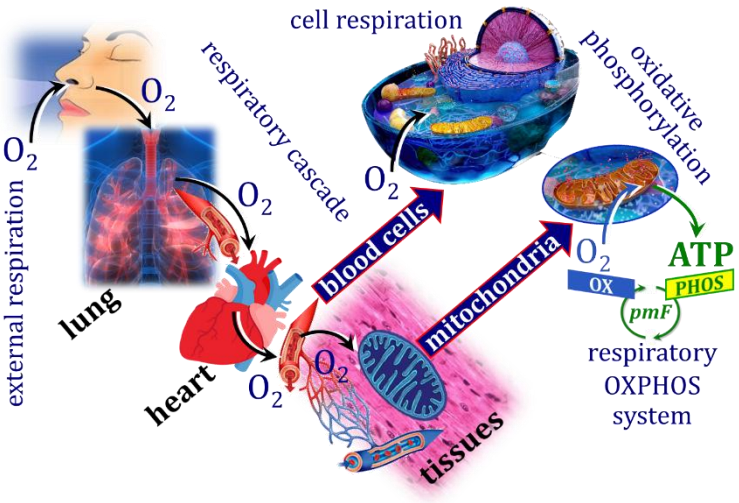
- Zelluläre Routineatmung: gesteuert durch die Physiologie der lebenden Zelle.
- Oxidative Kapazität: gemessen als maximaler Sauerstoffverbrauch, entkoppelt von der ATP-Produktion, im Gegensatz zur OXPHOS-Kapazität — der Kapazität der oxidativen Phosphorylierung.

Schlüsselwörter
Zellatmung
Verlustatmung
oxidative Kapazität
oxidative Phosphorylierung
mitochondriale Atmung
Restsauerstoffverbrauch
Routineatmung

- Verlustatmung: gemessen nach Hemmung der ATP-Produktion.
- Restsauerstoffverbrauch: ein kleiner, nach vollständiger Hemmung der oxidativen Kapazität verbleibender Teil des Sauerstoffverbrauchs.

Die Messung der Zellatmung in experimentell kontrollierten respiratorischen Zuständen und die Berechnung ihrer Beziehungen liefert diagnostische Informationen über die mitochondriale Fitness.

Einleitung: Steigen Sie eine Treppe hinauf und beobachten Sie, wie Ihre Atmungsfrequenz zunimmt. Mit jedem Atemzug wird Luft in die Lungen gesaugt, Sie atmen Sauerstoff (O_2) ein und Kohlendioxid (CO_2) aus. Doch warum ist das Atmen überlebenswichtig? Und was passiert mit dem Sauerstoff, nachdem er in den Blutkreislauf gelangt?



Die bei der Atmung befeuchtete Luft enthält etwa 20 % Sauerstoff. Bei der äußeren Atmung strömt O_2-Gas in die Lunge, wo es sich im Blutkreislauf löst und an das Hämoglobin der roten Blutkörperchen bindet. Das Herz pumpt dann sauerstoffreiches Blut über die Atmungskaskade in die Gewebe. Die Mikrozirkulation verteilt O_2-Moleküle an die einzelnen Zellen. Wenn der intrazelluläre Sauerstoffdruck niedriger ist als der im Blut, diffundiert Sauerstoff in die Zellen.

Viele zelluläre Reaktionen verbrauchen Sauerstoff, doch die wichtigsten oxidativen Reaktionen zur Umwandlung von O_2 in Wasser (H_2O) finden in den Mitochondrien statt. Dies erklärt, warum die O_2-Konzentration in der Zelle niedrig ist. Die Zellatmung hängt von der äußeren Atmung und der kontinuierlichen Zufuhr von O_2 durch die Atmungskaskade ab. Wenn die Sauerstoffzufuhr stoppt, sinkt die intrazelluläre O_2-Konzentration auf null und die aeroben Funktionen der Mitochondrien werden unterbunden. Die äußere Atmung allein kann das Leben jedoch nicht erhalten, wenn die Mitochondrien geschädigt werden oder der Mitochondriengehalt der Zelle abnimmt.

Dieser Beitrag zur BEC Fortbildungsreihe führt in die Zellatmung ein: Abschnitt 1 erläutert die Zellatmung, die unter experimentell kontrollierten Bedingungen untersucht

wird, um die Atmungsrate in definierten Atmungszuständen zu bestimmen. Abschnitt 2 veranschaulicht das Konzept der Zellatmung anhand eines experimentellen Beispiels. Die Analyse des Sauerstoffverbrauchs hilft uns, mehr über die spezifischen Funktionen der Mitochondrien in der Zelle zu erfahren.

