

Aus der Klinik für Kardiologie, Pneumologie und Angiologie
der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf
Direktor: Univ.-Prof. Dr. med. Malte Kelm

**Einfluss von Typ 2 Diabetes Mellitus auf die myokardiale
Mitochondrienfunktion und das Langzeitüberleben von
Herztransplantatempfängern**

Dissertation

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
der Medizinischen Fakultät der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

vorgelegt von

Constanze Moos

2024

Als Inauguraldissertation gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der
Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

gez.:

Dekan: Prof. Dr. med. Nikolaj Klöcker

Erstgutachter: Prof. Dr. med. Amin Polzin

Zweitgutachter: PD Dr. med. Christian Buchbender

Widmung

Meinen Eltern

Teile dieser Arbeit wurden veröffentlicht:

Posterpräsentation:

Constanze Moos, Daniel Scheiber, Elric Zweck, Patrick Horn, Udo Boeken, Payam Akhyari, Michael Roden, Malte Kelm, Julia Szendroedi, Ralf Westenfeld: „Time dependent deterioration of mitochondrial oxidative capacity in heart transplant recipients with Type 2 Diabetes Mellitus” (Moos et al. 2021)

Posterpräsentation auf dem Kongress der European Society of Cardiology (ESC), Online, 27.08.2021

—

30.08.2021

Zusammenfassung

Trotz kontinuierlicher Fortschritte medikamentöser und interventioneller Therapieoptionen, ist die Herztransplantation (HTX) weiterhin der Goldstandard zur Behandlung terminal herzinsuffizienter Patienten. Insbesondere durch die Einnahme der diabetogenen immunsuppressiven Medikation ist die Prävalenz des Typ 2 Diabetes Mellitus (T2DM) unter HTX-Empfängern hoch. Ein negativer Einfluss von T2DM auf das Überleben nach HTX ist zu vermuten, bisher jedoch nicht systematisch untersucht. Auch in der Gesamtbevölkerung stellt T2DM durch die steigende Inzidenz und hohe Mortalität, insbesondere durch kardiovaskuläre Erkrankungen, eine zunehmende Belastung für das Gesundheitssystem dar. Die Entwicklung einer Herzinsuffizienz in Patienten mit T2DM, unabhängig von traditionellen Risikofaktoren, wird als diabetische Kardiomyopathie bezeichnet. Die zugrunde liegende Pathophysiologie ist komplex, Alterationen der myokardialen Mitochondrienfunktion wird eine wichtige Rolle zugeschrieben. Die Untersuchung des Einflusses einer diabetischen Stoffwechsellage des HTX-Empfängers auf die Mitochondrienfunktion eines gesunden Spenderherzens im längerfristigen zeitlichen Verlauf könnte somit Rückschlüsse auf die Pathophysiologie der diabetischen Kardiomyopathie und der Diabetes-assoziierten Mortalität in HTX-Empfängern erlauben.

Mit dem Ziel, die prognostische Wertigkeit der mitochondrialen Respiration auf das langfristige Überleben nach HTX in Patienten mit und ohne T2DM zu charakterisieren, formulierten wir folgende Hypothesen: 1) *Die Kapazität der oxidativen Phosphorylierung (OXPHOS) in myokardialen Mitochondrien von Patienten mit T2DM sinkt im zeitlichen Verlauf verglichen mit Empfängern mit normaler Glukosetoleranz.* 2) *Eine verringerte OXPHOS-Kapazität ist assoziiert mit verringerter myokardialer Funktion.* 3) *Eine verringerte OXPHOS-Kapazität in HTX-Empfängern beeinflusst Mortalität, Hospitalisierungen und Abstoßungs-Episoden.*

In diese monozentrische, prospektive, klinische Studie wurden 101 HTX-Empfänger eingeschlossen, die im Rahmen der standardisierten Nachsorge zur Endomyokardbiopsie vorstellig wurden. In den entnommenen Herzmuskelproben wurde, zusätzlich zur leitliniengerechten histologischen und immunhistochemischen Abstoßungsdiagnostik, die myokardiale Mitochondrienfunktion mittels hochauflösender Respirometrie untersucht. Die linksventrikuläre Ejektionsfraktion (LV-EF) wurde mittels Kardio-MRT bestimmt. Zur metabolischen Charakterisierung der Patienten wurden Serumparameter des Glukosestoffwechsels ermittelt, sowie ein oraler Glukosetoleranztest durchgeführt. Gemäß den Kriterien der *American Diabetes Association* teilten wir die Patienten in die Gruppen Non-DM ($n = 24$), Prädiabetes ($n = 38$) und T2DM ($n = 40$) ein.

Die Gruppen wiesen keine signifikanten Unterschiede hinsichtlich der Zeit seit HTX ($p = 0,98$), des Alters ($p = 0,06$) und der LV-EF ($p = 0,37$) auf. Nur in der T2DM-Gruppe war die Zeit seit HTX signifikant mit einer geringeren mitochondrialen Respiration assoziiert ($n = 101$, $p < 0,05$, Hypothese 1). Die mitochondriale Respiration korrelierte positiv mit der LV-EF ($n = 39$, $p = 0,04$, Hypothese 2). In Kaplan-Meier-Analysen stellte die Mitochondrienfunktion keinen signifikanten Prädiktor für Mortalität, Hospitalisierungen oder Abstoßungsepisoden dar ($p > 0,05$, Hypothese 3), allerdings zeigte sich deskriptiv eine höhere Mortalität und ein Nachteil im hospitalisierungsfreien Überleben für Patienten mit geringerer Respiration. T2DM war mit einer erhöhten Mortalität assoziiert ($p = 0,04$).

T2DM ist im längerfristigen Verlauf nach HTX mit einer verringerten Mitochondrienfunktion assoziiert und stellt einen negativen Prädiktor des *Outcomes* in HTX-Empfängern dar. Auch in transplantierten Herzen zeigen sich für die diabetische Kardiomyopathie beschriebene pathologische Alterationen des myokardialen mitochondrialen Stoffwechsels und stellen einen möglichen neuen Ansatzpunkt in der pharmakologischen Langzeittherapie nach HTX dar.

Summary

Despite recent advances of pharmacological and interventional therapies, heart transplantation still is the gold standard for treatment of terminal heart failure. Especially due to the use of diabetogenic immunosuppressive medication, prevalence of type 2 diabetes mellitus (T2DM) is high among heart transplant recipients. A negative impact of T2DM on survival after heart transplantation is to be assumed, but systematic analyses are still lacking. In the general population T2DM, with its rising incidence and high mortality, particularly owing to cardiovascular disease, is a growing burden for the healthcare system. The development of heart failure in patients with T2DM, independently of traditional risk factors, is called diabetic cardiomyopathy. The underlying pathophysiology is complex, but alterations of myocardial mitochondrial function are believed to be an important factor. An investigation of the impact of the heart transplant recipients' diabetic metabolism on long-term mitochondrial function of a healthy donor heart could give insights on the pathophysiology of diabetic cardiomyopathy and on diabetes-associated mortality in heart transplant recipients.

Aiming to characterize the prognostic value of mitochondrial respiration on long-term survival after heart transplantation, we hypothesized: *1) The capacity of oxidative phosphorylation (OXPHOS) in myocardial mitochondria of patients with T2DM declines over time in comparison to recipients with normal glucose-tolerance. 2) A reduced OXPHOS-capacity is associated with reduced myocardial function. 3) A reduced OXPHOS-capacity in heart transplant recipients has an impact on mortality, hospitalizations, and rejection episodes.*

This monocentric, prospective, clinical trial included 101 heart transplant recipients who were admitted for endomyocardial biopsy during standardized follow-up. In addition to guideline-oriented histological and immunohistochemical diagnostics of rejection, the obtained biopsies were analyzed by use of high resolution respirometry. Left ventricular ejection fraction (LV-EF) was assessed by cardiac-MRI. For metabolic characterization of the patients, serum parameters of glucose metabolism were determined, and an oral glucose tolerance test was performed. In accord with the criteria by the American diabetes association, the patients were divided into the following groups: non-DM ($n = 24$), prediabetes ($n = 38$) und T2DM ($n = 40$).

The groups showed no significant differences concerning time since transplantation ($p = 0,98$), age ($p = 0,06$) und LV-EF ($p = 0,37$). Only in the T2DM-group, there was a significant association of time since transplantation and lower mitochondrial respiration ($n = 101$, $p < 0,05$, hypothesis 1). Mitochondrial respiration correlated positively with LV-EF ($n = 39$, $p = 0,04$, hypothesis 2). The Kaplan-Meier-Analyses did not prove mitochondrial respiration to be a significant predictor of mortality, hospitalization, or rejection ($p > 0,05$, hypothesis 3). However, even though it did not reach statistical significance, there was a higher mortality and reduced hospitalization-free survival in patients with lower mitochondrial respiration. T2DM was associated with increased mortality ($p = 0,04$).

In the long-term course after heart transplantation, T2DM is associated with reduced mitochondrial function and is a negative predictor for the outcome of heart transplant recipients. Similar to diabetic cardiomyopathy, transplanted hearts also express alterations of myocardial mitochondrial function, showing a possible new starting point for long-term pharmacological therapy after heart transplantation.

Abkürzungsverzeichnis

ADP	Adenosindiphosphat
ATP	Adenosintriphosphat
ANOVA	Varianzanalyse (<i>Analysis of variance</i>)
BMI	<i>Body Mass Index</i>
CETF	<i>Electron transferring flavoprotein complex</i>
C I	Komplex I der Atmungskette
C II	Komplex II der Atmungskette
C III	Komplex III der Atmungskette
C IV	Komplex IV der Atmungskette
C V	Komplex V der Atmungskette, ATP-Synthase
DCM	Dilatative Kardiomyopathie
DM	Diabetes Mellitus
EF	Ejektionsfraktion
ETC	<i>Electron transport chain</i>
ETS	<i>Electron transfer system</i>
FADH	Flavin-Adenin-Dinukleotid
FFA	<i>Free fatty acids</i>
FCCP	Carbonyl cyanid p-trifluoro-methoxyphenyl hydrazon
G	Glutamat
HFmrEF	<i>Heart failure with mildly reduced Ejection fraction</i>
HFpEF	<i>Heart failure with preserved Ejection fraction</i>
HFrfEF	<i>Heart failure with reduced Ejection fraction</i>
HTX	Herztransplantation
ICM	Chronisch ischämische Herzkrankheit
ISHLT	<i>International Society of Heart and Lung Transplantation</i>
KHK	Koronare Herzerkrankung
LCR	<i>Leak Control Ratio</i>
LV	Linker Ventrikel
M	Malat
MRT	Magnetresonanztomographie
MW	Mittelwert
NADH	Nikotinamidadenindinukleotid
NODAT	<i>New onset diabetes mellitus after transplantation</i>

O	Octanoyl-Carnitin
oGTT	oraler Glukosetoleranztest
Omy	Oligomycin
PTDM	Post-Transplant Diabetes Mellitus
RCR	<i>Respiratory Control Ratio</i>
ROS	Reaktive Sauerstoffspezies
S	Succinat
SD	Standardabweichung
T2DM	Typ 2 Diabetes Mellitus

Inhalt

1	Einleitung.....	1
1.1	Typ 2 Diabetes Mellitus	1
1.1.1	Definition und Diagnostik von T2DM	1
1.1.2	Prävalenz von T2DM	2
1.2	Herzinsuffizienz	2
1.2.1	Definition und Klassifikation von Herzinsuffizienz	2
1.2.2	Prävalenz und Prognose von Herzinsuffizienz.....	3
1.3	Diabetische Kardiomyopathie	4
1.3.1	Zusammenspiel von Herzinsuffizienz und T2DM	4
1.3.2	Definition der diabetischen Kardiomyopathie	5
1.3.3	Exkurs: Begriffsentstehung der diabetischen Kardiomyopathie.....	5
1.3.4	Relevanz der diabetischen Kardiomyopathie.....	6
1.3.5	Entwicklung und Pathophysiologie der diabetischen Kardiomyopathie.....	6
1.4	Mitochondrienfunktion.....	8
1.4.1	Physiologie der Atmungskette und oxidative Phosphorylierung	8
1.4.2	Alterationen der myokardialen Mitochondrienfunktion in Patienten mit Diabetes Mellitus	13
1.5	Herztransplantation	14
1.5.1	Transplantationszahlen und Indikation	14
1.5.2	Nachsorge und Immunsuppression nach HTX.....	15
1.5.3	Prognose nach HTX	17
1.5.4	HTX und Diabetes Mellitus	18
1.6	Ziele der Arbeit und Hypothesen	20
2	Material und Methoden.....	21
2.1	Materiallisten.....	21

2.1.1	Chemikalien/Lösungen.....	21
2.1.2	Puffermedien	22
2.1.3	Verbrauchs- und sonstige Materialien.....	23
2.1.4	Geräte	25
2.1.5	Software	26
2.2	Probanden und Datenakquisition	26
2.2.1	Ethikvotum	26
2.2.2	Probanden.....	26
2.2.3	Datenakquisition.....	27
2.3	Hochauflösende Respirometrie	30
2.3.1	Prinzip der hochauflösenden Respirometrie	30
2.3.2	Vorbereitung und Durchführung der hochauflösenden Respirometrie	31
2.3.3	Auswertung der High Resolution Respirometrie	33
2.4	Datenauswahl	35
2.4.1	Ein-Zeitpunkt-Analysen	35
2.4.2	Messwiederholte Analysen	36
2.5	Statistische Auswertung	37
3	Ergebnisse	40
3.1	Hypothese 1 - Entwicklung der Mitochondrienfunktion.....	40
3.1.1	Assoziation von höherer Zeit seit Transplantation mit niedriger Respiration	40
3.1.2	Entwicklung der Respiration bei steigender Zeit seit HTX	48
3.2	Hypothese 2 - myokardiale Funktion	52
3.3	Hypothese 3 - Prognose.....	54
3.3.1	Follow-Up und Datenauswahl.....	54
3.3.2	Mitochondriale Respiration und Überleben	54
3.3.3	Mitochondriale Respiration und Hospitalisationen.....	56

3.3.4	Mitochondriale Respiration und Abstoßungsepisoden	57
3.3.5	Diabetes Mellitus und Überleben	58
4	Diskussion.....	60
4.1	Klinische Charakteristika der HTX-Empfänger.....	60
4.2	Hypothese 1 – mitochondriale Respiration im zeitlichen Verlauf nach HTX	62
4.2.1	Fortgeschrittene Zeit seit Transplantation ist bei Patienten mit T2DM mit niedriger mitochondrialer Respiration assoziiert	62
4.2.2	Limitationen	63
4.3	Hypothese 2 – mitochondriale Respiration und kardiale Funktion.....	64
4.3.1	Niedrige mitochondriale Respiration ist mit niedriger LV-EF assoziiert.....	64
4.3.2	Limitationen	65
4.4	Hypothese 3 – mitochondriale Respiration und Prognose nach HTX	66
4.4.1	Die mitochondriale Respiration hat keinen statistisch signifikanten Einfluss auf das Auftreten unerwünschter Ereignisse nach HTX.....	66
4.4.2	Limitationen	67
4.5	T2DM ist mit einem Überlebensnachteil nach HTX assoziiert.....	68
4.6	Rückschlüsse auf Veränderungen im mitochondrialen Stoffwechsel von Patienten mit Typ 2 Diabetes Mellitus	69
4.7	Untersuchung herztransplantierter Patienten - Chancen und Limitationen	71
4.7.1	Untersuchung von gesundem Myokard.....	71
4.7.2	Einfluss des Abstoßungsstatus auf die mitochondriale Respiration.....	72
4.7.3	Einfluss der Medikation auf die mitochondriale Respiration.....	73
4.8	Schlussfolgerungen	76
5	Literaturverzeichnis	77

1 Einleitung

1.1 Typ 2 Diabetes Mellitus

1.1.1 Definition und Diagnostik von T2DM

Diabetes Mellitus ist definiert als eine Gruppe von Erkrankungen verschiedener Ätiologie, deren Gemeinsamkeit eine chronische Hyperglykämie ist. Diabetes Mellitus ist mit vielfältigen kardiovaskulären, neurologischen und endokrinologischen Komplikationen assoziiert (American Diabetes Association 2019; International Diabetes Federation 2021; Herold 2021). Mit über 90% stellt Typ 2 Diabetes Mellitus (T2DM) den häufigsten Diabetes-Typ dar (International Diabetes Federation 2021). Pathophysiologisch zeichnet sich T2DM insbesondere durch einen relativen Insulinmangel und eine Insulinresistenz des Gewebes aus (American Diabetes Association 2019). Die Diagnostik von T2DM erfolgt anhand der laborchemischen Messung von Blutglukoseparametern mit den in Tabelle 1 dargestellten Schwellenwerten. Dabei sind zur Diagnosestellung eines T2DM zwei pathologische Parameter oder ein pathologischer Parameter in zwei zeitlich aufeinanderfolgenden Messungen notwendig (American Diabetes Association 2019). Sofern die Schwellenwerte zur Diagnostik eines T2DM noch nicht erfüllt sind und die Blutglukoseparameter aber gleichzeitig auch nicht mehr als normwertig anzusehen sind, liegt ein Prädiabetes vor (American Diabetes Association 2019).

Tabelle 1

Schwellenwerte zur Diagnostik von Prädiabetes und T2DM

Parameter	Normwert	Prädiabetes	T2DM
Nüchternblutzucker [mg/dL]	≤ 99	100 – 125	≥ 126
2h Blutzucker im oGTT [mg/dL]	≤ 139	140 – 199	≥ 200
HbA1c [%]	$\leq 5,6$	5,7 – 6,4	$\geq 6,5$
Einnahme antidiabetischer Medikation	Nein	Nein	Ja

T2DM: Typ 2 Diabetes Mellitus, oGTT: oraler Glukosetoleranztest, HbA1c: Hämoglobin A1c. Tabelle modifiziert nach American Diabetes Association (2019).

1.1.2 Prävalenz von T2DM

Faktoren wie eine zunehmende Alterung der Bevölkerung, eine verbesserte Diagnostik, und die Zunahme von Risikofaktoren wie Übergewicht, haben in den vergangenen Jahrzehnten zu einem deutlichen Anstieg der Prävalenz und Inzidenz von Diabetes Mellitus geführt (International Diabetes Federation 2021). Im Jahr 2017 litten weltweit etwa 451 Millionen Erwachsene an Diabetes Mellitus (Cho et al. 2018). Bis zum Jahr 2045 wird ein weiterer Anstieg auf 693 Millionen Erkrankte prognostiziert (Cho et al. 2018). In Deutschland lag die Prävalenz von Diabetes Mellitus im Jahr 2010 unter gesetzlich Versicherten bei 9,9% (Tamayo et al. 2016). Ein großes Problem in der Behandlung von T2DM und der Prävention von Folgeschäden ist die hohe Dunkelziffer von Erkrankten. Schätzungen zufolge liegt diese weltweit bei bis zu 50% (Cho et al. 2018). Auch in Europa, trotz relativ guter Verfügbarkeit diagnostischer Mittel, beträgt der Anteil an nicht diagnostizierten Erkrankten etwa 38% (Cho et al. 2018).

Auf individueller Ebene stehen für die Betroffenen häufig auftretende Folgeerkrankungen und Komplikationen wie Beteiligung von Augen oder Nerven, koronare Herzerkrankung (KHK), Gefäßerkrankungen der unteren Extremität und Herzinsuffizienz im Vordergrund (Bauduceau et al. 2018). Doch auch auf gesamtgesellschaftlicher Ebene ist die Bedeutung von Diabetes Mellitus mit seiner steigenden Prävalenz und den assoziierten Folgeerkrankungen enorm. Die weltweiten Kosten durch Diabetes Mellitus wurden im Jahr 2017 auf 850 Milliarden US-Dollar geschätzt, ein weiterer Anstieg wird vorhergesagt (Cho et al. 2018). Je nach Region werden 6-16% des Gesundheitsbudgets eines Landes für die Behandlung von Diabetes Mellitus ausgegeben (Cho et al. 2018). In Deutschland ließen sich im Jahr 2010 etwa 10% der Gesundheitsausgaben auf Diabetes Mellitus zurückführen (Jacobs et al. 2017).