1. Zellatmung

Die Zellatmung befeuert das Leben durch Energieumwandlung und macht sie damit zu einem Eckpfeiler der Bioenergetik. In der Zelle wird Energie benötigt, um ATP in aeroben (sauerstoffabhängigen) und anaeroben (sauerstoffunabhängigen) Prozessen herzustellen. Bei der aeroben Zellatmung ist Sauerstoff essentiell für die Aufrechterhaltung des "Feuers des Lebens" während der Verbrennung von Substraten, die als Kraftstoffe verwendet werden. Die Zellatmung kann als Sauerstoffverbrauch gemessen werden. Im Gegensatz dazu verläuft die Fermentation anaerob ohne Beteiligung von Sauerstoff. Die glykolytische Fermentation wird durch die Analyse von katabolen Endprodukten bestimmt: Ethanol in Hefe oder Laktat in den meisten tierischen Zellen. Katabolismus ist die Zerlegung von Nährstoffen in kleinere Metaboliten, die entweder als Abfallprodukte ausgeschieden oder als Bausteine verwendet werden, die für die Biosynthese (Anabolismus) und das Wachstum benötigt werden. Mitochondrien sind ein metabolischer Knotenpunkt, der Katabolismus und Anabolismus verbindet.

Der in die Zelle transportierte Sauerstoff verbrennt (oxidiert) Kraftstoffe, die aus Kohlenhydraten, Fett und Proteinen gebildet werden. Während des Prozesses der Oxidation werden Wasserstoffionen (H^+) und Elektronen (e^-) von den reduzierten Nährstoffen (wasserstoffreiche Kohlenstoffmoleküle, wie z. B. Pyruvat, $C_3H_4O_3$) über eine komplexe Reihe von Elektronentransfer-Reaktionen auf O_2 übertragen, wobei Wasserstoff $\{H^+ + e^-\}$ von den reduzierten Kohlenstoffmolekülen entfernt wird und zur Bildung von Kohlendioxid (CO_2) und Wasser (H_2O) führt. Dieser H^+-verknüpfte Elektronentransfer gibt dem in den Mitochondrien befindlichen Elektronentransfer-System (ETS) den Namen.

Eine Hauptaufgabe der mitochondrialen (mt) Atmung ist die oxidative Phosphorylierung (OXPHOS) – ein elektrisch angetriebener biochemischer Prozess, der ATP, die wichtigste Energiewährung der Zelle, erzeugt. Der Antrieb der ATP-Produktion ist die protonenmotorische Kraft (pmF), die selbst für viele Spezialisten der Bioenergetik ein rätselhaftes Konzept bleibt [5]. Bei OXPHOS bezieht sich der Begriff *Phosphorylierung* (PHOS) auf die Bindung von Phosphat an Adenosindiphosphat (ADP, mit zwei Phosphatgruppen), woraus Adenosintriphosphat (ATP, mit drei Phosphatgruppen) entsteht. Bevor wir weiter auf PHOS eingehen, werden einige Details zur *Oxidation* (OX) und dem damit verbundenen Prozess der *Reduktion* erläutert.

Mitochondrien kommunizieren über zwei Membranbarrieren – die innere und äußere mt-Membran – mit den anderen zellulären Kompartimenten. Kraftstoffe werden

in die Mitochondrien transportiert, und fungieren bei deren Oxidation als Donoren von $\{H^+ + e^-\}$. O_2 wird als Akzeptor von $\{H^+ + e^-\}$ reduziert. Die chemische Kraft von $\{H^+ + e^-\}$-Donoren zu O_2 treibt den Sauerstoffverbrauch an, der die protonenmotorische Kraft (pmF) erzeugt, indem Protonen (H^+) aus dem inneren Kompartiment der Mitochondrien (Matrixraum) über die mt-Innenmembran gepumpt werden. Dies entspricht dem Aufladen der mitochondrialen Batterie. Es sollte jedoch bedacht werden, dass nicht nur eine elektrische Potentialdifferenz zur *pmF* beiträgt, sondern zusätzlich eine diffusive Komponente wirkt, die aus der über die mt-Innenmembran aufgebauten pH-Differenz berechnet wird [5].

Die *pmF* treibt die ATP-Synthese an, indem sie die Protonen durch einen molekularen elektrochemischen Generator, der in der mt-Innenmembran lokalisiert ist, zurück in den Matrixraum treibt. Dieser molekulare Rotor ist als die ATP-Synthase bekannt und kann mit einem Windrad oder einer Turbine verglichen werden, die kinetische Energie in elektrische Energie umwandelt. Die ATP-Synthase wandelt die protonenmotorische Energie der mitochondrialen Batterie in chemische Energie in Form von ATP um. ATP ist essentiell für die Unterstützung der Zellfunktionen, die Erhaltung der Gesundheit und die Ermöglichung des Wachstums oder sogar des kontrollierten Zelltods. Die in der OXPHOS gekoppelte Energieumwandlung kann jedoch durch einen Kurzschluss der mitochondrialen Batterie entkoppelt werden, wonach die gesamte Energie entwertet wird und damit die Arbeitsfähigkeit verloren geht. Pharmakologische Entkoppler erhöhen die Verbrennung von Energiespeichern und helfen, bei Überernährung übermäßige Körpermasse zu verlieren, aber sie können sich nachteilig auf die Gesundheit auswirken. Die Zellatmung wird in verschiedenen Kopplungszuständen untersucht, die *in vitro* experimentell kontrolliert werden, aber aus ethischen Gründen nicht auf lebende Organismen angewendet werden dürfen.