1.2 Herzinsuffizienz

1.2.1 Definition und Klassifikation von Herzinsuffizienz

Herzinsuffizienz ist ein klinisches Syndrom aus typischen Symptomen und Zeichen wie Atemnot, Fatigue, erhöhtem jugular-venösen Druck und peripheren Ödemen (McDonagh et al. 2021). Ursächlich sind funktionelle oder strukturelle Veränderungen des Herzens, die einen erhöhten intrakardialen Druck oder eine verminderte Auswurfleistung bewirken (McDonagh et al. 2021). Die Herzinsuffizienz kann nach ihrer linksventrikulären

Auswurfsleistung in drei Klassen eingeteilt werden: HFpEF (*Heart Failure with preserved Ejection Fraction*, Linksventrikuläre Ejektionsfraktion (LV-EF) $>50\%$), HFmrEF (*Heart Failure with mildly reduced Ejection Fraction*, LV-EF 41-49%) und HFrEF (*Heart Failure with reduced Ejection Fraction*, LV-EF $\leq 40\%$) (McDonagh et al. 2021).

1.2.2 Prävalenz und Prognose von Herzinsuffizienz

Die *Global Burden of Disease*-Studie schätzte, dass im Jahr 2017 weltweit etwa 64,3 Millionen Menschen an einer Herzinsuffizienz litten, und dass sich die Zahl um etwa 92% ausgehend von 33,5 Millionen im Jahr 1990 erhöht hat (Bragazzi et al. 2021). Dieser Anstieg kann zu einem großen Teil durch Wachstum und zunehmendes Alter der Bevölkerung erklärt werden, denn die Prävalenz der Herzinsuffizienz nimmt mit dem Alter zu (Bragazzi et al. 2021; Bleumink et al. 2004). Weitere Faktoren in der Zunahme der Prävalenz von Herzinsuffizienz sind verbesserte Diagnostik und verbesserte Therapiemöglichkeiten (Bragazzi et al. 2021). Somit zählt die Herzinsuffizienz heutzutage zu den häufigsten Erkrankungen in Industrienationen (Bragazzi et al. 2021). Für Personen im Alter von 55 Jahren stellte beispielsweise die Rotterdam-Studie ein Lebenszeitrisiko eine Herzinsuffizienz zu entwickeln von etwa 30% fest (Bleumink et al. 2004). In einer deutschen Studie wurde eine Prävalenz von 3,96% und eine Inzidenz von 655/100.000 Personen im Risiko festgestellt, dies entspricht einer erwarteten Anzahl von 524.000 neuen Herzinsuffizienz-Diagnosen pro Jahr in Deutschland (Störk et al. 2017).

In den vergangenen Jahrzehnten hat sich dank Fortschritten von medikamentösen, interventionellen und chirurgischen Therapieoptionen die Prognose von Patienten mit Herzinsuffizienz verbessert (Jones et al. 2019). Abhängig von Faktoren wie Alter und LV-EF liegt das 5-Jahres Überleben allerdings dennoch nur bei etwa 60% (Jones et al. 2019). Im Jahr 2015 konnten 5,1% aller Tode in Deutschland auf eine Herzinsuffizienz zurückgeführt werden (Bundesärztekammer (BÄK), Kassenärztliche Bundesvereinigung (KBV), Arbeitsgemeinschaft der Wissenschaftlichen Medizinischen Fachgesellschaften (AWMF) 2019). Trotz bisheriger Verbesserungen ist die Prognose der Herzinsuffizienz somit weiterhin schlecht. Der Identifizierung von neuen Ansatzpunkten für zukünftige Therapiestrategien der Herzinsuffizienz, abhängig vom Subtyp und von der spezifischen Pathophysiologie, kommt daher weiterhin eine wichtige Rolle zu.

1.3 Diabetische Kardiomyopathie

1.3.1 Zusammenspiel von Herzinsuffizienz und T2DM

Komorbiditäten sind bei Herzinsuffizienz häufig und nehmen einen relevanten Einfluss auf die Lebensqualität und die Prognose (van Deursen et al. 2014). Etwa 84-90% der Patienten mit HFrEF haben noch mindestens eine weitere Komorbidität (Streng et al. 2018; Butler et al. 2019). Zu den häufigsten nicht kardiovaskulären Komorbiditäten zählt, neben chronischer Niereninsuffizienz und Anämie, auch Diabetes Mellitus (Streng et al. 2018).

Die Prävalenz von Diabetes Mellitus beträgt unter Patienten mit Herzinsuffizienz etwa 30% (Streng et al. 2018; Ziaieian et al. 2019; MacDonald et al. 2008). Im Gegensatz dazu wird die Prävalenz von Diabetes Mellitus in der Gesamtbevölkerung nur auf 8,8% geschätzt (Cho et al. 2018). Diabetes Mellitus stellt bei Patienten mit Herzinsuffizienz einen Risikofaktor für kardiale Dekompensationen (Butler et al. 2019) und Hospitalisationen dar (Streng et al. 2018; MacDonald et al. 2008; Ziaieian et al. 2019). Zusätzlich zum erhöhten Hospitalisationsrisiko führt Diabetes Mellitus als Komorbidität, unabhängig von der Art der Herzinsuffizienz und unabhängig von anderen Charakteristika wie weiteren Komorbiditäten oder Alter, auch zu einer Erhöhung des Mortalitätsrisikos (Streng et al. 2018; MacDonald et al. 2008; Ziaieian et al. 2019).

Dennoch stellt Diabetes Mellitus nicht nur eine prognoserelevante Komorbidität von Herzinsuffizienz dar, sondern die Herzinsuffizienz ist auch eine relevante Komorbidität von Diabetes Mellitus. Unter Patienten mit Diabetes Mellitus und mit verschiedenen kardiovaskulären Komplikationen, ist die Herzinsuffizienz der stärkste Prädiktor für ein schlechteres *Outcome* (Bauduceau et al. 2018).

Unter kardial bisher gesunden Patienten ist Diabetes Mellitus mit einer Verkürzung des Herzinsuffizienz-freien Überlebens assoziiert (Ahmad et al. 2016). Das Herzinsuffizienz-freie Überleben kann durch Primärprävention von Komorbiditäten wie Diabetes Mellitus verlängert werden (Ahmad et al. 2016). Patienten ohne Diabetes Mellitus im Alter von 45 Jahren haben, im Vergleich zu Patienten mit Diabetes Mellitus, ein etwa 60% niedrigeres Risiko eine Herzinsuffizienz zu entwickeln (Ahmad et al. 2016). Die Möglichkeit der Prävention von Herzinsuffizienz durch Prävention von DM (Ahmad et al. 2016) legt nahe, dass Diabetes Mellitus nicht nur eine Komorbidität, sondern auch einen Risikofaktor für die

Entstehung der Herzinsuffizienz darstellt. Beispielsweise konnte die ARIC-Studie unter gesunden Probanden pro 1% Anstieg des HbA1c einen 39%-igen Risikoanstieg für die Entwicklung einer Herzinsuffizienz feststellen (Matsushita et al. 2010). Die Entdeckung, dass Diabetes Mellitus einen Risikofaktor für die Entwicklung einer Herzinsuffizienz darstellt, ist die Grundlage des Konzepts der diabetischen Kardiomyopathie.

1.3.2 Definition der diabetischen Kardiomyopathie

Die Diabetische Kardiomyopathie ist definiert als „Veränderung der kardialen Struktur oder Leistung unabhängig von koronarer Herzerkrankung, arterieller Hypertonie oder Klappenerkrankungen in Patienten mit Diabetes Mellitus“ (Jia et al. 2018).

1.3.3 Exkurs: Begriffsentstehung der diabetischen Kardiomyopathie

Als erste Arbeitsgruppe postulierten Rubler et al. 1972 das Vorhandensein einer diabetischen Herzerkrankung in Form einer Kardiomyopathie. Bei pathologischen Untersuchungen von vier Patienten mit Diabetes Mellitus und diabetischer Nephropathie, aber ohne KHK oder arterielle Hypertonie, stellten sie bei allen kardiale Veränderungen fest. Die Patienten litten an linksventrikulärer oder biventrikulärer Hypertrophie, Kardiomegalie und EKG-Veränderungen (Rubler et al. 1972). Rubler et al. (1972) postulierten als mögliche Ursache mikroangiopathische Veränderungen, schlossen aber als alternativen Pathomechanismus auch nicht aus, dass die kardialen Pathologien durch den diabetischen Stoffwechsel bedingt sind (Rubler et al. 1972). Bereits 1972 war bekannt, dass das Herz bei einer Erkrankung an Diabetes Mellitus Veränderungen in der Substratnutzung für den Energiestoffwechsel aufweist, nämlich dass das Herz eher auf Fettsäuren als auf Glukose zurückgreift (Rubler et al. 1972).

Im Jahr 1974 brachte dann die *Framingham Heart Study* als groß angelegte Beobachtungsstudie erstmals Evidenz zur Bestätigung der Hypothesen von Rubler et al. Unter 5209 teilnehmenden Probanden wurde für männliche Patienten mit T2DM ein zweifach und für weibliche Patienten mit T2DM ein fünffach erhöhtes Risiko eine Herzinsuffizienz zu entwickeln festgestellt (Kannel et al. 1974). Das erhöhte Risiko ließ sich auch noch nachweisen, nachdem Patienten mit koronarer Herzerkrankung ausgeschlossen wurden oder

nachdem auf andere potenzielle *Confounder* wie das Alter kontrolliert wurde (Kannel et al. 1974). Dies nahmen die Autoren zum Anlass, das Vorhandensein einer bisher unbekannten Form einer Kardiomyopathie, verursacht durch Diabetes Mellitus, zu postulieren und schlugen den Term diabetische Kardiomyopathie vor (Kannel et al. 1974). Auch sie vermuteten eine am ehesten mikroangiopathische Genese, welche durch Hypoxie im Gewebe zu metabolischen Störungen führe (Kannel et al. 1974).

1.3.4 Relevanz der diabetischen Kardiomyopathie

Auch heute noch ist die Rolle der diabetischen Kardiomyopathie umstritten. Es fehlen größere Studien zur strukturierten Erfassung der Prävalenz der diabetischen Kardiomyopathie. Doch mit der weltweit steigenden Prävalenz des Diabetes Mellitus ist auch mit einem Anstieg der Zahl der kardiovaskulären Komplikationen wie der diabetischen Kardiomyopathie zu rechnen (Jia et al. 2018). Kardiovaskuläre Komplikationen stellen den größten Anteil der Mortalität bei Patienten mit Diabetes (Andersson et al. 2018) und ihre Prävention ist daher eines der zentralen Therapieziele bei Diabetes Mellitus (Cosentino et al. 2020). Da die Pathophysiologie der diabetischen Kardiomyopathie bisher nur unvollständig verstanden ist, gibt es bisher keine konkreten Präventions- oder Therapiestrategien. Der Erforschung von Entwicklung, Pathophysiologie, Prävention und Therapie der diabetischen Kardiomyopathie kommt durch den erwarteten Anstieg der Inzidenz der diabetischen Kardiomyopathie eine wachsende Bedeutung zu.

1.3.5 Entwicklung und Pathophysiologie der diabetischen Kardiomyopathie

Der symptomatischen diabetischen Kardiomyopathie geht eine subklinische Phase voraus. In dieser kommt es erst zu Veränderungen auf zellulärer Ebene, dann zu strukturellen und schließlich zu funktionellen Veränderungen (Borghetti et al. 2018). Das wichtigste morphologische Korrelat der diabetischen Kardiomyopathie ist die Zunahme der linksventrikulären Wanddicke und Masse (Borghetti et al. 2018). Lee et al. (1997) wiesen auch nach Korrektur für Kovariaten wie arterielle Hypertonie und BMI eine vergrößerte linksventrikuläre Masse bei Patienten mit Diabetes Mellitus nach. Die linksventrikuläre Wanddicke stand in linearen Zusammenhang mit höherer Dauer des Diabetes (Lee et al. 1997). Durch die Hypertrophie, sowie zunehmende Fibrose, kommt es folgend auch zu ersten

asymptomatischen funktionellen Einschränkungen (Borghetti et al. 2018). Eines der ersten messbaren Zeichen einer funktionellen Störung bei der diabetischen Kardiomyopathie ist die diastolische Dysfunktion bei erhaltener Ejektionsfraktion (Borghetti et al. 2018). Dabei kommt es zu Störungen der Relaxation, der passiven Füllung, und zu einer vermehrten Steifigkeit des linken Ventrikels. In einer Studie mit 57 asymptomatischen, normotensiven Patienten unter 60 Jahren mit T2DM und ohne KHK stellten Boyer et al. (2004) bei 75% der Patienten echokardiografisch eine diastolische Dysfunktion fest (Boyer et al. 2004). Eine andere Studie schätzte zwar den Anteil an Patienten mit diastolischer Dysfunktion nur auf etwa 26% (Boonman-de Winter et al. 2012), dennoch verbleibt damit mindestens ein Viertel der Patienten mit diastolischer Dysfunktion als potenzielle Vorstufe einer manifesten diabetischen Kardiomyopathie. Im weiteren Krankheitsverlauf kann auf Basis der diastolischen Dysfunktion auch eine systolische Dysfunktion entstehen (Borghetti et al. 2018). Das Vorhandensein einer linksventrikulären systolischen Dysfunktion wurde in einer Metaanalyse von Bouthoorn et al. (2018) auf eine Prävalenz von 13% geschätzt. In einer anderen Studie an 605 Patienten mit T2DM ohne vorher bekannte Herzinsuffizienz wurde eine Prävalenz einer HFrEF von 4,8%, sowie eine Prävalenz von Herzinsuffizienz insgesamt von 27,7% festgestellt (Boonman-de Winter et al. 2012).

Den beschriebenen funktionellen Veränderungen liegen diverse Veränderungen auf Gewebeebene zugrunde. Neben der linksventrikulären Hypertrophie (Lee et al. 1997), kommt es auch zu Veränderungen der Extrazellulären Matrix, Fibrose und Mikroangiopathie (Jia et al. 2018). Ursächlich für die Veränderungen in der Gewebearchitektur ist vermutlich ein multifaktorielles Geschehen aus verschiedenen pathologischen Veränderungen im Zellstoffwechsel (Jia et al. 2018). In vielen Fällen bleibt der konkrete Pathomechanismus weiterhin unklar. Als Auslöser werden vor allem die chronische Hyperglykämie und die Insulinresistenz betrachtet (Jia et al. 2018). Es kommt zu Störungen der zellulären Signaltransduktion, des Calcium-Transportes, der Apoptose und der Mitochondrienfunktion (Jia et al. 2018).

Insbesondere der Mitochondrienfunktion wird heutzutage eine zentrale Rolle in der Pathophysiologie der diabetischen Kardiomyopathie zugesprochen (Jia et al. 2018). Mitochondrien nehmen verschiedene essenzielle Rollen im zellulären Stoffwechsel wahr. Dazu gehört nicht nur die Adenosintriphosphat-Produktion, sondern auch die Bildung oder Eliminierung von reaktiven Sauerstoffspezies (ROS) und die Apoptose (Szendroedi und

Roden 2008). Physiologisch stellen Mitochondrien mindestens 90% des Adenosintriphosphat (ATP) für die Zelle zur Verfügung (Jia et al. 2018). Mangel an Energie in Form von ATP oder vermehrter Zelltod haben einen negativen Einfluss auf die Funktion des Gewebes und können somit zu einer Herzinsuffizienz beitragen (Bugger und Abel 2014). Im Fokus dieser Arbeit steht daher die Energieproduktion durch die Mitochondrien im Myokard und deren Störungen bei Diabetes Mellitus.

1.4 Mitochondrienfunktion

1.4.1 Physiologie der Atmungskette und oxidative Phosphorylierung

Die Energieproduktion in der Zelle findet hauptsächlich im Rahmen der Atmungskette und der oxidativen Phosphorylierung statt. Die Atmungskette (*Electron transport chain*, ETC) beschreibt den schrittweisen Transport von Elektronen über mehrere beteiligte Enzymkomplexe und die Nutzung der dabei freiwerdenden Energie zum Transport von Protonen in den Intermembranraum zum Aufbau eines elektrochemischen Gradienten. Synonym zu ETC wird auch der Begriff *electron-transfer-system* (ETS) verwendet, der darauf hinweisen soll, dass es sich beim Elektronentransport nicht zwingend um eine Kette handelt (Gnaiger 2020). Stattdessen können Elektronen über viele verschiedene Enzymkomplexe in das ETS eingeschleust werden. Dazu gehören neben Komplex I, auch der *electron-transferring flavoprotein complex* (CETF) und der Komplex II (Gnaiger 2020). Alle Komplexe transferieren die Elektronen anschließend an Koenzym Q. Dieses Phänomen wird als *Q-junction* bezeichnet (Gnaiger 2020), siehe Abb. 1. Tabelle 2 fasst die einzelnen an der Atmungskette beteiligten Komplexe und ihre spezifischen Inhibitoren zusammen.

Tabelle 2

Übersicht über die an der Atmungskette beteiligten Proteinkomplexe

Komplex	Bezeichnung	Ladungstransport	Inhibitor
CETF	Electron-transferring-flavoprotein-complex, ETF:Ubichinon-Oxidoreduktase	Nein	
C I	NADH:Ubichinon-Oxidoreduktase	4 H ⁺	Rotenon
C II	Succinat:Ubichinon-Oxidoreduktase	Nein	Malonat
C III	Ubihydrochinon:Cytrochrom-c-	2 H ⁺	Antimycin-

Komplex	Bezeichnung	Ladungstransport	Inhibitor
	Oxidoreduktase		A
C IV	Cytochrom-c-Oxidase	4 H ⁺	
C V	ATP-Synthase	Rücktransport	Oligomycin

CETF: *electron-transferring flavoprotein complex*, C I-V: Komplex I-V, NADH: Nikotinamidadenindinukleotid, ATP: Adenosintriphosphat, H⁺: Proton.

Angelehnt an Löffler/Petrides Biochemie und Pathobiochemie 2014, Gnaiger 2020.

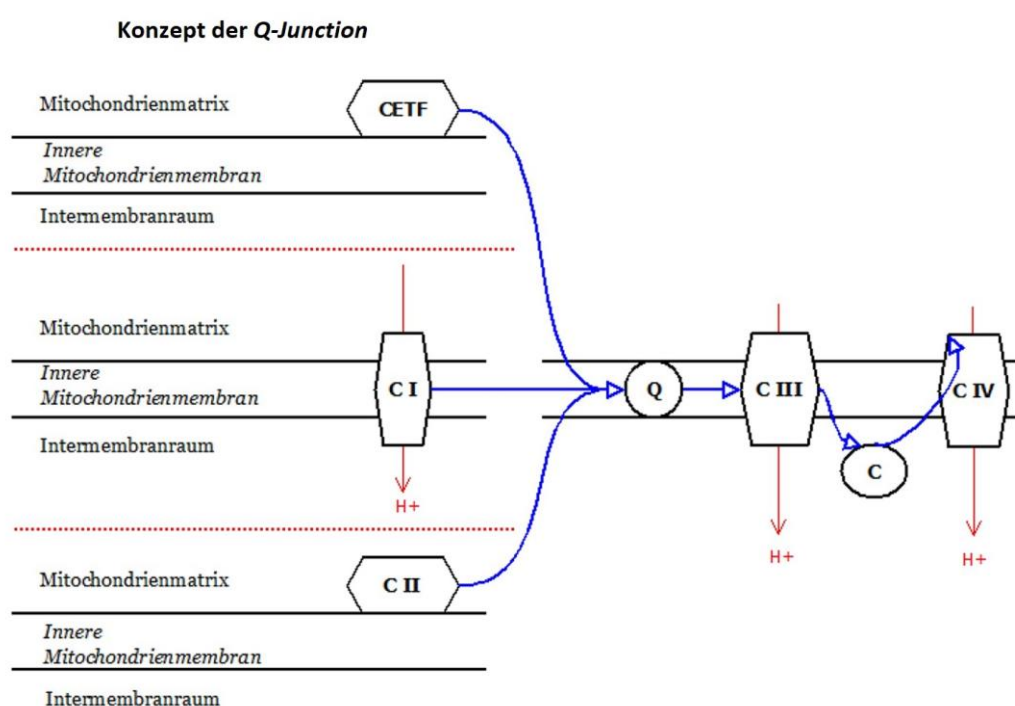


Abb. 1: Konzept der Q-Junction

Der Elektronentransport (blaue Pfeile) erfolgt von verschiedenen Startpunkten (CETF, C I, C II) immer zum Koenzym Q, an dem der Elektronentransport in eine gemeinsame Endstrecke mündet. CETF: *electron-transferring flavoprotein complex*, C I-IV: Komplex I-IV, Q: Koenzym Q, C: Cytochrom C, H⁺: Proton. Eigene Darstellung angelehnt an Gnaiger (2020).

Welche Komplexe am Eintritt der Elektronen in die Atmungskette beteiligt sind, ist abhängig von den genutzten Substraten. Sämtliche energiereiche Substrate, wie beispielsweise Zucker- oder Fettmoleküle und Ketonkörper, können als Substrate für die Atmungskette dienen (Löffler/Petrides Biochemie und Pathobiochemie 2014).

Der Abbau von Fettmolekülen in Form von aktivierten Fettsäuren (Acyl-CoA) erfolgt über

die in der Mitochondrienmatrix stattfindende Betaoxidation. Pro Reaktionszyklus entsteht in der Betaoxidation ein reduziertes Flavin-Adenin-Dinukleotid (FADH_2), ein reduziertes Nikotinamadenindinukleotid ($\text{NADH}+\text{H}^+$) und ein Molekül Acetyl-Coenzym-A (Acetyl-CoA). Acetyl-CoA wird im Citratzyklus weiter metabolisiert (Löffler/Petrides Biochemie und Pathobiochemie 2014). Das Reduktionsäquivalent FADH_2 gibt seine Elektronen an den Komplex CETF ab. Dieser ist an der Matrix-Seite der inneren Mitochondrienmembran lokalisiert und besitzt keine eigene Fähigkeit zum Transport von Protonen (Gnaiger 2020). Das ebenfalls in der Betaoxidation entstandene $\text{NADH}+\text{H}^+$ gibt seine Elektronen an Komplex I ab, welcher vier Protonen in den Intermembranraum befördert (Löffler/Petrides Biochemie und Pathobiochemie 2014), (Abb. 2).

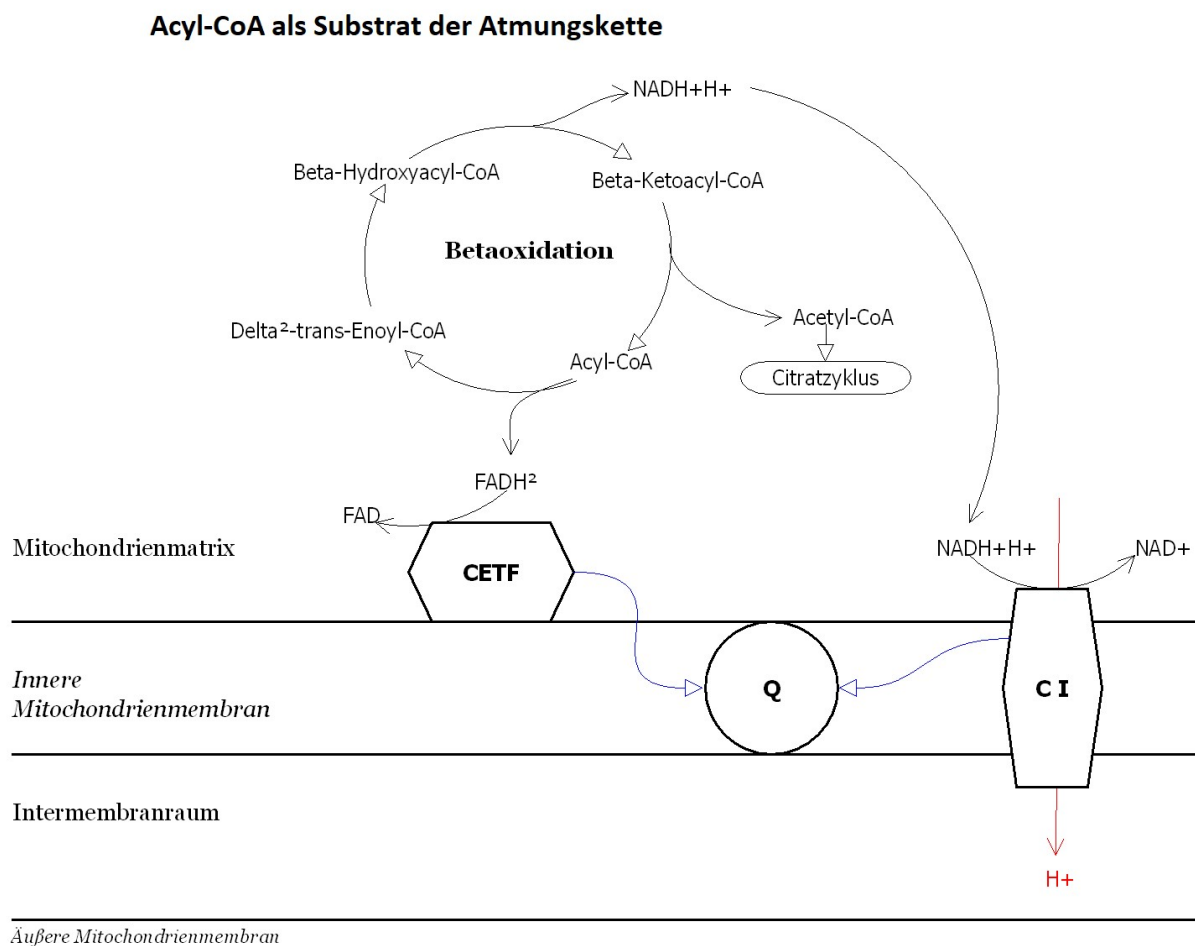


Abb. 2: Acyl-CoA als Substrat der Atmungskette

Die in der Betaoxidation entstandenen Reduktionsäquivalente FADH_2 und $\text{NADH}+\text{H}^+$ schleusen ihre Elektronen über CETF und CI in die Atmungskette ein. Anschließend werden diese auf Koenzym Q übertragen (blaue Pfeile).

CETF: *electron-transferring-flavoprotein-complex*, C I: Komplex I, Q: Koenzym Q, H⁺: Proton, FAD: Flavin-Adenin-Dinukleotid, NAD⁺: Nikotinamidadenindinukleotid. Eigene Darstellung angelehnt an Gnaiger (2020).

Zuckermoleküle werden nach erfolgter Glykolyse in Form von Pyruvat ins Mitochondrium transportiert und als Acetyl-CoA in den Citratzyklus eingebracht. Im Citratzyklus entstandenes NADH+H⁺ wird analog zu dem in der Betaoxidation entstandenem NADH+H⁺ von Komplex I genutzt. Komplex II fungiert als Elektronenakzeptor für FADH₂ und ist mit seiner Untereinheit, dem Enzym Succinat-Dehydrogenase gleichzeitig auch am Citratzyklus selbst beteiligt. Ähnlich wie der Komplex CETF besitzt Komplex II keine Fähigkeit zum Transport von Protonen in den Intermembranraum und transferiert die Elektronen stattdessen direkt an Ubichinon (Koenzym Q) (Löffler/Petrides Biochemie und Pathobiochemie 2014), (Abb. 3).

Zusammenspiel von Citratzyklus und Atmungskette

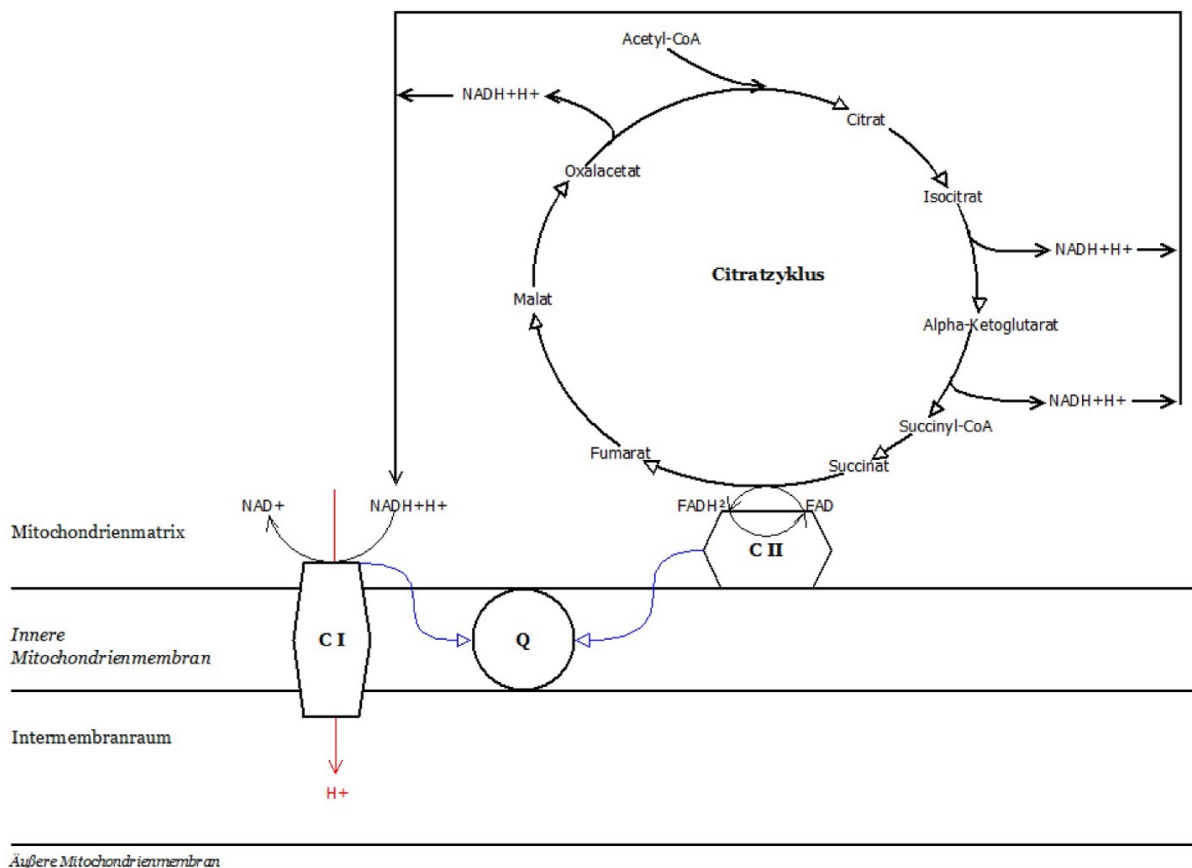


Abb. 3: Zusammenspiel von Citratzyklus und Atmungskette

Im Citratzyklus entstandenes NADH+H⁺ wird von Komplex I genutzt, Komplex II ist gleichzeitig Teil des

Citratzyklus und der Atmungskette. Die Elektronen werden auf Ubichinon (Q) übertragen (blaue Pfeile).

C I: Komplex I, C II: Komplex II, Q: Koenzym Q, H⁺: Proton, FAD: Flavin-Adenin-Dinukleotid, NAD⁺: Nikotinamadenindinukleotid. Eigene Darstellung angelehnt an Gnaiger (2020).

Koenzym Q markiert den Beginn einer gemeinsamen Endstrecke des Elektronentransportes. Von dort aus werden die Elektronen auf Komplex III übertragen. Anschließend erfolgt die Übertragung der Elektronen auf Cytochrom C, welches lose mit der äußeren Seite der inneren Mitochondrienmembran assoziiert ist (Gnaiger 2020). Von dort werden die Elektronen an Komplex IV übertragen, welcher die Elektronen an der Matrixseite auf $\frac{1}{2}$ O₂ überträgt, wobei, unter Nutzung von zwei Protonen (H⁺), Wasser entsteht. Gleichzeitig werden zwei H⁺ in den Intermembranraum transportiert (Löffler/Petrides Biochemie und Pathobiochemie 2014), siehe Abb. 4.

Gemeinsame Endstrecke des Elektronen-Transport-Systems

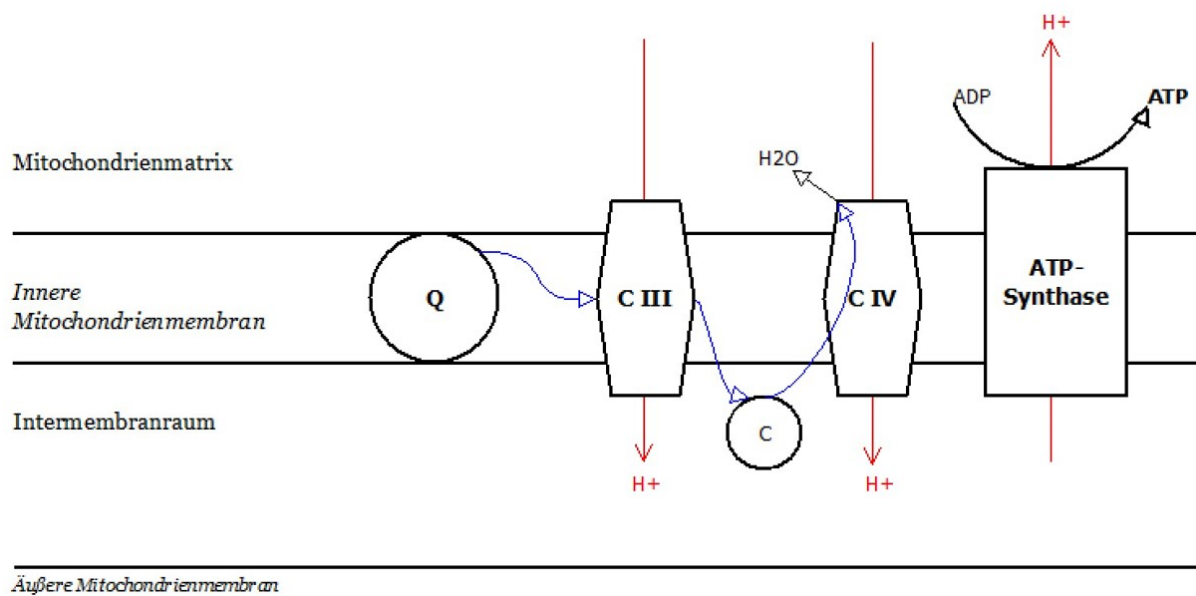


Abb. 4: Gemeinsame Endstrecke des Elektronen-Transport-Systems

Ausgehend vom Koenzym Q erfolgt der Elektronentransport (blaue Pfeile) über C III, zu Cytochrom C und folgend zu C IV. Durch C III und C IV erfolgt der Transport weiterer Protonen in den Intermembranraum. Der Rücktransport der Protonen entlang des elektrochemischen Gradienten erfolgt durch die ATP-Synthase (C V), welche die dabei freiwerdende Energie nutzt, um ADP zu ATP zu phosphorylieren.

Q: Koenzym Q, C III-V: Komplex III-V, C: Cytochrom C, H₂O: Wasser, H⁺: Proton, ATP: Adenosintriphosphat. Eigene Darstellung angelehnt an Gnaiger (2020).

Die im Intermembranraum befindlichen Protonen können durch die ATP-Synthase entlang des elektrochemischen Gradienten wieder in die Mitochondrienmatrix gelangen. Dabei wird Energie frei, die zur Phosphorylierung von Adenosindiphosphat (ADP) zu ATP genutzt wird. Insgesamt wird also durch Oxidationsprozesse eine Phosphorylierung von ADP zu ATP bewirkt, weshalb dieser Prozess auch als Oxidative Phosphorylierung bezeichnet wird (Löffler/Petrides Biochemie und Pathobiochemie 2014).

Diabetes Mellitus führt zu spezifischen Veränderungen der hier dargestellten Physiologie der mitochondrialen Respiration.

1.4.2 Alterationen der myokardialen Mitochondrienfunktion in Patienten mit Diabetes Mellitus

Fettsäuren sind mit 60-70% das primäre Energiesubstrat für kardiale Mitochondrien (Marín-García 2005; Gollmer et al. 2020). Die restlichen 30-40% der Energie beziehen die Mitochondrien je nach Verfügbarkeit und Energiebedarf aus anderen Substraten wie Glukose, Ketonen und Aminosäuren (Gollmer et al. 2020). Die Fähigkeit des Herzens Energie aus verschiedenen Substraten zu generieren, wird als metabolische Flexibilität bezeichnet (Makrecka-Kuka et al. 2020).

In Patienten mit Diabetes Mellitus kommt es in der Regel zu einem Anstieg der freien Fettsäuren (FFA) im Serum. Dieser führt zu einer vermehrten Aufnahme in die Zellen und zu einer gesteigerten Oxidation der FFA (Gollmer et al. 2020). Gleichzeitig ist durch die Insulinresistenz die Aufnahme und Oxidation von Glukose vermindert (Gollmer et al. 2020; Jia et al. 2018). Somit nutzen die kardialen Mitochondrien vermehrt Fettsäuren als Energiesubstrat und die metabolische Flexibilität geht verloren (Jia et al. 2018; Makrecka-Kuka et al. 2020). Die gesteigerte Nutzung von Fettsäuren, die im Vergleich eine weniger effiziente Energiequelle darstellen, bewirkt im Folgenden zwar eine vorerst gleichbleibende kardiale Kontraktilität, aber bei erhöhter Sauerstoffaufnahme, resultierend in einer geringeren kardialen Effizienz (Bugger und Abel 2014). Außerdem kommt es zu einer erhöhten Produktion reaktiver Sauerstoffspezies (ROS) (Jia et al. 2018; Zweck et al. 2021). Die erhöhte Produktion und Ansammlung von ROS kann die Mitochondrienfunktion schädigen und die Apoptose begünstigen (Jia et al. 2018). Auch inflammatorische Signalwege werden durch die vermehrte Verfügbarkeit von Fettsäuren gefördert. Dies äußert sich in

Veränderungen in der Genexpression (Jia et al. 2018; Szendroedi und Roden 2008). Langfristig übersteigt das Angebot an Fettsäuren die Metabolisierungskapazität, es kommt zur intrazellulären Akkumulation von Lipiden und die übermäßige Verfügbarkeit in der Zelle führt somit zum Phänomen der Lipotoxizität (Makrecka-Kuka et al. 2020). Es kommt zur Bildung intrazellulärer Lipidtropfen und zur Einschränkung der Mitochondrienfunktion durch toxische Lipidmetabolite, ROS und veränderte Genexpression (Bugger und Abel 2014). Die Einschränkung der Mitochondrienfunktion äußert sich unter anderem in einer verminderten Kapazität der oxidativen Phosphorylierung, die bereits auch für Herztransplantat-Empfänger gezeigt werden konnte (Zweck et al. 2021). Ob sich dies für diese Patientengruppe auch in einer Beeinträchtigung der Prognose niederschlägt, ist bisher nicht untersucht.

Die Erforschung früher pathophysiologischer Veränderungen der myokardialen Mitochondrien durch Diabetes Mellitus ist erschwert durch einen Mangel an humanem Myokardgewebe in der Forschung und dadurch, dass Patienten bei Diagnosestellung eines Diabetes Mellitus gegebenenfalls schon seit einem längerem Zeitraum an pathologischen Stoffwechselveränderungen leiden. Die Betrachtung herztransplantierte Patienten bietet nicht nur die Chance humanes Myokardgewebe zu untersuchen, sondern auch die Möglichkeit den Einfluss des Empfänger-Stoffwechsels auf ein gesundes Spenderherz zu analysieren.

1.5 Herztransplantation

1.5.1 Transplantationszahlen und Indikation

Nach einem Tiefpunkt von nur 257 Herztransplantationen in Deutschland im Jahr 2017, konnten im Jahr 2022 358 Herztransplantationen durchgeführt werden (DSO-Jahresbericht 2022). Das Herzzentrum des Universitätsklinikums Düsseldorf gehört dabei seit einigen Jahren zu den größten Zentren in Deutschland (Deutsche Stiftung Organtransplantation 2022).

Bei den 496 im Jahr 2022 in Deutschland als transplantabel zur Herztransplantation (HTX) gelisteten Erwachsenen, stellten Kardiomyopathien und die chronisch ischämische Herzkrankheit die häufigsten Indikationen dar (DSO-Jahresbericht 2022). Weltweit gesehen, ist die dilatative Kardiomyopathie, als häufigste unter den Kardiomyopathien, in 51% der Fälle die Indikation zur Transplantation. Die chronisch ischämische Herzkrankheit ist in 32% der Fälle die Transplantationsindikation (Khush et al. 2019). Das mediane Alter der Empfänger beträgt 55 Jahre (Khush et al. 2019).

1.5.2 Nachsorge und Immunsuppression nach HTX

Nach einer Herztransplantation schließt sich eine lebenslange intensive Nachsorge an. Diese verfolgt das Ziel, Komplikationen wie Abstoßungsreaktionen, Infektionen, Nierenfunktionsstörungen und Tumorerkrankungen frühzeitig zu detektieren und therapieren. Das Risiko bestimmter Komplikationen wandelt sich im zeitlichen Verlauf nach HTX. Im ersten Jahr nach HTX stellen insbesondere Abstoßungsreaktionen und Infektionen relevante Komplikationen dar. Deren Risiko sinkt im längerfristigen zeitlichen Verlauf, während das Risiko für Tumorerkrankungen und Nierenfunktionsstörungen steigt (Stehlik et al. 2018).