Hinweise zur Zellatmung

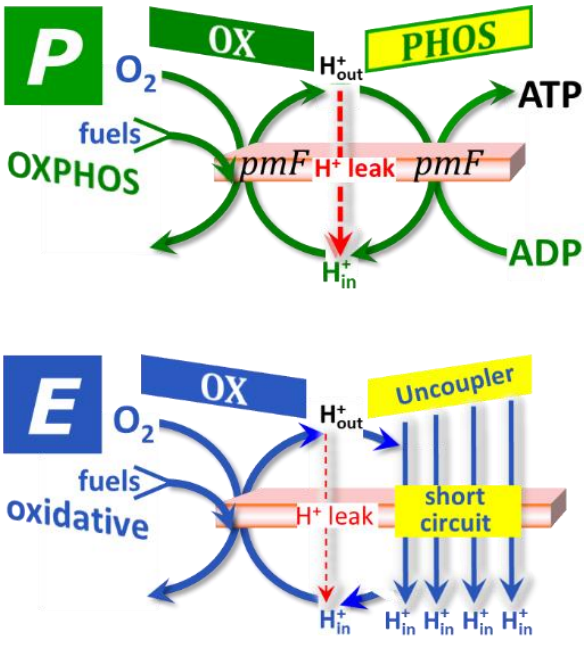
- Atmung und Fermentation werden als aerober bzw. anaerober Energiestoffwechsel unterschieden.
- Bei der aeroben Zellatmung werden ADP/ATP und Redox-Gleichgewichte durch den H^+- und e^--Akzeptor Sauerstoff aufrechterhalten.
- Kraftstoffe sind als Elektronendonatoren wirkende Substrate, die Elektronen e^- und Wasserstoffionen H^+ liefern. Sauerstoff wird reduziert und es entsteht Wasser, $2\{H^+ + e^-\} + 0.5\ O_2 \rightarrow H_2O$.
- In der OXPHOS erzeugt die Oxidation (OX) die protonenmotorische Kraft (pmF), indem Protonen (H^+) durch die mitochondriale Innenmembran gepumpt werden. Die Phosphorylierung (PHOS) ist die aufwärts verrichtete ATP-Produktion, die durch den entlang der pmF abwärts fließenden Protonenstrom angetrieben wird.
- Protonen H^+ spielen eine doppelte Rolle bei der Kopplung der oxidativen Phosphorylierung, (*1*) als Redoxäquivalente $\{H^+ + e^-\}$ beim *Elektronentransfer* während der chemischen Oxidation [3] und (*2*) als Ladungsmediatoren beim

kompartimentellen *Protonentransport* durch Aufbau der protonenmotorischen Kraft [5].

1.1. Oxidative Kapazität (Elektronentransfer-Kapazität)

Haben Sie Sich schon einmal bei einem Training zur aeroben Höchstleistung gepuscht? Sie können dies auf einem Laufband oder einem stationären Fahrrad tun, indem Sie die Arbeitsbelastung schrittweise erhöhen – entweder durch schnelleres Laufen oder durch Hinzufügen von Widerstand – bis Sie Ihr Maximum erreicht haben. Die Arbeitsleistung wird über ein Ergometer gemessen und geregelt. Der Begriff *erg* kommt vom griechischen Wort für *Arbeit*, und Arbeit pro Zeiteinheit ist Leistung. Bei einem solchen ergometrischen Test wird mit einer Gesichtsmaske die äußere Atmung beim Ein- und Ausatmen bestimmt, um den maximalen Sauerstoffverbrauch (V_{O2max}) zu messen. Diese Kombination aus Bewegung und Atmungsmessung wird als *Spiroergometrie* bezeichnet.