Zu den Säulen der Nachsorge nach HTX gehören Endomyokardbiopsien zur Abstoßungsdiagnostik, apparative- und Laboruntersuchungen zur Infektions- und Organfunktionsdiagnostik und eine langfristige enge hausärztliche Anbindung zur Früherkennung solider Tumore und regelmäßigen Serumspiegelbestimmung der Immunsuppressiva (Stehlik et al. 2018). Allerdings existieren aufgrund der verhältnismäßig kleinen Patientenzahlen keine evidenzbasierten Leitlinien, die die Nachsorge nach HTX vereinheitlichen. Die Transplantationszentren nutzen daher jeweils eigene Nachsorge-Protokolle. Im Herzzentrum Düsseldorf werden, angepasst an die Änderungen der Komplikationsrisiken im zeitlichen Verlauf, die zeitlichen Abstände der unmittelbar nach HTX einsetzenden Nachsorgeuntersuchungen schrittweise gesteigert, bis der Patient ein Jahr nach HTX bei komplikationslosem Verlauf etwa alle 12 Wochen untersucht wird.

Trotz Fortschritten in der Erforschung von nicht-invasiven Methoden der Abstoßungsdiagnostik, stellt die Endomyokardbiopsie bis heute den Goldstandard zur Diagnostik von Abstoßungsreaktionen dar (Stehlik et al. 2018). Das Risiko eine behandlungsbedürftige Abstoßung zu entwickeln ist im ersten Jahr nach HTX am höchsten (Stehlik et al. 2018). Entsprechend wird im Herzzentrum Düsseldorf bereits wenige Tage nach HTX die erste Biopsie durchgeführt. Weitere Biopsien erfolgen bei Beschwerdefreiheit und Freiheit von behandlungsbedürftiger Abstoßung planmäßig nach wenigen Wochen, 3 Monaten, 6 Monaten, nach einem Jahr und danach bis mindestens 5 Jahre nach HTX einmal jährlich. Andere Zentren verzichten dagegen im langfristigen Verlauf sogar komplett auf elektive Biopsien und führen diese nur noch bei klinischem Verdacht auf eine Abstoßungsreaktion durch (Stehlik et al. 2018; Costanzo et al. 2010).

Es werden zwei Formen von Abstoßungsreaktionen unterschieden; die zelluläre Abstoßungsreaktion und die seltener auftretende humorale Abstoßungsreaktion (Stehlik et al. 2018). Zelluläre Abstoßungen werden gemäß den Kriterien der *International Society of Heart and Lung Transplant* (ISHLT) in vier Stufen eingeteilt, siehe Tabelle 3. Ein Grad 0 (keine Abstoßung) oder eine milde Abstoßung (1 R) bedürfen zumeist keiner spezifischen Therapie. Dagegen werden eine moderate (2 R) oder schwere (3 R) Abstoßung in der Regel mit einer Intensivierung der immunsuppressiven Therapie und je nach klinischem Bild weiteren immunsuppressiven Regimen, beispielsweise einer Kortisonstoßtherapie behandelt (Stehlik et al. 2018). Die humorale Abstoßung (*antibody-mediated rejection*, AMR) wird in AMR 0 (keine humorale Abstoßung) und AMR 1 (humorale Abstoßung) eingeteilt. Zu den möglichen Therapieoptionen der humoralen Abstoßung gehören beispielsweise eine Kortisonstoßtherapie oder gegebenenfalls eine Immunapherese (Stehlik et al. 2018).

Tabelle 3

Abstoßungsklassifikation nach ISHLT 2004

Grad	Beschreibung	Therapie
0 R	Keine Abstoßung	Keine
1 R	Interstitielles oder perivaskuläres Infiltrat, max. 1 Fokus	Keine Akuttherapie, Anpassung der Immunsuppressiva
2 R	Zwei oder mehr Foki mit begleitendem Myozytenschaden	Ja
3 R	Diffuses Infiltrat, multifokaler Myozytenschaden, ggf. Ödem, Einblutung, Vaskulitis	Ja
AMR 0	Keine humorale Abstoßung	Keine
AMR 1	Humorale Abstoßung	Ja

Klassifikation der Abstoßung nach den revidierten ISHLT Kriterien, 0 R – 3 R: zelluläre Abstoßung, AMR: humorale Abstoßung, ISHLT: *International Society of Heart and Lung Transplantation*, Tabelle modifiziert nach Stewart et al. (2005).

Essenziell in der Nachsorge nach HTX ist nicht nur die Diagnostik von Abstoßungsepisoden, sondern möglichst das Verhindern solcher, und somit die Einstellung des Patienten auf eine wirksame immunsuppressive Medikation. Nach Durchführung der ersten erfolgreichen Herztransplantation im Menschen im Jahr 1967 konnte sich die Herztransplantation nicht unmittelbar durchsetzen. Grund dafür war ein Mangel an geeigneten Immunsuppressiva. Dies

begünstigte einerseits sowohl schwere Infektionen, andererseits aber auch Abstoßungsreaktionen und schränkte somit das Überleben der Patienten stark ein (Stehlik et al. 2018). In den vergangenen Jahrzehnten hat sich die immunsuppressive Einstellung der Patienten stark weiterentwickelt und besteht heutzutage in der Regel aus einer Dreifachtherapie (Stehlik et al. 2018). Die ISHLT sammelt weltweit Daten bezüglich der immunsuppressiven Therapie nach HTX. Sie konnten feststellen, dass in der Erhaltungstherapie in etwa 90% der Fälle der Calcineurin-Inhibitor Tacrolimus in Kombination mit dem Inosinmonophosphat-Dehydrogenase-Inhibitor Mycophenolat-Mofetil zum Einsatz kommt (Khush et al. 2019). Eine weitere, bisher seltener angewandte Möglichkeit ist die Kombination von Tacrolimus mit dem Signaltransduktionsinhibitor Everolimus (Khush et al. 2019). Zu beiden Kombinationsmöglichkeiten kommt in der Regel die Gabe von Corticosteroiden, die 80% der Patienten auch ein Jahr nach Transplantation noch einnehmen (Khush et al. 2019). Durch die dreifache immunsuppressive Therapie konnte der Anteil an Patienten, die im ersten Jahr nach Transplantation eine behandlungsbedürftige Abstoßungsreaktion entwickeln auf 12,6% reduziert werden (Khush et al. 2019).

1.5.3 Prognose nach HTX

Seit Etablierung der HTX als Goldstandard zur Therapie der terminalen Herzinsuffizienz, ist die Mortalität nach HTX kontinuierlich zurückgegangen (Khush et al. 2019). Bei zwischen 2002 und 2009 durchgeführten Transplantationen betrug das mediane Überleben 12,5 Jahre. Das 1-Jahres-Überleben ist abhängig von der Grunderkrankung und liegt bei etwa 89% (Khush et al. 2019; Hsich et al. 2020). Im Herzzentrum Düsseldorf liegt das 1-Jahres-Überleben bei 85,7% (Immohr et al. 2019). Zu den Prädiktoren der 1-Jahres-Mortalität gehören unter anderem die Indikation der Transplantation, die Abhängigkeit von mechanischer Kreislaufunterstützung vor HTX, sowie höheres Alter von Donor oder Empfänger, höherer BMI des Empfängers und längere Ischämiezeit (Khush et al. 2019). Im 10-Jahres-Überleben kommen zu den bekannten Prädiktoren noch weitere hinzu, darunter Dialysepflichtigkeit vor der Transplantation und Diabetes Mellitus (Khush et al. 2019).

Zu den häufigsten Todesursachen nach HTX zählen *Graft*-Versagen, Infektionen und Multiorganversagen (Khush et al. 2019). Im ersten Jahr nach Transplantation sind insbesondere Infektionskomplikationen und Abstoßungen relevante Auslöser, während in den

folgenden Jahren auch maligne Erkrankungen und *cardiac allograft vasculopathy* an Bedeutung gewinnen (Khush et al. 2019). Zehn Jahre nach HTX beträgt die Inzidenz maligner Erkrankungen 28% (Khush et al. 2019).

Der Anteil an Patienten, die eine außerplanmäßige Rehospitalisierung im ersten Jahr nach Transplantation benötigen, ist in den vergangenen Jahrzehnten gesunken und beträgt heute etwa 40% (Khush et al. 2019). Relevante Komorbiditäten, die zu einer Rehospitalisation nach Transplantation führen, sind vor allem Niereninsuffizienz, *cardiac allograft vasculopathy* und Diabetes Mellitus (Khush et al. 2019).

1.5.4 HTX und Diabetes Mellitus

Im Vergleich zur Allgemeinbevölkerung ist die Prävalenz von Diabetes Mellitus in HTX-Empfängern erhöht (Khush et al. 2019; International Diabetes Federation 2021). Ein wichtiger Grund dafür ist die immunsuppressive Medikation, unter der insbesondere Tacrolimus und Glukokortikoide ein hohes diabetogenes Potential besitzen (Costanzo et al. 2010; Marchetti 2004). Ebenfalls zu bedenken ist, dass es sich um eine allgemein schwer erkrankte Patientengruppe handelt, in der häufige Vorerkrankungen wie die ischämische Herzerkrankung ebenfalls mit einem erhöhten Anteil von Patienten mit T2DM vergesellschaftet sind (Stamler et al. 1993).

Bei einem nach Transplantation vorhandenen Diabetes Mellitus kann es sinnvoll sein, diesen nach dem Zeitpunkt der Erstdiagnose in einen bereits vor Transplantation vorhandenen Diabetes Mellitus oder einen nach Transplantation entstandenen Diabetes zu unterteilen, da beiden Formen eine verschiedene Ätiologie zugrunde liegt (Kim et al. 2017).

Die Prävalenz von vor Transplantation vorhandenem T2DM in HTX-Empfängern beträgt je nach Studie zwischen 13,6% und 29% (Hsich et al. 2020; Saraiva et al. 2011; Khush et al. 2019). Zusätzlich ist nach HTX die Inzidenz von Diabetes Mellitus erhöht. Das neue Auftreten eines Diabetes Mellitus nach Transplantation wird als *New Onset Diabetes mellitus After Transplantation* (NODAT) bezeichnet (American Diabetes Association 2019). Davon zu unterscheiden ist der Term *Post-Transplant Diabetes Mellitus* (PTDM), der das Vorhandensein eines Diabetes Mellitus nach Transplantation ohne Berücksichtigung des Zeitpunktes der Diabetes-Erkrankung beschreibt (American Diabetes Association 2019). Im Gegensatz zur bekannten Ätiologie und Pathophysiologie von T2DM mit peripherer

Insulinresistenz, ist NODAT in der Regel durch die Einnahme diabetogener Pharmaka bedingt und tritt meist bereits in den ersten Monaten nach HTX auf (American Diabetes Association 2019; Montori et al. 2002). Unabhängig von der verschiedenartigen Ätiologie führen sowohl T2DM als auch NODAT im zeitlichen Verlauf zu den gleichen Diabetes-assoziierten Komplikationen und werden nach aktuellem Forschungsstand gleichartig therapiert (Costanzo et al. 2010). Bisher existieren keine spezifischen Empfehlungen zur antidiabetischen Therapie nach Herztransplantation. Empfohlen wird aufgrund der unzureichenden Datenlage bisher lediglich ein regelmäßiges Screening nach T2DM oder Prädiabetes, sowie die Einleitung von antidiabetischer Medikation gemäß der allgemeinen Leitlinien (Costanzo et al. 2010). Da eine retrospektive Unterscheidung beider Formen oftmals nicht möglich ist und die Konsequenz für die Therapiestrategie gering ist, treffen viele Studien die Unterscheidung von T2DM und NODAT nicht (Khush et al. 2019) und auch wir fassen alle Formen in den folgenden Untersuchungen als „T2DM“ zusammen.

Betrachtet man die Prävalenz von Diabetes Mellitus nach Transplantation insgesamt, so leiden nach 5 Jahren etwa ein Drittel der Empfänger an Diabetes Mellitus (Khush et al. 2019; Zhao et al. 2020). Der Einfluss von Diabetes Mellitus auf die Mortalität nach HTX ist nicht abschließend untersucht. Dies begründet sich, neben der mangelnden Datenlage durch das relativ kleine Feld der herztransplantierten Patienten, auch auf die nicht immer einheitliche Definition und Diagnostik von Diabetes. So führen beispielsweise einige Studien kein strukturiertes postoperatives Screening auf Diabetes Mellitus durch, sodass noch nicht diagnostizierte Diabetes-Fälle, die möglicherweise ebenfalls von einem erhöhten Mortalitätsrisiko betroffen sind, fälschlicherweise in die Kontrollgruppe von Patienten ohne Diabetes Mellitus eingeordnet werden (z.B. Saraiva et al. 2011). Unter allen HTX-Empfängern mit diagnostiziertem Diabetes Mellitus ist die 1- bzw. 5-Jahres Mortalität laut ISHLT Registry um 20-40% erhöht (Taylor et al. 2003; Taylor et al. 2004; Khush et al. 2019). Eine große Analyse aus einer Datenbank von 30606 Patienten ergab, dass Diabetes Mellitus insbesondere im längerfristigen Zeitraum das Überleben beeinträchtigt (Hsich et al. 2020).

1.6 Ziele der Arbeit und Hypothesen

Ziel dieser Arbeit ist es, einen Beitrag zur Erforschung der Pathophysiologie der diabetischen Kardiomyopathie zu leisten. Aufgrund des Mangels an geeignetem humanem Myokard, existieren bisher nur wenige Studien auf diesem Gebiet. Der Forschungsbedarf ist allerdings, angesichts der weltweit hohen Prävalenz von Diabetes Mellitus und von Herzinsuffizienz in Patienten mit Diabetes Mellitus, hoch.

Die Untersuchung von Myokardbiopsien von HTX-Empfängern bietet die seltene Möglichkeit, an verschiedenen Punkten im zeitlichen Verlauf Myokardgewebe eines einzelnen Patienten zu untersuchen und somit möglicherweise den Entstehungsprozess der diabetischen Kardiomyopathie genauer zu charakterisieren.

Es ist bereits bekannt, dass T2DM in HTX-Empfängern circa ein Jahr nach HTX mit einer verringerten mitochondrialen Respiration assoziiert ist (Zweck et al. 2021). Da es sich zum Zeitpunkt der Transplantation um Myokardgewebe eines gesunden Spenders handelt, ist davon auszugehen, dass es nach Implantation in den Empfänger zu einer unmittelbaren oder schrittweisen Verschlechterung der mitochondrialen Respiration kommt. Das Vorliegen einer zeitabhängigen Dynamik ist in der Literatur allerdings noch nicht beschrieben.

Der Einfluss der Mitochondrienfunktion auf die myokardiale Funktion ist bislang nur spärlich untersucht. Bisher liegen außerdem keine Daten dazu vor, ob Veränderungen der mitochondrialen Funktion nicht nur Einfluss auf die Funktion, sondern gegebenenfalls auch auf die Prognose der Patienten nehmen.

Ziel der vorliegenden Arbeit war es 1.) die zeitliche Dynamik der mitochondrialen Funktion darzustellen; 2.) das Verhältnis von mitochondrialer und myokardialer Funktion in dieser Kohorte zu untersuchen und 3.) zu prüfen, ob Veränderungen der Mitochondrienfunktion Einfluss auf die Prognose der Patienten nehmen.

Wir formulierten dafür folgende Hypothesen:

- (1) Die myokardiale mitochondriale OXPHOS-Kapazität von Patienten mit T2DM sinkt im zeitlichen Verlauf verglichen mit Patienten ohne Diabetes Mellitus.
- (2) Eine verringerte mitochondriale OXPHOS-Kapazität ist assoziiert mit verringerter myokardialer Funktion.
- (3) Eine verringerte mitochondriale OXPHOS-Kapazität in HTX-Empfängern beeinflusst Mortalität, Hospitalisierungen und Abstoßungs-Episoden.

2 Material und Methoden

2.1 Materiallisten

2.1.1 Chemikalien/Lösungen

Tabelle 4

Alphabetische Anordnung der verwendeten Chemikalien/Lösungen

Produktname	Hersteller
Adenosindiphosphat	A5285, Sigma-Aldrich, Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland
Antimycin A	A8674, Sigma-Aldrich, Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland
Cytochrom C	C7752, Sigma-Aldrich, Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland
DL-Octanoyl-carnitin-HCl	0605, TOCRIS Bioscience, Bristol, Großbritannien
FCCP (Carbonyl-Cyanid-4-[trifluoromethoxy]phenylhydrazon)	C2920, Sigma-Aldrich, Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland
Glutamat	G1626, Sigma-Aldrich, Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland
Malat	M1000, Sigma-Aldrich, Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland
Oligomycin	O4876, Sigma-Aldrich, Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland
Rotenon	R8875, Sigma-Aldrich, Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland
Saponin aus Quillaja Rinde	S7900, Sigma-Aldrich, Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland
Succinat	S2378, Sigma-Aldrich, Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland

2.1.2 Puffermedien

Die Puffermedien wurden unter Mithilfe des wissenschaftlichen Personals des Deutschen Diabetes Zentrums aus den aufgelisteten Chemikalien hergestellt.

Das Puffermedium BIOPS wurde zur Konservierung des Myokardgewebes während des Transportes und der Permeabilisierung des Gewebes genutzt. Es besteht aus den in Tabelle 5 aufgelisteten Chemikalien.

Tabelle 5

Alphabetische Anordnung der verwendeten Chemikalien für BIOPS Puffermedium

Produktname	Hersteller
Calciumcarbonat (CaCO_3)	C4830, Sigma-Aldrich, Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland
Dithiothreitol	D0632, Sigma-Aldrich, Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland
Ethylenbis(oxyethylenitrilo)-tetraessigsäure (EGTA)	E4378, Sigma-Aldrich, Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland
Imidazol	56750, Fluka, Sigma-Aldrich, Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland
Kaliumhydroxid (KOH)	P1767, Sigma-Aldrich, Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland
2-Morpholino-ethansulfonsäure (MES)	M8250, Sigma-Aldrich, Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland
Magnesiumchlorid Hexahydrat ($\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$)	M2670, Sigma-Aldrich, Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland
Adenosin-5'-triphosphat Dinatriumsalz Hydrat (Na_2ATP)	A2383, Sigma-Aldrich, Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland
$\text{Na}_2\text{Phosphocreatin}$	P7936, Sigma-Aldrich, Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland
Taurin	T0625, Sigma-Aldrich, Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland

MiRO-5 ist das Inkubationsmedium für die Respirometrieanalyse des permeabilisierten Gewebes und besteht aus den in Tabelle 6 aufgelisteten Chemikalien.