Stellen Sie Sich nun vor, Sie würden lebende Zellen einem ähnlichen Test unterziehen – und die Zellen an die Grenzen ihrer maximalen aeroben Stoffwechselleistung bringen. Wenn sie härter arbeiten, wird ATP mit zunehmender Geschwindigkeit in ADP und anorganisches Phosphat zerlegt. Um die Aktivität aufrechtzuerhalten, wird ADP durch Phosphorylierung (PHOS) zu ATP "hinauf" gehoben, angetrieben von der protonenmotorischen Kraft, die wiederum in einer energetischen "Abwärtsrichtung" abgebaut wird. Aber um sie am Laufen zu halten, muss die pmF kontinuierlich wiederhergestellt werden, indem H^+ wieder "hinauf" rezykliert wird. Dies erfordert einen steigenden Sauerstoff- und Kraftstoffverbrauch (OX), wodurch das System seine maximale OXPHOS-Kapazität (*P*) erreicht. Leider gibt es ein solches "Zellergometer" nicht. Wie können wir Zellen also auf eine andere Art und Weise an ihre Grenzen bringen?



Die oxidative Kapazität *E* — im Gegensatz zur OXPHOS-Kapazität *P* — der lebenden Zelle wird erreicht, wenn jede durch PHOS bewirkte Kontrolle aufgehoben wird, der Protonenstrom durch chemische Entkoppler, welche die *pmF* kollabieren, effektiv kurzgeschlossen wird, die ATP-Synthese daher durch einen Kurzschluss (Entkopplung) umgangen wird und die Zellen gezwungen werden, unter den vorherrschenden experimentellen Bedingungen bei maximaler Geschwindigkeit zu atmen. Die oxidative Kapazität (*E*) ist die maximale Sauerstoffverbrauchsrate von Zellen,

wenn oxidative Prozesse von der ATP-Erzeugung entkoppelt und daher nicht durch sie eingeschränkt werden. Die Begriffe *oxidative Kapazität* und *Elektronentransfer-Kapazität* sind synonym und sollen die Natur des H^+-verknüpften Elektronentransfers auf den Punkt bringen. Während der Oxidation werden Reduktionsäquivalente $\{H^+ + e^-\}$ von Kraftstoffen auf Sauerstoff übertragen.

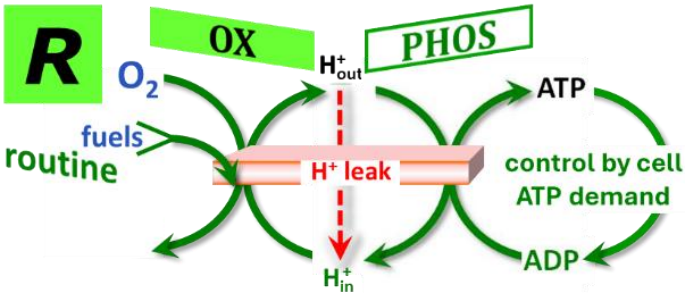
In mehreren Zelltypen entspricht die oxidative Kapazität (*E*) fast genau der OXPHOS-Kapazität (*P*). In vielen anderen Fällen überschätzt die oxidative Kapazität jedoch die OXPHOS-Kapazität. Wichtig ist, dass Defekte des Phosphorylierungssystems, das für die ATP-Produktion verantwortlich ist, die Fähigkeit zur ATP-Erzeugung beeinträchtigen und *P* auf ein Niveau begrenzen, das unter solchen Bedingungen niedriger oder sogar nur halb so hoch wie *E* sein kann [1;2].

Hinweise zu *E*

- Die oxidative Kapazität (*E*) wird unter unphysiologischen Bedingungen erreicht, wenn die Atmung von der ATP-Produktion entkoppelt ist.
- *E* wird unter physiologischen Bedingungen in der Zelle selten, wenn überhaupt, erreicht.
- *E* überschätzt die OXPHOS-Kapazität (*P*) und die respiratorische Reserve verschiedener Zelltypen.
- Maximale Atmung ist ein mehrdeutiger Begriff. Ohne weitere Spezifizierung des Kopplungszustands kann es sich um die OXPHOS-Kapazität handeln, vergleichbar mit V_{O2max}, gemessen als maximale aerobe Kapazität der externen Atmung in der Spiroergometrie, oder V_{max} in der Enzymkinetik. Die unter gegebenen Versuchsbedingungen gemessene oxidative Kapazität kann durch Zugabe externer Substrate oder Beseitigung von Hemmeffekten weiter erhöht werden.
- Eine konzept-orientierte Terminologie der mitochondrialen Atmungszustände [7] wird auf die Atmungsphysiologie lebender Zellen erweitert [2].
- Das Elektronentransfer-System (ETS) wird häufig als Atmungskette oder Elektronentransportkette bezeichnet, wodurch die grundlegende Unterscheidung zwischen chemischem *Transfer* und kompartimentellem *Transport* verschleiert wird. Ist das ETS eine Kette? Was ist eine Kette?