Tabelle 6

Alphabetische Anordnung der verwendeten Chemikalien für MiRO-5 Puffermedium

Produktname	Hersteller
Albumin aus Rinderserum (BSA, essentially fatty acid free, fraction V)	A6003, Sigma-Aldrich, Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland
Ethylenbis(oxyethylenitrilo)-tetraessigsäure (EGTA)	E4378, Sigma-Aldrich, Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland
4-(2-Hydroxyethyl)-piperazin-1-ethansulfonsäure (HEPES)	H7523, Sigma-Aldrich, Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland
Kaliumphosphat (KH ₂ PO ₄)	P5655, Sigma-Aldrich, Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland
Lactobionsäure	153516, Sigma-Aldrich, Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland
Magnesiumchlorid Hexahydrat (MgCl ₂ 6H ₂ O)	M2670, Sigma-Aldrich, Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland
Sucrose	S7903, Sigma-Aldrich, Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland
Taurin	T0625, Sigma-Aldrich, Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland

2.1.3 Verbrauchs- und sonstige Materialien

Tabelle 7

Alphabetische Anordnung der Verbrauchs- und sonstiger Materialien

Produktname	Hersteller
6-Well-Platte	REF 7342323, VWR International, LLC, Radnor, USA
ACCU-CHEK® Dextrose O.G-T, Blutentnahmeset	Roche Diagnostics, Mannheim, Germany REF 367286, BD Belfiver Industrial Estate, Plymouth, Großbritannien

Produktname	Hersteller
Citrat-Röhrchen	REF 363079, BD Belliver Industrial Estate, Plymouth, Großbritannien
Combi-Stopper Verschlussknoten	REF 4495152, B. Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland
EDTA Blutbild-Röhrchen	REF 368499, BD Belliver Industrial Estate, Plymouth, Großbritannien
Einmalspritze 5ml	REF 4606051V, B. Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland
Einmalspritze 10ml	REF 4606108V, B. Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland
Einmalspritze 20ml	REF 4606205V, B. Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland
Falcon-Röhrchen 15ml	REF 352096, Corning Science México, Reynosa, Tarnaulipas, Mexiko
Falcon-Röhrchen 50ml	REF 352098, Corning Science México, Reynosa, Tarnaulipas, Mexiko
Filterpapier	REF 516-0804, VWR International, Leuven, Belgien
Glukose-Teststreifen	REF 42214, Nova Biomedical UK, Runcorn, Großbritannien
Hautantiseptikum	Art.-Nr. 204012, Schülke & Mayr GmbH, Norderstedt, Deutschland
Medizinische Untersuchungshandschuhe	REF 290420, Abena GmbH, Zörbig, Deutschland
Mikroreaktionsgefäß 1,5ml	Eppendorf Safe-Lock Tubes 1,5ml, Eppendorf AG, Hamburg, Deutschland
Pipettenspitzen	epT.I.P.S. Reloads 2-200µl, 50-100µl, 100- 5000µl, Eppendorf AG, Hamburg, Deutschland
Probengefäß 1,3ml Fluorid-Heparin/Glukose	Bestellnummer 41.1394.005, Sarstedt AG & Co. KG, Nümbrecht, Deutschland

Produktname	Hersteller
Probengefäß 2ml, grünes Cap-Insert	Art.-Nr. 710513, 710533, Biozym Scientific GmbH, Wien, Österreich
Sicherheitsvenenverweilkanülen	REF 4268130S-01, B. Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland
Serum-Röhrchen 3,5ml	REF 367957, BD Belliver Industrial Estate, Plymouth, Großbritannien
Serum-Röhrchen 5ml	REF 367955, BD Belliver Industrial Estate, Plymouth, Großbritannien
Substratspritzen 10/25/50mm ³	Hamilton Central Europe S.R.L., Ghiroda, Rumänien
Tegaderm transparenter i.v. Filmverband	REF 1633, 3M Deutschland GmbH, Neuss, Deutschland
Vernichtungsbeutel	VB20, Oehmen Labortechnik, Essen, Deutschland
Zellstofftupfer	REF 13356 Lohmann & Rauscher International GmbH & Co. KG, Rengsdorf, Deutschland

2.1.4 Geräte

Tabelle 8

Alphabetische Anordnung der verwendeten Geräte

Produktname	Hersteller
Lichtmikroskop	Zeiss, Oberkochen, Deutschland
Multischüttler, Standard Analog Shaker	VWR International, Leuven, Belgien
Oxygraph-2k	OROBOROS Instruments, Innsbruck, Österreich
Pipetten 2,5/10/100/1000/5000µl	Eppendorf Research plus Einkanal, Eppendorf AG, Hamburg, Deutschland
Point-Of-Care Glukose Monitoring System	REF 51707, Nova Biomedical, Mörfelden-Walldorf, Deutschland

Produktname	Hersteller
Precision balance XP 205 Waage	Mettler Toledo, Ohio, USA
Reagenzglasschüttler	Heidolph Instruments GmbH & Co. KG, Schwabach, Deutschland
Zentrifuge	Thermo Fisher Scientific, Waltham, USA

2.1.5 Software

Tabelle 9

Alphabetische Anordnung der verwendeten Software

Produktname	Hersteller
Citavi 6	Swiss Academic Software, Wädenswil, Schweiz
Dia 0.97.2	Gnome Foundation, Orinda, CA, USA
DatLab	OROBOROS Instruments, Innsbruck, Österreich
GraphPad Prism 9	GraphPad Software, Inc., La Jolla, USA
Microsoft Office	Microsoft Corporation, Redmond, USA
Process Makro für SPSS, Version 3.5	Andrew F. Hayes
SPSS 26	IBM, Armonk, New York, USA

2.2 Probanden und Datenakquisition

2.2.1 Ethikvotum

Für die vorliegende Arbeit besteht ein positives Ethikvotum der Ethikkommission der Medizinischen Fakultät der HHU Düsseldorf vom 07.03.2016, mit einer Verlängerung am 16.10.2018 (interne Studiennummer 5263R; Registrierungs-ID 2015104434). Die Studie ist mit der Identifikationsnummer NCT03386864 bei ClinicalTrials.gov registriert. Die Probanden gaben nach Aufklärung durch einen Studienarzt ihre informierte Einwilligung durch Unterschriften.

2.2.2 Probanden

In die Studie eingeschlossen wurden, sofern keine Ausschlusskriterien zutrafen, klinisch stabile Patienten, die eine Herztransplantation erhalten haben und im Rahmen der Standard-Nachsorge zur Endomyokardbiopsie vorstellig wurden. Ausschlusskriterien für eine Aufnahme waren:

- Alter <18 oder >85 Jahre
- Schwangerschaft
- Einnahme von Alkohol oder Drogen (Suchterkrankung), psychiatrische Erkrankung
- Risiko für manifestes AIDS (HIV), Hepatitis B oder C
- Maligne Krebserkrankung

Insgesamt wurden 117 Patienten mit 385 erfassten Vorstellungen („Visits“) im Beobachtungszeitraum eingeschlossen.

2.2.3 Datenakquisition

Die Patienten erhielten, sofern keine Kontraindikationen vorlagen, folgende Untersuchungen:

- Myokardbiopsie
- Blutabnahme
- Oraler Glukosetoleranztest (oGTT)
- Cardio-MRT

Aus den elektronischen Patientenakten wurden Daten zu Komorbiditäten, Medikamenteneinnahme, Hospitalisierungen und Todesfällen erhoben.

2.2.3.1 Myokardbiopsie

Endomyokardbiopsien gehören zur standardmäßigen Nachsorge nach HTX. Dabei wird über einen Zugang, in der Regel über die Vena femoralis, ein Biotom bis zum Herzen vorgeschoben und mittels Röntgenkontrolle auf das Septum zwischen rechtem und linkem Ventrikel ausgerichtet, siehe Abb. 5. Daraufhin werden sechs bis sieben Gewebeproben entnommen. Vier oder fünf der Proben wurden dann an das IKDT Labor Berlin zur Abstoßungs- und Virologiediagnostik gesendet. Die verbliebenen Proben wurden für die Respirometrieanalyse genutzt.

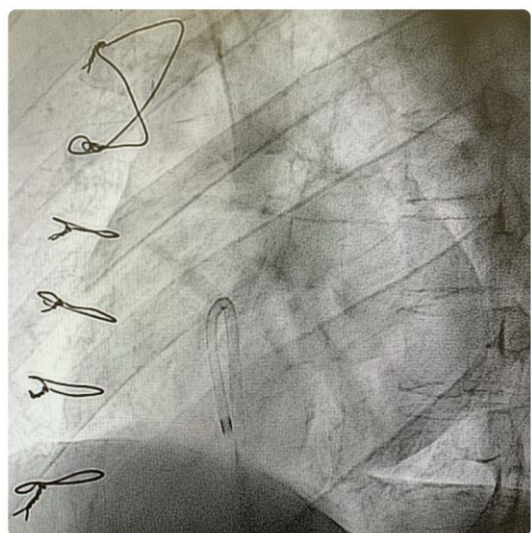
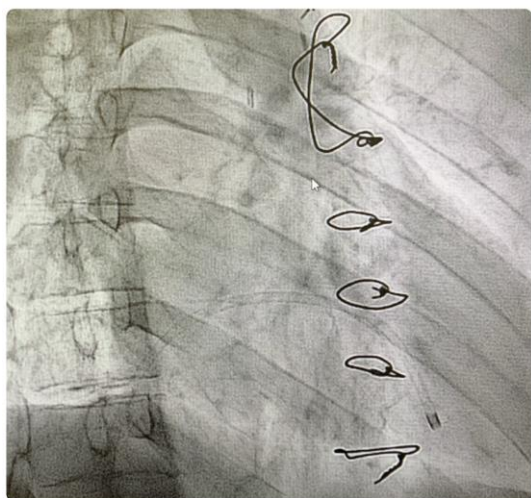


Abb. 5: Ausrichtung eines Biopstoms über einen Führungskatheter unter Röntgenkontrolle

2.2.3.2 Blutproben

Die Blutentnahme erfolgte am nüchternen Patienten mittels eines Blutabnahmesets oder während der Myokardbiopsie über den Zugang in der Vena femoralis. Aus den entnommenen Röhrchen wurden durch das Labor des Deutschen Diabetes Zentrums die in Tabelle 10 aufgelisteten Parameter bestimmt.

Tabelle 10

Blutentnahme

Gefäß	Parameter
Serum (17ml)	Natrium, Kalium, Calcium, Chlorid, Magnesium, Creatinin, Cystatin C, Harnstoff, Harnsäure, Aspartat-

Gefäß	Parameter
EDTA-Plasma (3ml)	Aminotransferase, Alanin-Aminotransferase, γ Glutamyltransferase, alkalische Phosphatase, Bilirubin, Cholinesterase, Amylase, Pankreas-Amylase, Lipase, Triglyceride, Gesamt-Cholesterin, <i>Low density lipoprotein</i> (LDL), <i>high density lipoprotein</i> (HDL), LaktatDehydrogenase, Creatin-Kinase, Gesamt-Eiweiß, Albumin, Ferritin, Eisen, hochsensitives C-reaktives Protein, freies Thyroxin, Thyreotropin (TSH) basal, C-Peptid, Insulin Leukozytenzahl, Erythrozytenzahl, Hämoglobin, Hämatokrit, Mittleres korpuskuläres Volumen (MCV), mittlerer korpuskulärer Hämoglobingehalt (MCH) und mittlere korpuskuläre Hämoglobinkonzentration (MCHC) Thrombozyten, Hämoglobin A1c (HbA1c)
Citrat-Plasma (2,7ml)	Quick, <i>International Normalized Ratio</i> (INR), Partielle Thromboplastinzeit
Fluorid-Heparin (1ml)	Blut-Glukose-Konzentration
Probengefäß mit 20µl EDTA und 1µg Orlistat (2ml)	Freie Fettsäuren

Nt-pro-BNP und hochsensitives Troponin T wurden im Rahmen des Aufenthalts des Patienten nach klinischer Indikationsstellung durch das UKD-Labor bestimmt und aus den elektronischen Patientenakten erhoben.

2.2.3.3 Oraler Glukosetoleranztest und Diabetes Mellitus Diagnostik

Im Rahmen des oralen Glukosetoleranztests (oGTT) trank der nüchterne Patient innerhalb von fünf Minuten eine Zuckerlösung (75g Glukose in 300ml Wasser). Der Patient wurde angewiesen während des Untersuchungszeitraums keine Nahrung zu sich zu nehmen und sich nicht körperlich zu betätigen. Ergänzend zur in Tabelle 10 geschilderten Diagnostik erfolgten zusätzliche Blutentnahmen von 5ml Blut zu Beginn, sowie nach jeweils 30, 60, 90, 120, 150 und 180 Minuten für die Bestimmung von C-Peptid, Insulin, Blut-Glukose-Konzentration und freien Fettsäuren.

Kontraindikationen für die Durchführung eines oGTT waren: fehlendes Einverständnis, Nüchternblutglukose $> 170\text{mg/dL}$, HbA1c $> 9\%$ oder Insulintherapie. Ein Abbruch des Tests erfolgte bei Blutglukosewerten $> 350\text{ mg/dL}$ oder NonCompliance des Patienten (Aufnahme zusätzlicher Nahrung oder übermäßige Bewegungsaktivität während des Tests).

Die Diagnostik von Typ 2 Diabetes Mellitus oder Prädiabetes orientierte sich an den Kriterien der American Diabetes Association, siehe Tabelle 1 (American Diabetes Association 2019).

2.2.3.4 Cardio-MRT

Sofern keine Kontraindikationen für die Durchführung eines MRTs vorlagen, wurde ein Cardio-MRT in einem 1,5 Tesla-System (Philips Achieva 1.5T XR MRI System) durchgeführt. Darin wurden Daten zur kardialen Anatomie und Funktion, wie beispielsweise die linksventrikuläre Ejektionsfraktion erhoben.

Kontraindikationen für die Durchführung eines Cardio-MRTs waren:

- Adipositas per magna
- Fehlendes Einverständnis oder starke Platzangst
- Metall im Körper

2.3 Hochauflösende Respirometrie

2.3.1 Prinzip der hochauflösenden Respirometrie

Die Untersuchung der mitochondrialen Funktion erfolgte in dieser Arbeit mittels der *ex vivo* Methode der hochauflösenden Respirometrie im Oxygraph-2k. Grundprinzip ist die Messung der Änderung der Sauerstoffkonzentration durch Sauerstoff konsumierendes Gewebe in einer geschlossenen Kammer. Die Sauerstoffkonzentration wird dabei mittels einer Clark-Elektrode gemessen und über die Zeit aufgetragen dargestellt (Gnaiger 2008). Die Respirometrieanalyse ermöglicht die Beurteilung der Funktion und Effizienz der Atmungskette. Dafür wird von einem SUI-Protokoll (*substrate-uncoupler-inhibitor titration*) Gebrauch gemacht. In diesem können durch die sequenzielle Zugabe von Substraten und Inhibitoren verschiedene Komponenten der Atmungskette auf ihre Funktion überprüft werden. Durch die Temperierung auf 37°C , die Zugabe von Sauerstoff und die Nutzung spezieller Puffermedien werden möglichst physiologische Zustände erzielt.

Die Besonderheit eines SUI-Protokolls ist, dass sich die gemessene Respiration nicht jeweils aus der Wirkung eines einzelnen Substrates ergibt, sondern aus der additiven Wirkung aller bereits genutzten Substrate. Somit kann kein exakter Rückschluss auf die Funktion eines einzelnen Komplexes der Atmungskette getroffen werden, sondern lediglich auf die gleichzeitige Aktivität verschiedener Komplexe. Die in der Literatur, auch bei Verwendung von SUI-Protokollen, häufig genutzte Bezeichnung einzelner Substrate oder Komplexe ist daher missverständlich und im Folgenden werden Bezeichnungen gewählt, welche die additive Wirkungsweise der Substrate berücksichtigen sollen, siehe Tabelle 11.

Tabelle 11

Bezeichnung der Substratkombinationen

Substratkombination	Abkürzung	<i>State 3</i>	<i>State 4o</i>	<i>State U</i>
Malat	M			
+ Octanoylcarnitin	MO			
+ ADP	MO _{ADP}	X		
+ Glutamat	MOG _{ADP}	X		
+ Succinat	MOGS _{ADP}	X		
+ Oligomycin	MOGS _{Omy}		X	
+ FCCP	MOGS _{Fccp}			X

ADP: Adenosindiphosphat, Omy: Oligomycin, Fccp: Carbonyl-Cyanid-4-(trifluoro-methoxy)phenylhydrazon, State 3: gesättigte ADP-Konzentration, State 4o: Respiration bei Inhibition der ATP-Synthase, State U: Entkoppelte Respiration

2.3.2 Vorbereitung und Durchführung der hochauflösenden Respirometrie

Das in der Myokardbiopsie gewonnene Gewebe wurde unmittelbar in einem Eppendorf-Reaktionsgefäß mit BIOPS Lösung aufgefangen, zur Kühlung auf Eis gestellt und ins Labor transportiert. Im Labor erfolgte unter kontinuierlicher weiterer Kühlung mit Pinzetten eine manuelle Permeabilisierung des Gewebes unter dem Lichtmikroskop. Anschließend erfolgte der Transfer in eine Petrischale mit 2,5 ml BIOPS und die Permeabilisierung mit 25 µl Saponin. Dafür wurden zuvor 5 mg Saponin in 1 ml dH₂O mit Hilfe des Reagenzglasschüttlers aufgelöst. Nach einer Inkubationszeit von 30 Minuten unter kontinuierlicher Kühlung auf dem Multischüttler, erfolgten zwei Waschgänge durch jeweilige

Transfers in 2,5 ml MiR05 für 10 Minuten. Nach vorsichtigem Abtrocknen auf Filterpapier wurde das Trockengewicht des Gewebes bestimmt und das Gewebe danach unverzüglich dem kalibrierten Oxygraphen zugeführt. Sofern genügend Gewebe vorhanden war, wurde die Messung parallel in zwei Kammern durchgeführt.

Nach Zugabe des Gewebes und Hyperoxygenierung wurden die Kammern verschlossen und die Substrate nach folgendem Protokoll hinzugegeben, s. Tabelle 12.

Tabelle 12

Protokoll der Substratzugabe

Substrat	Titrationen- volumen	Finale Konzentration im Oxygraph	Funktion
Malat	5 µl	2 mM	Substrat Citratzyklus
Octanoyl- Carnitin	20 µl	1 mM	Substrat Betaoxidation
ADP	10 µl	2,5 mM	Substrat ATP-Synthase
Glutamat	10 µl	10 mM	Substrat Citratzyklus
Succinat	20 µl	10 mM	Substrat Citratzyklus
Cytochrom C	3 µl	10 µM	Prüfung Integrität äußere Mitochondrienmembran
Oligomycin	2 µl	5 µM	Inhibition ATP-Synthase
FCCP	0,5/0,3 µl	0.05-1 µM	Entkopplung
Rotenon	4 µl	2 µM	Inhibition C I
Antimycin A	2 µl	5 µM	Inhibition C III

ADP: Adenosin-Diphosphat, FCCP: Carbonyl-Cyanid-4-(trifluoro-methoxy)phenylhydrazon, ATP: Adenosintriphosphat, C I: Komplex I, C III: Komplex III.

Die Respirometrieanalyse begann gemäß dem Versuchsprotokoll (Tabelle 12) mit der Zugabe von Malat, einem Substrat im Citratzyklus. Obwohl im nächsten Schritt zunächst die Prüfung der Betaoxidation-assoziierten Respiration durch Zugabe von Octanoyl-Carnitin erfolgt, ist die vorherige Zugabe von Malat notwendig, da es ansonsten in Abwesenheit von Malat zu einer Akkumulation von Acetyl-CoA und somit zu einer Inhibition der Betaoxidation

kommen würde (Gnaiger 2020). Nach der Zugabe von Octanoyl-Carnitin als Substrat der Betaoxidation und ADP als Substrat für die ATP-Synthase, lässt sich die Funktion des Enzymkomplexes CETF (*Electron transferring flavoprotein complex*) bestimmen, da das in der Betaoxidation entstehende FADH_2 über CETF in das ETS eingeschleust wird. In begrenztem Ausmaß ist hier außerdem schon der Komplex I aktiv, welcher Elektronen von $\text{NADH} + \text{H}^+$ empfängt. Anschließend folgte die Zugabe von Glutamat, welches über Alpha-Ketoglutarat in den Citratzyklus eingeschleust wird, wobei das entstehende $\text{NADH} + \text{H}^+$ von Komplex I genutzt wird (Schneider et al. 2020). Mittels der Zugabe von Succinat kann auch der Komplex II auf seine Funktion überprüft werden (Schneider et al. 2020). Durch die Succinat-Dehydrogenase, welche als Teil von C II an der inneren Mitochondrienmembran lokalisiert ist und sowohl im Citratzyklus als auch in der Atmungskette eine Rolle spielt, wird Succinat zu Fumarat oxidiert, wobei das entstandene FADH_2 unmittelbar genutzt wird, um Ubichinon (Koenzym Q) zu reduzieren. Die Zugabe von Cytochrom C dient zur Testung der Integrität der äußeren Mitochondrienmembran. Bei einer Schädigung der äußeren Mitochondrienmembran geht Cytochrom C dort verloren. Eine Zugabe von Cytochrom C bewirkt in diesem Fall einen deutlichen Anstieg der Respiration (Kuznetsov et al. 2008). Anschließend erfolgte die Zugabe von Oligomycin zur Testung des *LEAK-State*. Oligomycin inhibiert die ATP-Synthase, wodurch das ETS zum Erliegen kommt. Der gemessene Sauerstoffverbrauch entsteht lediglich im Rahmen der Aufrechterhaltung des Membranpotenzials, um *Protonenleak* oder *-slip* durch die Membran auszugleichen (Gnaiger 2020). Entkoppler wie FCCP (*carbonyl cyanide p-trifluoromethoxyphenyl hydrazone*) bewirken ein Stadium der maximal entkoppelten Respiration (Gnaiger 2008). Sie lösen das Membranpotenzial auf und bewirken so eine maximale Aktivierung des ETS (Gnaiger 2008). Hierbei erfolgte eine sorgsame Titration bis zur optimalen Konzentration des Entkopplers, da eine übermäßige Zufuhr eine paradoxe Inhibierung bewirken kann (Gnaiger 2008). Anschließend erfolgte durch Zugabe von Rotenon und Antimycin A eine Inhibition der Komplexe I und respektive III, was die Messung des residuellen Sauerstoffverbrauches (*residual Oxygen consumption*, ROX) ermöglicht (Gnaiger 2008).

2.3.3 Auswertung der High Resolution Respirometrie

Die Auswertung der High Resolution Respirometrie erfolgte mit Hilfe des Programms Dat-Lab (OROBOROS Instruments, Innsbruck, Österreich). Nach Zugabe eines Substrates stellt

sich ein konstanter O₂-Flux ein (Abb. 6, rote Linie). Dieser wird als Plateau bezeichnet und markiert. Für eine hohe Datenqualität wurden, sofern genügend Gewebe vorhanden war, pro Endomyokardbiopsie in zwei Kammern parallele Messungen durchgeführt. Aus den parallelen Messungen wurde dann ein Mittelwert gebildet. Mögliche Fehlmessungen zeigten sich durch einen Cytochrom C Anstieg >10%, eine Succinat-gestützte Respiration von <50 pmol*s⁻¹*mg⁻¹ oder sonstige Fehlmessungen. Cytochrom C liegt physiologisch im Intermembranraum vor, kann aber die äußere Mitochondrienmembran nicht passieren. Ein Anstieg der Respiration nach Zugabe von Cytochrom C im Vergleich zur MOGS_{ADP}-Respiration um >10% weist daher auf eine Schädigung der äußeren Mitochondrienmembran hin (Kuznetsov et al. 2008). Eine MOGS_{ADP}-Respiration <50 pmol*s⁻¹*mg⁻¹ zeigt eine mangelnde Qualität der Probe insgesamt an, beispielsweise wenn die Probe vorwiegend aus Bindegewebe besteht (Kuznetsov et al. 2008). Seltene mögliche Fehlmessungen waren starke Messschwankungen durch Gerätefehler oder Fehler in der Ausführung des Versuchsprotokolls.

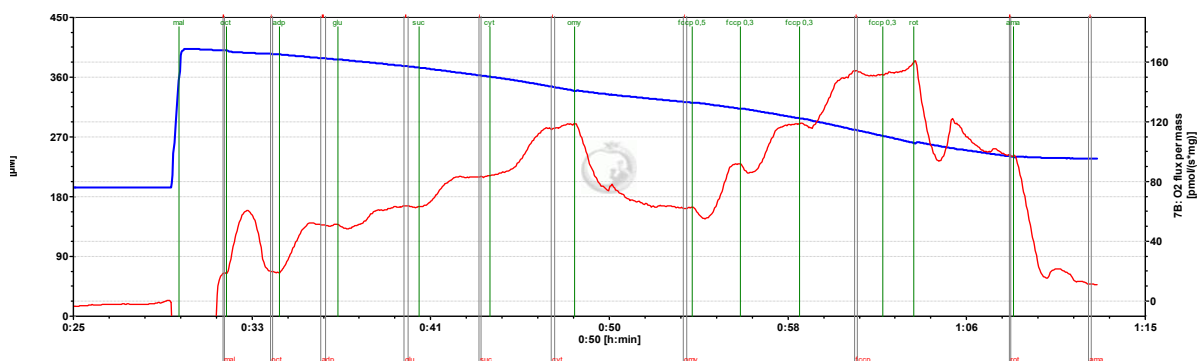


Abb. 6: Beispiel einer High Resolution Respirometrie

Auf der linken Achse (blaue Linie) wird die O₂-Konzentration [µM] dargestellt, auf der rechten Achse (rote Linie) der O₂-Flux [pmol*s⁻¹*mg⁻¹]. In Grün sind die Zeitpunkte der Substratzugaben markiert, in Rot die Plateaus.

Zusätzlich zur Höhe der Respiration auf Basis verschiedener Substratkombinationen können daraus noch die Quotienten RCR (*respiratory control ratio*) und LCR (*leak control ratio*) bestimmt werden. Der RCR errechnet sich aus $MOGS_{ADP}/MOGS_{Omy}$ und beschreibt die Kopplungs-Effizienz. Der LCR errechnet sich aus $MOGS_{Omy}/MOGS_{Fccp}$ und stellt die intrinsische Entkopplung dar.

2.4 Datenauswahl

Im Folgenden werden sowohl Ergebnisse aus Analysen von einem Messzeitpunkt als auch Analysen von messwiederholten Daten präsentiert. Um jeweils möglichst viel der vorhandenen Daten verwenden zu können, wurde nach zwei verschiedenen Auswahlchemata selektiert.

2.4.1 Ein-Zeitpunkt-Analysen

Das Auswahlchema der Daten ist in Abb. 7 dargestellt. Zunächst erfolgte der Ausschluss von Patienten mit T1DM oder einem Donor mit DM. Anschließend erfolgte der Ausschluss von Visits mit Fehlmessung in der hochauflösenden Respirometrie oder fehlenden Daten. Von den verbliebenen Patienten wurde jeweils der letzte verfügbare Visit eingeschlossen, um eine möglichst große Zeitspanne seit der Transplantation darzustellen. Die Patienten wurden gemäß den Kriterien der American Diabetes Association (s. Tabelle 1) den Gruppen Non-DM, Prädiabetes und T2DM zugeordnet.

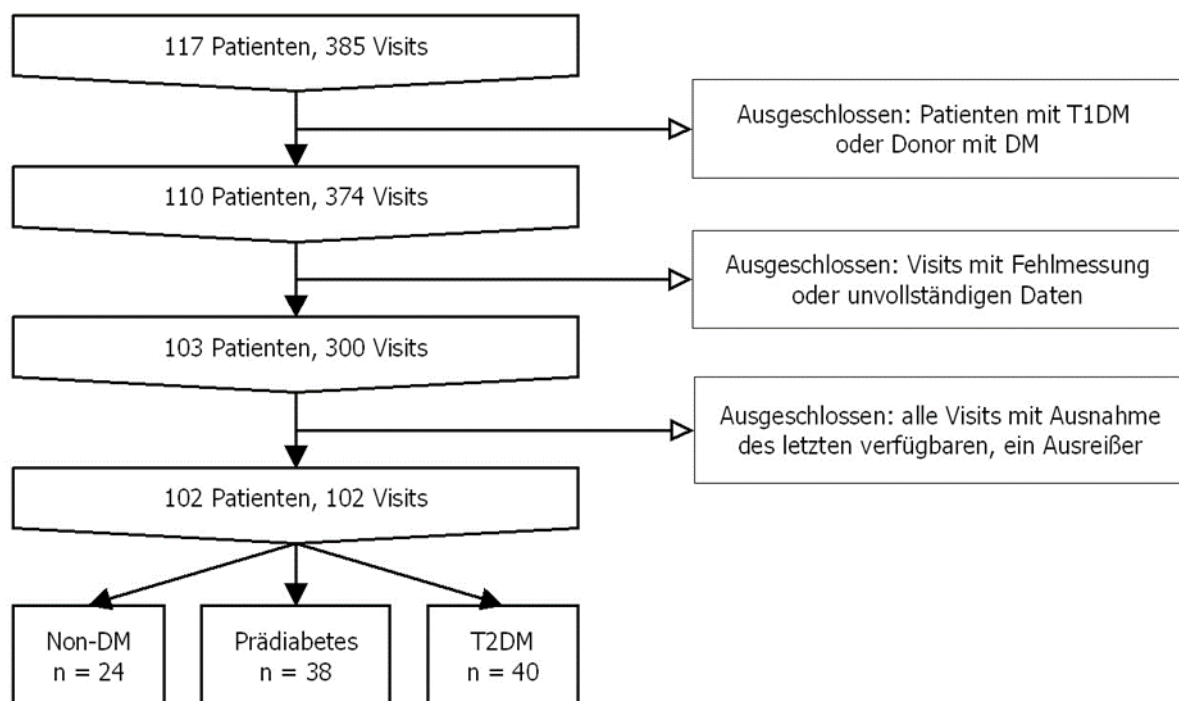


Abb. 7: Schema der Datenselektion für Ein-Zeitpunkt-Analysen

Von 117 Patienten verblieben nach Ausschluss 102 Patienten, die gemäß den Kriterien der American Diabetes Association den Gruppen Non-DM ($n = 24$), Prädiabetes ($n = 38$) und Typ 2 Diabetes ($n = 40$) zugeteilt wurden.

Vorerst erfolgte kein Ausschluss von Visits mit Kortison Stoßtherapie oder Abstoßungsreaktion.

2.4.2 Messwiederholte Analysen

Das Auswahlschema der Daten für die messwiederholten Analysen ist in Abb. 8 dargestellt. Zunächst erfolgte der Ausschluss von Patienten mit Typ 1 Diabetes Mellitus, sowie von Patienten mit einem Donor, welcher unter DM litt. Anschließend erfolgte der Ausschluss von Visits mit Fehlmessungen. Bei mehr als zwei verbliebenen Visits pro Patient erfolgte die Wahl des ersten und letzten vorhandenen Visits. Wenn nur ein Visit verblieb, musste der Patient ausgeschlossen werden. Es verblieben 72 Patienten, die unter Berücksichtigung beider Zeitpunkte, anhand der Kriterien der American Diabetes Association und der Laborparameter Nüchternblutzucker, 2h-Blutzucker im oGTT und HbA1c in Gruppen gemäß ihres Diabetes-Status eingeteilt wurden. Zwei weitere Patienten wurden ausgeschlossen, da sie sich aufgrund individueller Faktoren keiner der Gruppen zuordnen ließen. Es verblieben: Non-DM $n = 33$, Prädiabetes $n = 16$, T2DM $n = 21$. Für diese Analyse erfolgte kein Ausschluss von Visits mit Abstoßungsreaktionen oder Kortison Stoßtherapie.

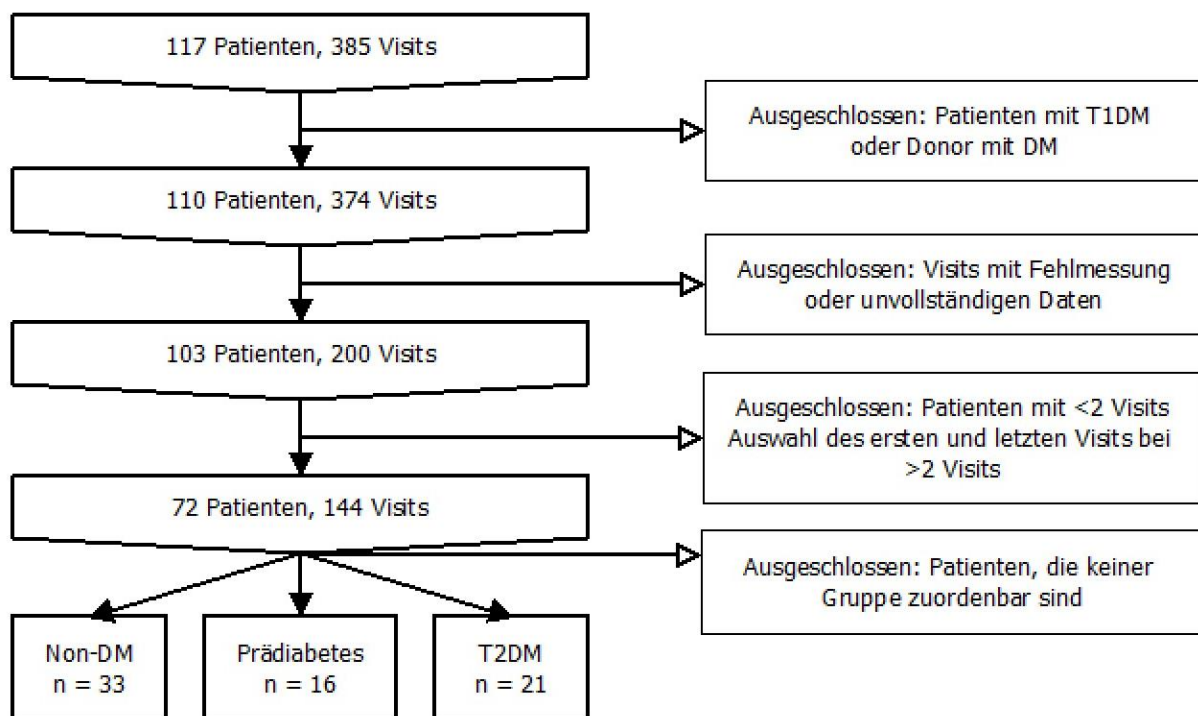


Abb. 8: Schema der Datenselektion für messwiederholte Analysen

Von 117 Patienten verblieben nach Ausschluss 70 Patienten mit 140 Visits, die gemäß der Kriterien der American Diabetes Association den Gruppen Non-DM ($n = 33$), Prädiabetes ($n = 16$) und Typ 2 Diabetes ($n = 21$) zugeteilt wurden.

2.5 Statistische Auswertung

Die statistische Analyse erfolgte mit IBM SPSS (Version 26) und Graph Pad Prism (Version 9). Die Daten wurden nach einem strikten Schema ausgewählt, um einen Selektions-bias zu vermeiden. Das Signifikanzniveau ist 0,05. Die Prüfung der Normalverteilung intervallskalierter Variablen erfolgte mittels Shapiro-Wilk-Test. Ausreißer mit einem z-Score $> 3,29$ oder $< -3,29$ wurden ausgeschlossen.

Univariate Vergleiche von intervallskalierten Variablen zwischen Gruppen erfolgten, wenn keine Normalverteilung angenommen werden konnte, non-parametrisch mittels Mann-Whitney-U-Test für zwei Gruppen und mittels Kruskal-Wallis-Test für mehr als zwei Gruppen. Deskriptiv angegeben sind hierfür der Median und das obere und untere Quartil.

Bei Annahme der Normalverteilung erfolgten univariate Gruppenvergleiche von intervallskalierten Daten mittels Varianzanalyse, unter Angabe von Mittelwert und

Standardabweichung.

Kategoriale Daten wurden mittels Chi-Quadrat-Tests analysiert und als Anzahl und Prozentsatz dargestellt. Die Chi-Quadrat-Tests erfüllten die Voraussetzung von mindestens 80% der Zellen mit einer erwarteten Häufigkeit >5 . Berichtet wurde die Signifikanz des *Pearson-Chi-Square*-Wertes. Im Fall von 2x2 Kreuztabellen wurde der exakte Test nach Fisher angewendet, um die Annahme der erwarteten Häufigkeit >10 nicht zu verletzen.

Messwiederholte Daten wurden mit Hilfe einer gemischten Varianzanalyse (*mixed ANOVA*) untersucht. Die Homogenität der Varianzen in der *mixed ANOVA* wurde mittels Levene-Test überprüft. Die Annahme der Gleichheit der Kovarianz-Matrizen wurde mittels Box-Test auf einem Signifikanzniveau von 0,01 geprüft.

Daten zu einzelnen Zeitpunkten wurden mittels Pearson-Korrelation, linearer Regression oder moderierter Regression untersucht. Ein statistischer Vergleich zweier Korrelationskoeffizienten erfolgte mit Hilfe eines Online-Rechners (Hemmerich 2017). Die moderierte Regression wurde mit Hilfe des Process-Makros für SPSS, Modell Nr. 1, durchgeführt. Eine moderierte Regression wird genutzt, wenn der Zusammenhang zwischen einer unabhängigen Variable (UV) und einer abhängigen Variable (AV) in seiner Ausprägung von einer dritten Variable, genannt Moderator (MOD), beeinflusst wird (Hayes 2013). Der Moderator (Diabetes-Status) wurde als kategorialer Faktor mit der Indikator-Methode kodiert. In einem zweiten Schritt wurde dieses Modell um den Abstoßungsstatus als Kovariate erweitert, siehe Abb. 9.

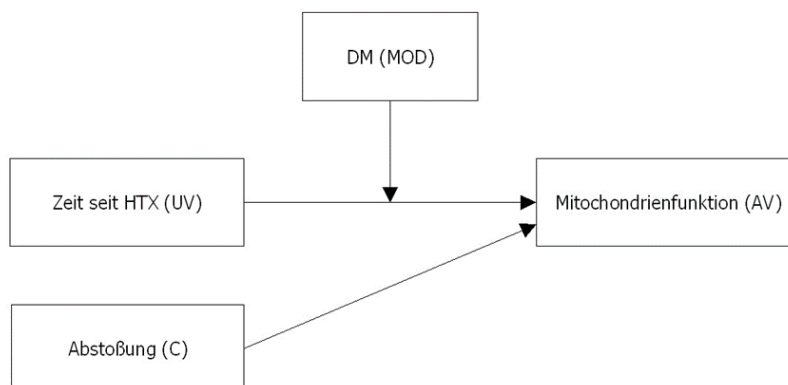


Abb. 9: Konzeptionelles Diagramm einer moderierten Regression mit Kovariate

Mögliche Einwirkung des Diabetes-Status (Moderator, MOD) auf den Einfluss der Zeit seit HTX (unabhängige Variable, UV) auf die Mitochondrienfunktion (abhängige Variable, AV) unter Einbezug der Abstoßung als Kovariate (C).

Überlebenszeitanalysen erfolgten für kategoriale Faktoren mittels Kaplan-Meier-Analyse. Da dabei keine konkrete Hypothese zur zeitlichen Dynamik eines möglichen Einflusses der Mitochondrienfunktion auf das *Outcome* vorlag, wurde der Log-Rank-Test zur gleichmäßigen Gewichtung der eingetretenen Ereignisse angewandt. Überlebenszeitanalysen für intervallskalierte Faktoren erfolgten mittels Cox-Regression.

3 Ergebnisse

3.1 Hypothese 1 - Entwicklung der Mitochondrienfunktion

Die Kapazität der oxidativen Phosphorylierung (OXPHOS) in myokardialen Mitochondrien von Patienten mit T2DM sinkt im zeitlichen Verlauf verglichen mit Empfängern mit normaler Glukosetoleranz.

3.1.1 Assoziation von höherer Zeit seit Transplantation mit niedriger Respiration

3.1.1.1 Datenauswahl und Patientencharakteristika

Das Schema der systematischen Datenauswahl ist unter 2.4.1 erklärt und enthält für die folgenden Analysen einen Datensatz pro Patienten. Es wurden 102 Patienten ausgewählt und in drei Gruppen eingeteilt (Abb. 7).

Die Patienten waren im Mittel 60 Jahre alt und zu 82,4% männlichen Geschlechts. Die mediane Zeit seit HTX betrug 19,5 Monate. Unter den 102 eingeschlossenen Patienten lag bei 39,2% ein Typ 2 Diabetes Mellitus vor. Von den 40 Patienten mit T2DM litten 11 (27,5%) bereits vor Transplantation an T2DM, bei den restlichen Patienten trat eine Neuerkrankung nach Transplantation auf, oder der Zeitpunkt der Diagnosestellung war unklar. 52,5% der Patienten mit T2DM waren insulinpflichtig und 25% nahmen Metformin ein. Im Rahmen von Kombinationstherapien nahmen außerdem 25% der Patienten mit Diabetes Mellitus andere orale Antidiabetika wie DPP-4-Inhibitoren oder SGLT-2-Inhibitoren ein. 24,7% der Patienten mit T2DM erfüllten zwar die laborchemischen Diagnosekriterien, nahmen aber zum Zeitpunkt der Datenerfassung keine antidiabetische Medikation ein.

Die Gruppen Non-DM ($n = 24$), Prädiabetes ($n = 38$) und T2DM ($n = 40$) wurden auf ihre Vergleichbarkeit hinsichtlich demografischer Daten, Komorbiditäten, kardialer Funktion, Medikation und klinischer Chemie geprüft (Tabelle 13). Dafür kamen der Kruskal-Wallis-Test und der Chi-Quadrat-Test zum Einsatz.

Hinsichtlich der linksventrikulären Ejektionsfraktion und der Inzidenz von Abstoßungsreaktionen waren alle drei Gruppen vergleichbar. Sie unterschieden sich statistisch signifikant in der Höhe des BMIs, der in der T2DM-Gruppe am höchsten war (T2DM: 26,2 vs. Non-DM: 24,6 vs. Prädiabetes 26 [kg/m^2], $p = 0,03$). Trendweise wies die T2DM-Gruppe auch einen höheren Donor-BMI als die anderen Gruppen auf ($p = 0,053$). Des Weiteren lag in der T2DM Gruppe ein signifikant erhöhter Anteil von Patienten mit einer

Anamnese von ischämischer Herzerkrankung vor (T2DM 62,5% vs. Non-DM 30,4% vs. Prädiabetes 39,5%, $p = 0,03$). Auch der Anteil von Patienten mit arterieller Hypertonie war in der Prädiabetes- und T2DM-Gruppe erhöht ($p < 0,05$). Weitere statistisch signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen ergaben sich in Diabetes-assoziiierter Medikation und klinischer Chemie (z.B. Einnahme von Insulin oder Metformin, Blutzuckerspiegel und HbA1c). Die Gruppen unterschieden sich außerdem statistisch signifikant im Anteil an Patienten mit schwerer Niereninsuffizienz und in der Höhe des hochsensitiven Troponin T (hsTropT).