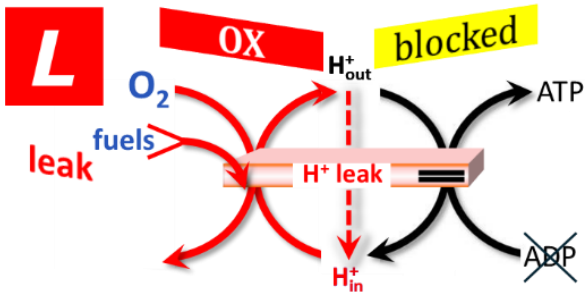
1.2. Routineatmung

Die Routineatmung (*R*) ist die Sauerstoffverbrauchsrate lebender Zellen, die ihren aeroben Energiebedarf unter physiologischer Kontrolle decken. Die Aktivität der Routineatmung variiert in Abhängigkeit von den für



die Energieumwandlung in den Zellen verfügbaren Nährstoffen, dem Gesundheitszustand und wird von mitochondrialen bioenergetischen Parametern beeinflusst. Ein erhöhter ATP-Bedarf aktiviert die Routineatmung, wenn er nicht durch eine hochregulierte glykolytische (anaerobe) ATP-Produktion kompensiert wird.

Hinweise zu *R*



- Die Routineatmung ist ein bioenergetischer Parameter lebender Zellen und kann in Zellen mit permeabilisierten Plasmamembranen oder isolierten Mitochondrien nicht gemessen werden.
- Die Routineatmung kann bei Zellen, die in Respirationsmedien mit unterschiedlichen äußeren Substraten und Ionenzusammensetzungen untersucht werden, unterschiedlich sein.
- Der Begriff der basalen Atmung ist mehrdeutig, da er auch für die Verlustatmung isolierter Mitochondrien verwendet wird und nicht mit dem in der organismischen Physiologie definierten Grundumsatz verwechselt werden darf.

1.3. Verlustatmung

Die Verlustatmung (*L*) ist der mitochondriale Sauerstoffverbrauch, der durch ein "Leck" in der mitochondrialen Innenmembran (H^+-Leck) verursacht wird. Die Verlustatmung lebender Zellen wird gemessen, indem die ATP-Produktion blockiert wird. Anstatt chemische Arbeit zu leisten, setzen Mitochondrien im Leerlauf Energie in Form von Wärme frei, die die Effizienz beeinträchtigt [2]. Wärmedissipation ist jedoch mit dem Sauerstoffverbrauch in jedem Atmungszustand verbunden und wird hauptsächlich durch die Atmungsrate reguliert. Die Verlustatmung kann die protonenmotorische Kraft modulieren und als mitochondriale Dysfunktion diagnostisch relevant sein.

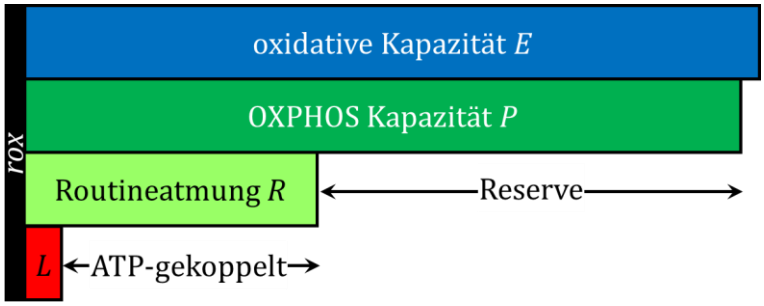
Hinweise zu *L*

- Die Verlustatmung ist nicht mit dem Protonenleck gleichzusetzen, da der O_2-Verbrauch den Protonenstrom ausgleicht, aber damit nicht äquivalent ist [7].
- Ruheatmung ist mehrdeutig, da die Ruheatmung von Organismen – über die basale Atmung hinausgehend – den ATP-Bedarf von Körperfunktionen und auch die bei Ruhe notwendigen Aktivitäten abdeckt.
- Wenn die Verlustatmung in mt-Präparaten als "basal" angesehen wird, dann wäre – um konsequent zu sein – die Verlustatmung, aber nicht die Routineatmung in lebenden Zellen "basal".
- Die Abkürzung 4o oder 4Omy geht auf den klassischen ‚Zustand 4' der isolierten Mitochondrien zurück. Zustand 4 (ein Verlustzustand) und Zustand

2 werden häufig verwechselt [7]. Wir müssen uns keine Sorgen über diese Begriffe machen, solange wir nicht mit klassischen Fachzeitschriften in Berührung kommen.

1.4. Restsauerstoffverbrauch

Der Restsauerstoffverbrauch (*rox*) ist auf den zellulären oder mitochondrialen Sauerstoffverbrauch zurückzuführen, der nach Hemmung von Atmungsenzymen und damit Eliminierung der mitochondrialen oxidativen Kapazität verbleibt. Die mitochondriale Atmung wird durch Subtraktion des *rox* vom Gesamtsauerstoffverbrauch korrigiert. In diesem Sinne wird die mitochondriale Atmung von der Zellatmung unterschieden. Die *rox*-Korrektur übt den größten relativen Effekt auf die Verlustatmung aus und ist bei der Routineatmung und der oxidativen Kapazität weniger relevant. Obwohl *rox* klar von der Produktion von reaktiven Sauerstoffspezies (ROS) unterschieden wird, kann *rox* mit ROS-Produktion in Verbindung gebracht werden. Eine funktionelle Interpretation von *rox* ist jedoch schwierig.



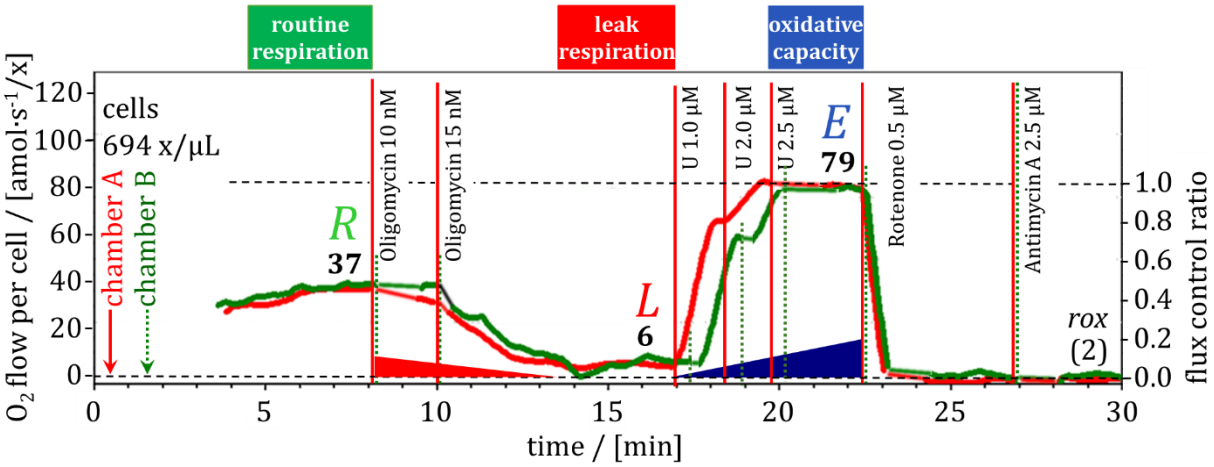
Hinweise zu *rox*

- Die mitochondriale Atmung ist im Zusammenhang mit bioenergetischen Analysen für *rox* korrigiert.
- Eine einfache Interpretation der Größe von *rox* ist in der Regel nicht möglich.
- Nicht-mitochondriale Atmung ist ein ungenauer Begriff für *rox*, da der Sauerstoffverbrauch isolierter und gereinigter Mitochondrien *rox* einschließt.

2. Messung der Zellatmung

Soll die Mitochondrienfunktion an isolierten Mitochondrien untersucht werden, oder ist es besser, sie in lebenden Zellen zu analysieren? Um Mitochondrien zu isolieren, brechen Forscher die Plasmamembranen von Zellen auf und trennen intakte Mitochondrien von anderen strukturellen und löslichen zellulären Komponenten. Ob diese isolierten Mitochondrien jedoch ihre Funktion in lebenden Organismen genau widerspiegeln, ist ein kontroversiell diskutiertes Thema, was zu einem wachsenden Interesse an der Erforschung der mitochondrialen Physiologie und Bioenergetik in lebenden Zellen führte [9; 10]. Umgekehrt liefern Studien an isolierten Mitochondrien bioenergetische Informationen, die mit lebenden Zellen nicht ohne weiteres gewonnen werden können. Die Zellatmung wird in der Regel in kleinen Versuchskammern mit Tausenden von Blutzellen gemessen, die aus Flüssigbiopsien gewonnen werden, oder

von kultivierten Zellen wie Fibroblasten. Um genaue Vergleiche zu gewährleisten, wird die Respirationsrate basierend auf der Zellzahl oder mitochondrialen Markern normalisiert.