Tabelle 13

Patientencharakteristika der Datenauswahl für Ein-Zeitpunkt-Analysen

Variable	<i>n</i>	Non-DM <i>n</i> = 24	Prädiabetes <i>n</i> = 38	T2DM <i>n</i> = 40	<i>p</i>
		Median (IQR) / %	Median (IQR) / %	Median (IQR) / %	
Demographische Daten					
Geschlecht [% männl.]	102	75	79	90	0,25
Alter [Jahre]	102	58 (33-62)	60 (50-62)	61 (54-67)	0,06
BMI [kg/m ²]	102	24,6 (20,8-26)	26 (23,6-27,7)	26,2 (24-30,5)	0,03
Zeit seit HTX [Monate]	102	18 (3-70)	20 (10-32)	19 (6-47)	0,98
Donor Alter [Jahre]	92	43 (29-50)	41 (29-48)	45 (36-55)	0,06
Donor Geschlecht [% männl.]	92	66,7	52,9	56,8	0,60
Donor BMI [kg/m ²]	92	24 (23-26)	24,2 (23,1-26,2)	26,3 (23,4-28,4)	0,05
Komorbiditäten und kardiale Funktion					
Z.n. ICM [%]	101	30,4	39,5	62,5	0,03
Z.n. DCM [%]	101	52,2	50	42,5	0,71
CKD V [%]	102	16,7	0	10	<0,05
Art. Hypertonie [%]	100	25	55,3	52,6	<0,05
LV-EF [%]	39	61 (59-70)	65 (59-69)	68 (61-75)	0,37
Cardiac Index [l/min/m ²]	89	2,8 (2,3-3,6)	2,6 (2,3-3,1)	2,6 (2,4-3,1)	0,42
NYHA-Klasse	98				0,36
NYHA I		40,9	40,5	43,6	
NYHA II		18,2	21,6	25,6	
NYHA III		0	16,2	10,3	
Kortisonstoßtherapie [%]	87	5	5,6	12,9	0,46

Variable	<i>n</i>	Non-DM <i>n</i> = 24	Prädiabetes <i>n</i> = 38	T2DM <i>n</i> = 40	<i>p</i>
		Median (IQR) / %	Median (IQR) / %	Median (IQR) / %	
Abstoßung [% ISHLT ≥ 1]	100	37,5	28,9	20,5	0,34
ISHLT 0		62,5	71,1	78,9	
ISHLT 1		37,5	28,9	18,4	
ISHLT 2		0	0	2,6	
Medikation					
Tacrolimus [%]	101	91,7	97,3	100	0,16
MMF [%]	101	83,3	57,9	65	0,11
Everolimus [%]	101	20,8	42,1	35	0,23
Prednisolon [%]	101	87,5	94,7	100	0,08
ACE Inhibitor [%]	102	45,8	36,8	28,2	0,36
Beta-Blocker [%]	102	33,3	34,2	45	0,53
Calciumkanal-blocker [%]	102	16,7	39,5	45	0,07
Diuretikum [%]	102	50	63,2	60	0,58
Statin [%]	102	75	97,4	90	0,02
Acetylsalicylsäure [%]	102	91,7	68,4	82,5	0,07
Insulin [%]	101	0	0	52,5	<0,01
Metformin [%]	101	0	0	25	<0,01
Klinische Chemie					
HsTropT [µg/l]	54	66 (32-236)	17 (9-40)	26 (17-55)	0,01
NT-proBNP [pg/ml]	92	585 (386-1219)	617 (368-1086)	650 (206-2160)	0,95
Hämoglobin [g/dl]	96	11,8 (10,9-14,1)	11,9 (10,1-12,9)	12,1 (10,8-13,4)	0,65
Kreatinin [mg/dl]	101	1,3 (1-1,5)	1,3 (1-1,6)	1,5 (1,2-2)	0,23
Cystatin C [ml/l]	101	1,3 (1,2-2,6)	1,5 (1,2-2,1)	1,7 (1,4-2,3)	0,14
CRP [mg/dl]	101	0,2 (0,1-0,5)	0,2 (0,1-0,8)	0,3 (0,1-0,7)	0,62
LDL Cholesterin [mg/dl]	101	77 (70-92)	98 (78-134)	98 (79-119)	0,10
Blutzucker [mg/dl]	98	79 (65-90)	93 (82-104)	117 (93-137)	<0,01
HbA1c [%]	101	5,2 (4,9-5,5)	5,9 (5,7-6)	6,7 (6,2-7,9)	<0,01
FFA [µmol/l]	99	797 (461-1129)	1251 (813-1738)	924 (744-1459)	0,04

Kruskal-Wallis Test (Median/IQR) und Chi-Quadrat Test (%). Non-DM *n* = 24, Prädiabetes *n* = 38, T2DM *n* = 40. T2DM = Typ 2 Diabetes Mellitus, IQR = *Interquartilrange*, HTX = Herztransplantation, ICM = Ischämische Herzerkrankung, DCM = Dilatative Kardiomyopathie, CKD V = *chronic kidney disease* Stadium V, LV-EF = Linksventrikuläre Ejektionsfraktion, NYHA = *New York Heart Association*, ISHLT = *International Society for Heart and Lung Transplantation*, MMF = Mycophenolat-Mofetil, ACE = *Angiotensin Converting Enzyme*, HsTropT = hochsensitives Troponin T, NT-proBNP = N-terminales *pro brain natriuretic peptide*, CRP = C-reaktives Protein, LDL = *Low Density Lipoprotein*, HbA1c = Hämoglobin A1c, FFA = *Free Fatty Acids*.

3.1.1.2 Assoziation von höherer Zeit seit HTX mit niedriger mitochondrialer Respiration in einfachen linearen Regressionsanalysen

Mit dem Ziel, die Höhe der mitochondrialen Respiration in Abhängigkeit von der Zeit seit HTX abzubilden, wurden zunächst für die drei Gruppen jeweils separate lineare Regressionsanalysen durchgeführt. Dabei ergab sich nur in der T2DM-Gruppe ein signifikanter Zusammenhang zwischen der Zeit seit HTX und verringerter mitochondrialer Respiration ($R^2 = 0,16$, $p = 0,01$) (Abb. 10). Weder in der Non-DM Gruppe noch in der Prädiabetes-Gruppe lag eine signifikante Assoziation zwischen der Zeit seit HTX und der mitochondrialen Respiration vor (Non-DM $p = 0,35$ und Prädiabetes $p = 0,61$). Der Korrelationskoeffizient der Non-DM-Gruppe unterschied sich statistisch signifikant vom Korrelationskoeffizienten der T2DM-Gruppe ($z = 2,24$, $p = 0,025$).

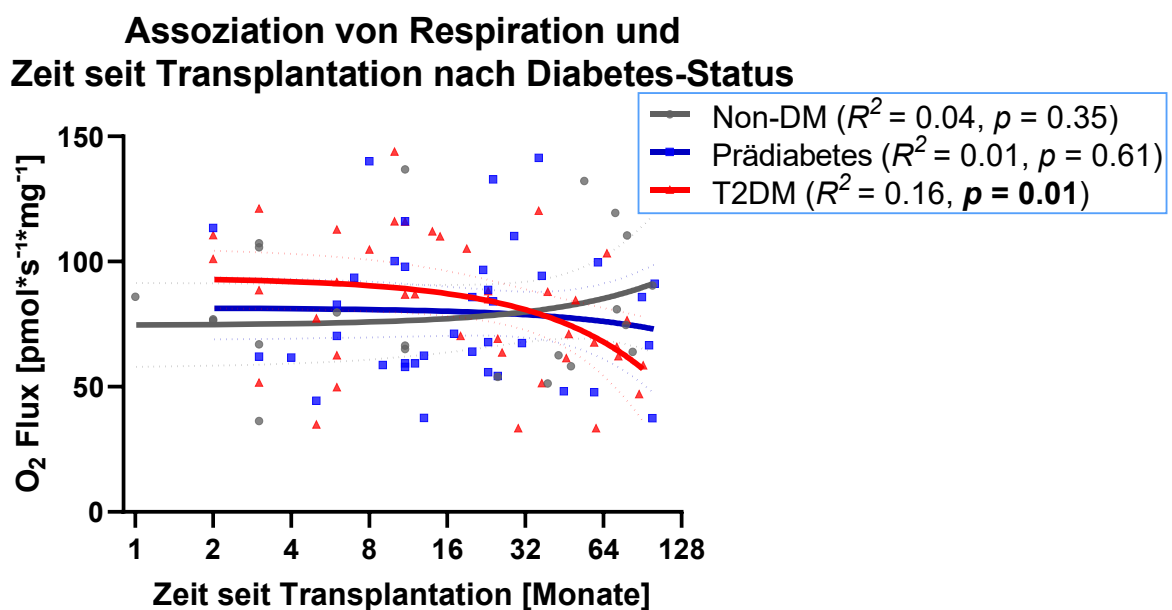


Abb. 10: Mitochondriale Respiration in HTX-Empfängern ohne DM, mit Prädiabetes oder mit T2DM in Abhängigkeit von der Zeit seit Transplantation

State III mitochondriale Respiration [$\text{pmol} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{mg}^{-1}$] auf Basis der Substratkombination Malat + Octanoylcarnitin bei gesättigter ADP Konzentration, abhängig von der Zeit seit HTX [Monate] in endomyokardialen Biopsien von HTX-Empfängern. Non-DM $n = 23$; Prädiabetes $n = 38$; T2DM $n = 40$. Lineare Regressionslinien.

HTX = Herztransplantation, T2DM = Typ 2 Diabetes Mellitus, ADP = Adenosindiphosphat.

Zu beachten ist, dass sich die beschriebene signifikante Assoziation zwischen fortgeschrittener Zeit seit HTX und verringerter mitochondrialer Respiration in der T2DM-Gruppe nur für die Substratkombination MO_{ADP} nachweisen ließ. Analoge Regressionsanalysen für weitere Substratkombinationen, sowie auch für den *Respiratory Control Ratio* und *Leak Control Ratio* blieben nicht signifikant (Tabelle 14).

Tabelle 14

Übersicht über die mitochondriale Respiration auf Basis verschiedener Substratkombinationen in Abhängigkeit von der Zeit seit Transplantation

		n	R^2	F	p
MO_{ADP}	Gesamt	101	0,02	(1, 99) = 1,49	0,23
	Non-DM	23	0,04	(1, 21) = 0,9	0,35
	Prädiabetes	38	0,01	(1, 36) = 0,27	0,61
	T2DM	40	0,16	(1, 38) = 6,97	0,01
MO_{GADP}	Gesamt	100	0,01	(1, 98) = 0,8	0,38
	Non-DM	23	< 0,01	(1, 21) = 0,02	0,9
	Prädiabetes	38	< 0,01	(1, 36) = 0,06	0,81
	T2DM	39	0,06	(1, 37) = 2,16	0,15
MO_{GSADP}	Gesamt	101	< 0,01	(1, 99) = 0,21	0,65
	Non-DM	23	< 0,01	(1, 21) = 0,07	0,79
	Prädiabetes	38	< 0,01	(1, 36) = 0,05	0,82
	T2DM	40	0,03	(1, 38) = 1,12	0,3
$MO_{GS_{Omy}}$	Gesamt	101	< 0,01	(1, 99) = 0,32	0,58
	Non-DM	23	0,02	(1, 21) = 0,33	0,57
	Prädiabetes	38	< 0,01	(1, 36) = 0,13	0,72
	T2DM	40	< 0,01	(1, 38) < 0,01	0,99
$MO_{GS_{Fccp}}$	Gesamt	101	< 0,01	(1, 99) = 0,11	0,75
	Non-DM	23	0,03	(1, 21) = 0,69	0,42
	Prädiabetes	38	< 0,01	(1, 36) = 0,19	0,67
	T2DM	40	0,01	(1, 38) = 0,37	0,55
RCR	Gesamt	101	0,02	(1, 99) = 1,96	0,17

		<i>n</i>	<i>R</i> ²	<i>F</i>	<i>p</i>
	Non-DM	23	0,01	(1, 21) = 0,22	0,64
	Prädiabetes	38	0,01	(1, 36) = 0,41	0,53
	T2DM	40	0,04	(1, 38) = 1,45	0,24
LCR	Gesamt	101	< 0,01	(1, 99) = 0,03	0,89
	Non-DM	23	0,01	(1, 21) = 0,24	0,63
	Prädiabetes	38	< 0,01	(1, 36) = 0,04	0,84
	T2DM	40	0,02	(1, 38) = 0,77	0,39

Mitochondriale Respiration in Abhängigkeit von der Zeit seit Transplantation für alle Patienten (Gesamt), sowie separat für die Gruppen Non-DM (*n* = 23), Prädiabetes (*n* = 38) und T2DM (*n* = 40). M = Malat, O = Octanoylcarnitin, ADP = Adenosindiphosphat, G = Glutamat, S = Succinat, Omy = Oligomycin, Fccp = Carbonyl-Cyanid-4-(trifluoro-ethoxy)phenylhydrazon, RCR = *Respiratory Control Ratio*, LCR = *Leak Control Ratio*, T2DM = Typ 2 Diabetes Mellitus. Einfache lineare Regressionsanalyse.

3.1.1.3 Assoziation von fortschreitender Zeit seit HTX mit niedriger mitochondrialer Respiration in moderierten Regressionsanalysen

In den bisherigen Analysen wurden für jede Gruppe jeweils separate Regressionsanalysen durchgeführt. Mit dem Ziel den statistischen Zusammenhang von fortschreitender Zeit seit HTX und mitochondrialer Respiration in Patienten mit T2DM, der in der einfachen linearen Regression (Abb. 9) gezeigt wurde, in einer Analyse unter simultaner Verwendung aller Daten zu bestätigen, wurde eine moderierte Regression durchgeführt.

Es zeigte sich für die Substratkombination MO_{ADP} ein signifikanter Interaktionseffekt zwischen der Zeit seit HTX und T2DM (*p* = 0,01), das Gesamtmodell blieb nicht signifikant (*p* = 0,16) (Tabelle 15). Auch Modelle für weitere Substratkombinationen blieben nicht signifikant (Tabelle 16).

Tabelle 15

Assoziation von Zeit seit HTX und Respiration für die Substratkombination MO_{ADP} in Abhängigkeit vom Diabetes-Status in einer einfachen moderierten Regression

Prädiktor	Koeff.	95% KI	<i>p</i>
Konstante	74,49	(58,98; 89,99)	0,44

Prädiktor	Koeff.	95% KI	p
Zeit seit HTX (UV)	0,19	(-0,14; 0,51)	0,26
DM-Status Prädiabetes (MOD 1)	7,02	(-12,68; 26,72)	0,48
DM-Status T2DM (MOD 2)	19,13	(-0,69; 38,94)	0,06
Zeit seit HTX x DM-Status: Prädiabetes (UV x MOD 1)	-0,27	(-0,72; 0,18)	0,24
Zeit seit HTX x DM-Status: T2DM (UV x MOD 2)	-0,59	(-1,04; -0,13)	0,01

$$R^2 = 0,08$$

$$F(5, 96) = 1,62, p = 0,16$$

Einfache moderierte Regression $n = 101$, $p = 0,16$. Koeff. = Koeffizient, KI = Konfidenzintervall.

M = Malat, O = Octanoylcarnitin, ADP = Adenosindiphosphat. UV = unabhängige Variable, MOD = Moderatorvariable, HTX = Herztransplantation, T2DM = Typ 2 Diabetes Mellitus.

Tabelle 16

Übersicht über die Assoziation von Zeit seit HTX und Respiration in Abhängigkeit vom Diabetes-Status in einfachen moderierten Regressionen für verschiedene Substratkombinationen

Modellzusammenfassung	R^2	F	p
MO _{ADP}	0,08	(5, 96) = 1,62	0,16
MOG _{ADP}	0,05	(5, 95) = 0,99	0,42
MOGS _{ADP}	0,06	(5, 96) = 1,3	0,27
MOGS _{Omy}	0,02	(5, 96) = 0,31	0,91
MOGS _{Fccp}	0,03	(5, 96) = 0,63	0,68
RCR	0,05	(5, 96) = 1,09	0,37
LCR	0,05	(5, 96) = 1,11	0,36

Einfache moderierte Regression, $n = 102$.

M = Malat, O = Octanoylcarnitin, ADP = Adenosindiphosphat, G = Glutamat, S = Succinat, Omy = Oligomycin. Fccp = Carbonyl-Cyanid-4-(trifluoro-ethoxy)phenylhydrazon, RCR = *Respiratory Control Ratio*, LCR = *Leak Control Ratio*.

Das Modell der moderierten Regression wurde anschließend um den aus klinischer Sicht wahrscheinlichsten Störfaktor, die Abstoßungsreaktion, erweitert. Eine Abstoßung wurde hierbei definiert als ISHLT Grad ≥ 1 . Das zweite Modell der moderierten Regression unter Einbezug des Abstoßungsstatus als Kovariate ergab einen signifikanten Interaktionseffekt der

Zeit seit HTX und des T2DM ($p < 0,01$) bei einem signifikanten Gesamtmodell ($p = 0,049$) (Tabelle 17). Der Interaktionseffekt von Zeit seit HTX und T2DM wies dabei mit $-0,61$ einen negativen unstandardisierten Koeffizienten auf und zeigte somit an, dass eine höhere Zeit seit HTX mit niedrigerer Respiration assoziiert war. Trendweise nahm auch der Abstoßungsstatus Einfluss auf die Respiration ($p = 0,06$). Auch hier wies der negative unstandardisierte Koeffizient ($-11,08$) darauf hin, dass das Vorliegen einer Abstoßungsreaktion mit einer niedrigeren Respiration assoziiert war.

Tabelle 17

Assoziation von Zeit seit HTX und Respiration für die Substratkombination MO_{ADP} in Abhängigkeit vom Diabetes-Status unter Berücksichtigung der Abstoßung in einer erweiterten moderierten Regression

Prädiktor	Koeff.	95% KI	p
Konstante	79,83	(63,62; 96,04)	$< 0,01$
Zeit seit HTX (UV)	0,15	(-0,17-0,47)	0,36
DM-Status Prädiabetes (MOD 1)	4,54	(-14,93; 24,02)	0,64
DM-Status T2DM (MOD 2)	18,9	(0,87; 38,67)	0,06
Zeit seit HTX x DM-Status: Prädiabetes (UV x MOD1)	-0,22	(-0,67; 0,22)	0,33
Zeit seit HTX x DM-Status: T2DM (UV x MOD 2)	-0,61	(-1,06; -0,16)	$< 0,01$
Abstoßung (C)	-11,08	(-22,82; 0,66)	0,06
$R^2 = 0,12$			
$F(6, 94) = 2,21, p = \mathbf{0,049}$			

Moderierte Regression, $n = 101$, $p = 0,049$. Koeff. = Koeffizient, KI = Konfidenzintervall.

M = Malat, O = Octanoylcarnitin, ADP = Adenosindiphosphat, UV = Unabhängige Variable, MOD = Moderatorvariable, C = Kovariate, HTX = Herztransplantation, T2DM = Typ 2 Diabetes Mellitus.

Zu beachten ist, wie auch in der linearen Regression (Tabelle 14), dass sich dieser Effekt lediglich für die Substratkombination MO_{ADP} und nicht für weitere Substratkombinationen nachweisen ließ (Tabelle 18).

Tabelle 18

Übersicht über die Assoziation von Zeit seit HTX und Respiration in Abhängigkeit vom Diabetes-Status

unter Berücksichtigung des Abstoßungsstatus in erweiterten moderierten Regressionen für verschiedene Substratkombinationen

Modellzusammenfassung	R^2	F	p
MO _{ADP}	0,12	(6, 94) = 2,21	0,049
MOG _{ADP}	0,09	(6, 93) = 1,57	0,16
MOGS _{ADP}	0,11	(6, 94) = 1,87	0,094
MOGS _{Omy}	0,02	(6, 94) = 0,29	0,939
MOGS _{Fccp}	0,04	(6, 94) = 0,65	0,688
RCR	0,09	(6, 94) = 1,63	0,147
LCR	0,05	(6, 94) = 0,89	0,509

Moderierte Regression mit Kovariate, $n = 102$.

M = Malat, O = Octanoylcarnitin, ADP = Adenosindiphosphat, G = Glutamat, S = Succinat, Omy = Oligomycin. Fccp = Carbonyl-Cyanid-4-(trifluoro-ethoxy)phenylhydrazon, RCR = *Respiratory Control Ratio*, LCR = *Leak Control Ratio*.

Somit zeigte sich in der einfachen linearen Regression und der moderierten Regression, dass in Patienten mit T2DM eine fortgeschrittene Zeit seit HTX mit einer niedrigeren mitochondrialen Respiration assoziiert war.