Die Abbildung (modifiziert nach Zdradsilova et al 2022 [12]) zeigt die Atmung von menschlichen Fibroblasten, die gleichzeitig in zwei 0.5-mL Kammern des Oroboros O2k aufgezeichnet wurde. Die Messung dauert 30 Minuten (horizontale Zeitachse). Nach Zugabe der Zellsuspension (694 x/µL oder 0.35 Millionen Zellen in jeder Kammer) dauert es einige Minuten, bis sich die Atmung stabilisiert. Eine konstante Rate der Routineatmung (*R*) wird nach 7 bis 8 Minuten des Experiments beobachtet. Das in zwei Schritten zugegebene Oligomycin hemmt die ATP-Produktion und senkt so den Sauerstoffverbrauch auf das Niveau der Verlustatmung (*L*). Entkoppler-Titrationen aktivieren die Atmung schrittweise, bis die oxidative Kapazität (*E*) erreicht wird. Sequentielle Titrationen der Atmungshemmer Rotenon und Antimycin A blockieren die oxidative Kapazität; ein geringer Restsauerstoffverbrauch (*rox*) verbleibt. Die Werte auf der linken vertikalen Achse werden in Einheiten von Attomolen (10^{-18} mol) O_2 angegeben, die pro Sekunde und Einzelzelle verbraucht werden. Der Pegel von *rox* (2 amol·s^{-1}/x) wird auf null gesetzt. Die Mittelwerte von (*rox*-korrigiertem) *R*, *L* und *E* aller Messungen sind als Zahlen angezeigt (aus Tabelle 4 in [12]). *R* von 37 amol·s^{-1}/x ($37 \cdot 10^{-18}$ mol·s^{-1}/x) sieht klein aus, bedeutet aber tatsächlich, dass eine Zelle jede Sekunde 22 Millionen Moleküle O_2 verbraucht. Die Atmung pro Zelle hängt von der Zellgröße und der mitochondrialen Dichte in der Zelle ab. Um den Einfluss der mitochondrialen Dichte auf die Beurteilung der mitochondrialen Atmung auszuschließen, wird die Zellatmung relativ zu *E* ausgedrückt und als Fluxkontrollverhältnis dargestellt (rechte vertikale Achse).

Menschliche rote Blutkörperchen – sie sind aufgrund des sauerstoffbindenden Hämoglobins rot – enthalten keine Mitochondrien, sondern sind auf die glykolytische ATP-Produktion angewiesen. Für respirometrische Untersuchungen werden weiße Blutkörperchen aus Blutproben isoliert. Diese mononukleären Zellen des peripheren Blutes (PBMCs) haben wichtige immunologische Funktionen. PBMCs sind eine heterogene Zellpopulation, die hauptsächlich aus Lymphozyten besteht,

typischerweise 70 bis 90 % bei humanen PBMCs. Weniger häufig sind Monozyten und dendritische Zellen. Eine Kontamination der PBMC-Fraktion durch Blutplättchen muss vermieden werden. Isolierte Blutplättchen (Thrombozyten) – ohne Zellkern, aber mit Mitochondrien – können in der Respirometrie ebenso verwendet werden. Blutzellen sind auf natürliche Weise im Blutkreislauf suspendiert. Im Gegensatz dazu werden viele Zelltypen in einer Monoschicht kultiviert und für die Messung in Suspension abgelöst, obwohl andere Zelltypen direkt als Zellsuspensionen kultiviert werden können. Fibroblasten-Zelllinien werden in vielen Studien zu mitochondrialen Erkrankungen eingesetzt [12].

Hinweise

- Manometrische Verfahren zur Messung der Zellatmung wurden vor 70 Jahren durch elektrochemische Methoden ersetzt [13].
- Die hochauflösende Respirometrie (HRR; Oroboros, Innsbruck, Österreich) an isolierten Mitochondrien und lebenden Zellen wurde vor 30 Jahren eingeführt [6].
- Unter Verwendung der HRR wurde das Kopplungskontrollprotokoll erstmals im Jahr 2004 auf humane Fibroblasten angewendet, wobei vier respiratorische Zustände unterschieden wurden [8].
- Dieses Kopplungskontrollprotokoll wird bei Verwendung von Multiwell-Plattformen mit Beschränkung auf vier Titrationsschritte als "mitochondrialer Stresstest" bezeichnet [11].
- Die OXPHOS-Kapazität kann in mitochondrialen Präparaten gemessen werden [2].
- Unterschiede in den Respirationsraten, -verhältnissen und Effizienzen der Atmungskontrolle erlauben robuste bioenergetische Interpretationen [2; 4; 8; 12]. Ein einzelner mitochondrialer Gesundheitsscore spiegelt nicht die Komplexität der mitochondrialen Atmungsfunktionen und -dysfunktionen wider und kann daher keine ausreichenden diagnostischen Informationen liefern [4].

Begriffe und Abkürzungen

ADP	Adenosindiphosphat (di = 2)
ATP	Adenosintriphosphat (tri = 3)
CO_2	Kohlendioxid
e^-	Elektron, negative Ladung
E	*electron transfer capacity* (*maximal respiration* [7;12]) – oxidative Kapazität = Elektronentransfer-Kapazität (Abschnitt 1.1)
ETS	Elektronentransfer-System
H^+	Wasserstoff-Ion, positiv geladen
$\{H^+ + e^-\}$	Wasserstoff (H)
H_2O	Wasser
L	*leak respiration* (*proton leak* [7;12]) - Verlustatmung (Abschnitt 1.3)
O_2	molekularer Sauerstoff in Gasform in Luft oder in Lösung gelöst

OX Oxidation, H^+-verknüpfter Elektronentransfer (Abschnitt 1.1)
OXPHOS oxidative Phosphorylierung
P OXPHOS-Kapazität (Abschnitt 1.1)
PHOS Phosphorylierung von ADP zu ATP, wobei eine Phosphatgruppe an ADP (Diphosphat) unter Bildung von ATP (Triphosphat) hinzugefügt wird
pmF *protonmotive force* – protonenmotorische Kraft, koppelt Oxidation und Phosphorylierung in OXPHOS
R *routine respiration* (*basal respiration* [7;12]) - Routineatmung (Abschnitt 1.2)
rox *residual oxygen consumption* (*nonmitochondrial respiration* [7;12]) – Restsauerstoffverbrauch (Abschnitt 1.4)

Dank

Ich bedanke mich für Anregungen zur Verbesserung der Kommunikation und Übersetzung technischer Ausdrücke bei Nikolaus Wick, Regine Gerth, und Karin De-Punder, bei den Gutachtern Brian A Irving und Steven C Hand, beim Oroboros-Team: Alba Timon-Gomez, Jaime Willis, Luiza Cardoso, Verena Laner, Lisa Tindle-Solomon, Carolina Gnaiger, Juliane Dreger, Feiyuan Zhang; und bei den Mitarbeitern des VASCage-Projekts: Alejandra Romero-Martinez, Denise Madonia Membrive und Rebecka Hardorp.

Weiterführende Literatur

1. Cardoso LHD, Gnaiger E (2024) OXPHOS coupling and uncoupling. https://doi.org/10.26124/bec.2024-0005
2. Gnaiger E (2020) Mitochondrial pathways and respiratory control. An introduction to OXPHOS analysis. 5th ed. https://doi.org/10.26124/bec:2020-0002
3. Gnaiger E (2024) Complex II ambiguities — $FADH_2$ in the electron transfer system. https://doi.org/10.1016/j.jbc.2023.105470
4. Gnaiger E (2025) Mitochondrial respiratory control efficiencies of living cells. BEC Educ Series (in prep).
5. Gnaiger E (2025) The protonmotive force – from motive protons to membrane potential. https://doi.org/10.26124/becprep.2025-0003
6. Gnaiger E, Steinlechner-Maran R, Méndez G, Eberl T, Margreiter R (1995) Control of mitochondrial and cellular respiration by oxygen. https://doi.org/10.1007/BF02111656
7. Gnaiger E et al — MitoEAGLE Task Group (2020) Mitochondrial physiology. https://doi.org/10.26124/bec:2020-0001.v1
8. Hütter E, Renner K, Pfister G, Stöckl P, Jansen-Dürr P, Gnaiger E (2004) Senescence-associated changes in respiration and oxidative phosphorylation in primary human fibroblasts. https://doi.org/10.1042/BJ20040095
9. Villani G, Attardi G (1997) In vivo control of respiration by cytochrome c oxidase in wild-type and mitochondrial DNA mutation-carrying human cells. https://doi.org/10.1073/pnas.94.4.1166

10. Villani G, Greco M, Papa S, Attardi G (1998) Low reserve of cytochrome *c* oxidase capacity *in vivo* in the respiratory chain of a variety of human cell types. https://doi.org/10.1074/jbc.273.48.31829
11. Yépez VA, Kremer LS, Iuso A, Gusic M, Kopajtich R, Koňaříková E, Nadel A, Wachutka L, Prokisch H, Gagneur J (2018) OCR-Stats: Robust estimation and statistical testing of mitochondrial respiration activities using Seahorse XF Analyzer. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0199938
12. Zdrazilova L, Hansikova H, Gnaiger E (2022) Comparable respiratory activity in attached and suspended human fibroblasts. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0264496
13. Chance B, Williams GR (1955) Respiratory enzymes in oxidative phosphorylation. I. Kinetics of oxygen utilization. J Biol Chem 217:383-93.

Copyright © 2025 Der Autor. Diese Open-Access-Peer-Review-Kommunikation wird unter den Bedingungen der Creative Commons Attribution License verbreitet, die die uneingeschränkte Nutzung, Verbreitung und Vervielfältigung in jedem Medium erlaubt, sofern die ursprünglichen Autoren und die Quelle genannt werden. © verbleibt bei dem Autor, der BEC eine Open-Access-Publikationslizenz auf Dauer erteilt hat.