3.1.2 Entwicklung der Respiration bei steigender Zeit seit HTX

3.1.2.1 Datenauswahl und Patientencharakteristika

Die Entwicklung der mitochondrialen Respiration von einem Zeitpunkt zum Nächsten wurde anhand der zweiten Datenauswahl (Abb. 8) für die Gruppen Non-DM ($n = 33$), Prädiabetes ($n = 16$) und T2DM ($n = 21$) analysiert.

Eine Prüfung der Vergleichbarkeit der Gruppen mittels Kruskal-Wallis- und Chi-Quadrat-Test ergab mit Ausnahme Diabetes-assoziiierter Medikation und klinischer Chemie (z.B. Insulin- und Metformineinnahme, Blutzuckerspiegel und HbA1c) keine statistisch signifikanten Unterschiede (Tabelle 19).

Tabelle 19*Patientencharakteristika der Datenauswahl für messwiederholte Analysen*

Variable	n	Non-DM	Prädiabetes	T2DM	p
		n = 33 Median (IQR) / %	n = 16 Median (IQR) / %	n = 21 Median (IQR) / %	
Geschlecht [% männl.]	70	75,8	81,3	85,7	0,67
Alter [Jahre]	70	59 (44,5-63)	57 (50-64)	60 (55-66)	0,66
BMI	70	24,6 (21,1-27,3)	25,5 (24,5-27,6)	25,5 (20,5-31,9)	0,41
Zeit seit HTX.1 [Monate]	69	3,5 (1-45)	2 (2-5,3)	5 (2-29)	0,25
Zeit seit HTX.2 [Monate]	69	24 (10-65)	15 (11-25)	18 (8-47)	0,36
Donor Alter [Jahre]	65	41 (29-47,5)	41 (25-54)	52 (37-55)	0,05
Donor Geschlecht [% männl.]	65	46,9	69,2	40	0,243
Donor BMI [kg/m ²]	65	24,1 (23,2-25,9)	26,2 (22,7-28,2)	26,3 (23,2-28,5)	0,08
Z.n. ICM [%]	69	43,8	37,5	66,7	0,15
Z.n. DCM [%]	69	59,4	50	42,9	0,49
CKD V [%]	69	9,4	0	14,3	0,31
Art. Hypertonie [%]	64	36,7	50	55	0,41
Cardiac Index [l/min/m ²]	59	2,9 (2,4-3,2)	2,5 (2,3-3,7)	2,8 (2,5-3)	0,78
NYHA-Klasse	64				0,28
NYHA I		60	53,9	42,9	
NYHA II		10	23,1	33,4	
NYHA III		10	0	14,3	
Kortisonstoß.1 [%]	37	0	0	0	
Kortisonstoß.2 [%]	62	6,5	14,3	11,8	0,67
Abstoßung.1 [% ISHLT ≥ 1]	68	45,2	62,5	42,9	0,44
Abstoßung.2 [% ISHLT ≥ 1]	68	21,2	31,3	26,3	0,74
Medikation					
Tacrolimus [%]	70	93,9	100	100	0,315
MMF [%]	70	75,8	87,5	85,7	0,51
Everolimus [%]	70	21,2	6,3	14,3	0,4
Prednisolon [%]	70	97	93,8	95,2	0,87
ACE-Inhibitor [%]	70	27,3	12,5	33,3	0,34
Betablocker [%]	70	24,2	18,8	47,6	0,1
Calciumkanal-blocker [%]	70	27,3	31,3	42,9	0,49

Variable	n	Non-DM	Prädiabetes	T2DM	p
		n = 33	n = 16	n = 21	
		Median (IQR) / %	Median (IQR) / %	Median (IQR) / %	
Diuretikum [%]	70	51,5	75	71,4	0,18
Statin [%]	70	87,9	100	90,5	0,36
ASS [%]	70	97	87,5	95,2	0,4
Insulin.1 [%]	70	0	0	71,4	<0,01
Insulin.2 [%]	70	0	0	71,4	<0,01
Metformin.1 [%]	70	0	0	28,6	<0,01
Metformin.2 [%]	70	0	0	38,1	<0,01
Klinische Chemie					
hsTropT [µg/l]	40	34 (16-68)	59 (32-69)	65 (33-90)	0,30
NT-proBNP [pg/ml]	59	908 (324-2275)	1108 (684-2355)	2196 (801-6132)	0,07
Hämoglobin [g/dl]	67	12,1 (10,4-13,4)	11,7 (10,6-13)	11,7 (9,9-12,9)	0,92
Kreatinin [mg/dl]	69	1,1 (0,9-1,7)	1,2 (1-1,4)	1,5 (1,1-1,6)	0,47
Cystatin C [ml/l]	69	1,6 (1,3-2,2)	1,7 (1,4-2)	1,7 (1,3-2,2)	0,96
CRP [mg/dl]	69	0,3 (0,1-0,8)	0,2 (0,1-1,1)	0,4 (0,1-1,4)	0,68
LDL Cholesterin [mg/dl]	69	89 (78-113)	111 (88-122)	90 (66-108)	0,22
Blutzucker.1 [mg/dl]	68	79 (68-94)	93 (80-100)	113 (96-145)	<0,01
Blutzucker.2 [mg/dl]	68	83 (78-95)	103 (93-119)	133 (108-158)	<0,01
HbA1c.1 [%]	68	5,5 (5,1-5,7)	5,5 (5,2-6)	7,2 (6-7,5)	<0,01
HbA1c.2 [%]	70	5,7 (5,6-6)	6 (5,8-6,4)	7,8 (6,6-8,4)	<0,01
FFA [µmol/l]	69	590 (340-878)	555 (331-1059)	787 (424-1271)	0,17

Kruskal-Wallis Test (Median und IQR) und Chi-Quadrat Test (%). Wo nicht anders angegeben handelt es sich um Werte für den ersten Zeitpunkt. Bei zwei Angaben beschreibt .1 den ersten und .2 den zweiten Zeitpunkt. Non-DM: n = 33; Prädiabetes: n = 16; T2DM: n = 21.

T2DM = Typ 2 Diabetes Mellitus, IQR = *Interquartilrange*, HTX = Herztransplantation, ICM = Ischämische Herzerkrankung, DCM = Dilatative Kardiomyopathie, CKD V = *chronic kidney disease* Stadium V, LV-EF = Linksventrikuläre Ejektionsfraktion, NYHA = *New York Heart Association*, ISHLT = *International Society for Heart and Lung Transplantation*, MMF = Mycophenolat-Mofetil, ACE = *Angiotensin Converting Enzyme*, HsTropT = hochsensitives Troponin T, NT-proBNP = N-terminales *pro brain natriuretic peptide*, CRP = C-reaktives Protein, LDL = *Low Density Lipoprotein*, HbA1c = Hämoglobin A1c, FFA = *Free Fatty Acids*.

3.1.2.2 Entwicklung der mitochondrialen Respiration in messwiederholten Varianzanalysen

In der messwiederholten gemischten Varianzanalyse ergab sich kein statistisch signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen bezüglich der Höhe der mitochondrialen Respiration ($F(2, 67) = 2,84, p = 0,065$). In keiner der drei Gruppen kam es im zeitlichen Verlauf zu einer statistisch signifikanten Änderung der Respiration (Abb. 11). Der Haupteffekt für Zeit war nicht signifikant (Wilks-Lambda = 0,998, $F(1, 67) = 0,137, p = 0,713$). Der Interaktionseffekt von Zeit und Diabetes-Status blieb ebenfalls nicht signifikant (Wilks-Lambda = 0,979, $F(2, 67) = 0,73, p = 0,486$).

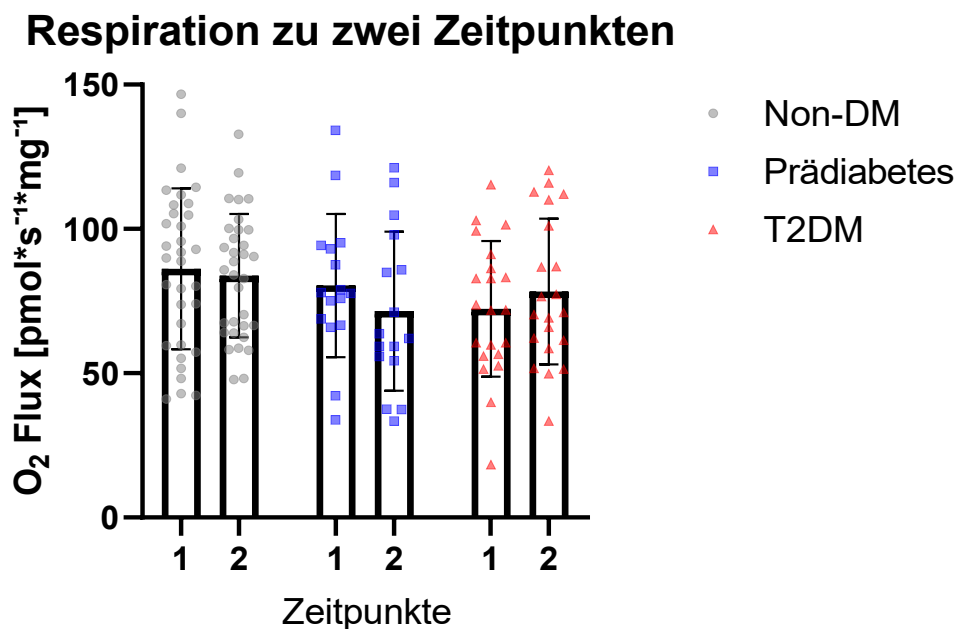


Abb. 11: Respiration für die Substratkombination MO_{ADP} getrennt nach Diabetes-Status zu zwei Zeitpunkten

O_2 Flux [$pmol \cdot s^{-1} \cdot mg^{-1}$] auf Basis der Substratkombination MO_{ADP} für die Gruppen Non-DM ($n = 33$), Prädiabetes ($n = 16$) und T2DM ($n = 21$) für zwei Zeitpunkte (1 und 2). Es ergab sich keine signifikante Interaktion zwischen Diabetes-Status und Zeit, $p = 0,49$. Gemischte Varianzanalyse, Mittelwert $\pm$ Standardabweichung.

M = Malat, O = Octanoylcarnitin, ADP = Adenosindiphosphat, T2DM = Typ 2 Diabetes Mellitus.

3.2 Hypothese 2 - myokardiale Funktion

Eine verringerte mitochondriale OXPHOS-Kapazität ist assoziiert mit verringerter myokardialer Funktion.

Um zu prüfen, ob die Höhe der mitochondrialen Respiration mit der myokardialen Funktion assoziiert ist, wurden Korrelationsanalysen zwischen der mitochondrialen Respiration auf Basis der Substratkombination MO_{ADP} und kardialen Funktions- und Laborparametern durchgeführt (Tabelle 20). Grundlage war die Datenauswahl für einen Messzeitpunkt (Abb. 7, Tabelle 13). Zwischen MO_{ADP} und *Cardiac Index*, Herzzeitvolumen, NYHA-Stadium, hochsensitivem Troponin T und NT-proBNP ergaben sich keine signifikanten Korrelationen.

Tabelle 20

Korrelationsanalyse zwischen der Respiration und verschiedenen kardialen Funktionsparametern

	MO_{ADP}	EF	CI	HZV	NYHA	hsTroponin T	NT-proBNP
<i>n</i>	102	39	89	84	98	52	92
<i>r</i>	-	0,328	0,045	0,004	0,095	-0,212	0,01
<i>p</i>	-	0,041	0,674	0,973	0,351	0,132	0,925

Korrelation zwischen der mitochondrialen Respiration für die Substratkombination MO_{ADP} und verschiedenen kardialen Funktionsparametern.

M = Malat, O = Octanoylcarnitin, ADP = Adenosindiphosphat, EF = linksventrikuläre Ejektionsfraktion, CI = *Cardiac Index*, HZV = Herzzeitvolumen, NYHA = *New York Heart Association* Klasse, hsTroponin T = hochsensitives Troponin T, NT-proBNP = N-terminales pro *Brain Natriuretic Peptide*. Zwei Ausreißer bei hsTroponin T ausgeschlossen.

Eine Korrelationsanalyse von MO_{ADP} und der linksventrikulären Ejektionsfraktion ergab eine signifikante Korrelation ($r = 0,328$, $p = 0,041$). Eine niedrigere mitochondriale Respiration war somit mit einer niedrigeren LV-EF assoziiert (Abb. 12).

Assoziation von Respiration und LV-EF

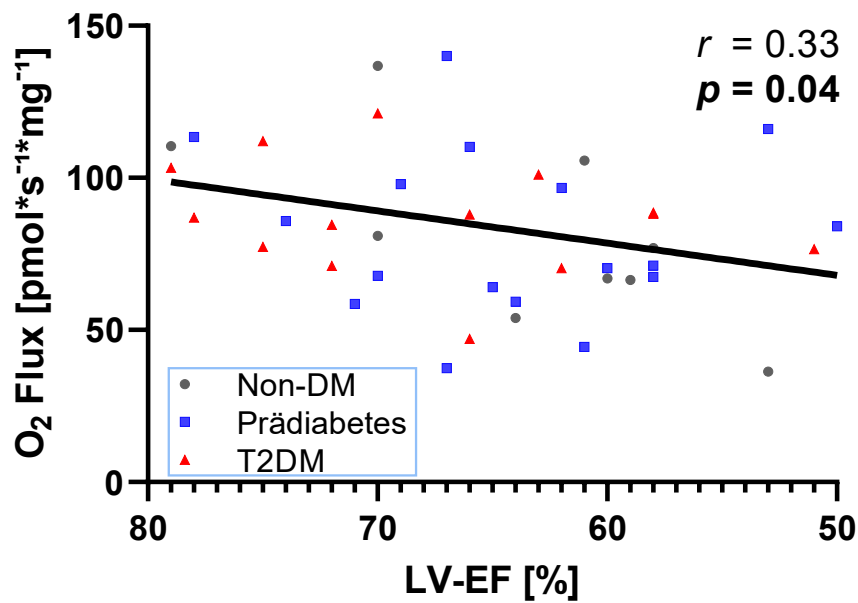


Abb. 12: Korrelation von Mitochondrienfunktion und linksventrikulärer Ejektionsfraktion

O₂ Flux [pmol*s⁻¹*mg⁻¹] für die Substratkombination MO_{ADP} und linksventrikuläre Ejektionsfraktion [%]. Lineare Korrelation mit linearer Regressionslinie, $n = 39$, $p = 0,04$.

LV-EF = Linksventrikuläre Ejektionsfraktion, T2DM = Typ 2 Diabetes Mellitus, M = Malat, O = Octanoylcarnitin, ADP = Adenosindiphosphat.

3.3 Hypothese 3 - Prognose

Eine verringerte mitochondriale OXPHOS-Kapazität in HTX-Empfängern beeinflusst Mortalität, Hospitalisierungen und Abstoßungs-Episoden.

3.3.1 Follow-Up und Datenauswahl

Die Überlebens-Analysen beruhten auf Daten von 101 Patienten. Die *Follow-Up*-Zeit betrug 52 ± 31 Monate (MW $\pm$ SD). Zum Ende des Beobachtungszeitraumes lagen von 98% der Patienten Informationen zum Überleben vor, darunter kam es zu 21 Todesfällen. Zwei Patienten waren seit über einem Jahr nicht mehr vorstellig und telefonisch nicht zu erreichen und galten somit als „*lost-to-follow-up*“.

Von vielen der Patienten lagen über den Beobachtungszeitraum Respirometriedaten zu mehreren Zeitpunkten nach HTX vor. Da die mitochondriale Respiration aber nicht nur durch Einflussfaktoren im langfristigen Verlauf (wie T2DM) beeinflusst sein kann, sondern auch akut und reversibel am jeweiligen Untersuchungszeitpunkt verringert sein kann (beispielsweise durch Abstoßungsreaktionen), wurde, sofern ein Patient über Respirometriedaten zu mehreren Messzeitpunkten verfügte, der Mittelwert aller verfügbaren Messungen verwendet. Dafür wurde die Respirometrie auf Basis der Substratkombination MO_{ADP} genutzt. Anschließend wurden die Patienten am Median in eine Gruppe mit höherer und eine Gruppe mit niedrigerer Respiration geteilt.

3.3.2 Mitochondriale Respiration und Überleben

Eine Kaplan-Meier-Analyse ergab keinen signifikanten Unterschied im Überleben zwischen der Gruppe mit im Mittel niedrigerer Respiration und der Gruppe mit im Mittel höherer Respiration ($p = 0,381$) (Abb. 13). In der graphischen Darstellung war eine Trennung der Überlebenskurven ab etwa 50 Monate nach HTX mit einem statistisch nicht signifikanten Überlebensnachteil für die Gruppe mit niedrigerer Respiration zu erkennen.

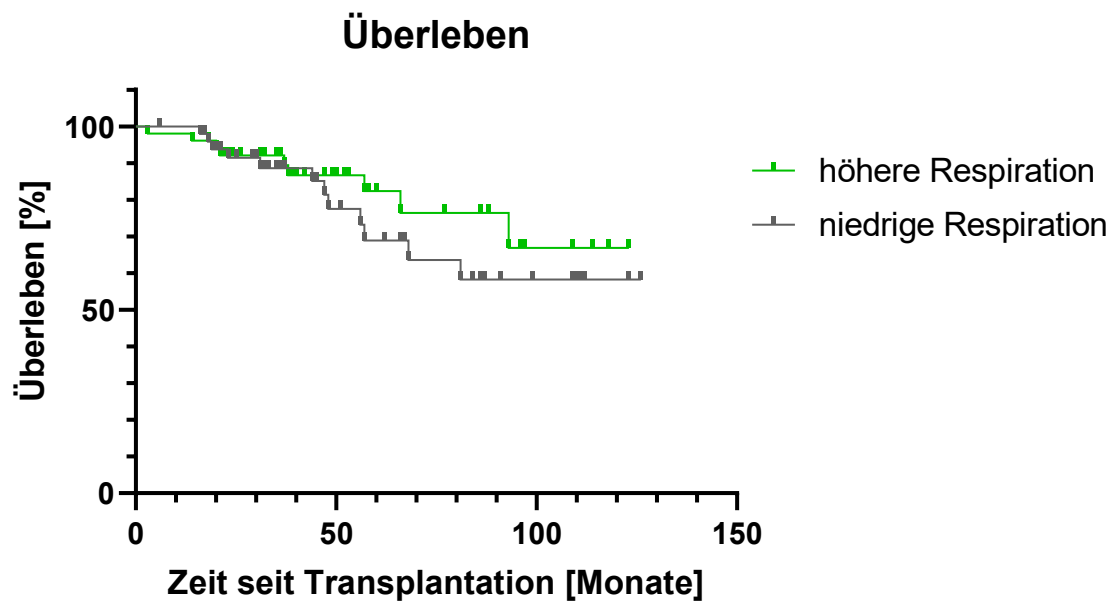


Abb. 13: Überleben nach Herztransplantation abhängig von der Höhe der Respiration

Überleben [%] in Abhängigkeit von der Zeit seit Herztransplantation [Monate] und der mitochondrialen Respiration. Mittelwert der Respiration von allen verwertbaren Messungen der Substratkombination MO_{ADP} (Malat + Octanoylcarnitin + Adenosindiphosphat) pro Patient, geteilt am Median. Höhere Respiration: $n = 51$, niedrige Respiration: $n = 50$, $p = 0,381$. Kaplan-Meier-Analyse mit Log-Rank-Test.

Da die Kaplan-Meier-Analyse die Höhe der Respiration nur als dichotome Variable berücksichtigt, wurde zusätzlich eine univariate Cox-Regression durchgeführt. Dabei ergab sich für die Substratkombination MO_{ADP} , wie auch für andere Substratkombinationen, kein signifikanter Zusammenhang von mitochondrialer Respiration und Überleben nach HTX (Tabelle 21).

Tabelle 21

Überleben nach HTX mit der mittleren Respiration für verschiedene Substratkombinationen als Prädiktor

Variable	Exp (B)	95% Konfidenzintervall	p
MO_{ADP} [MW]	0,99	[0,97, 1,01]	0,383
MO_{GADP} [MW]	0,995	[0,98, 1,01]	0,535
MO_{GSADP} [MW]	0,997	[0,99, 1,01]	0,55
$MO_{GS_{Fccp}}$ [MW]	0,998	[0,99, 1,01]	0,686

Prüfung des Einflusses der mitochondrialen Respiration in verschiedenen Substratkombinationen auf das Überleben nach Herztransplantation mittels univariater Cox-Regression.

M = Malat, O = Octanoylcarnitin, ADP = Adenosindiphosphat, G = Glutamat, S = Succinat, Fccp = Carbonyl-Cyanid-4-(trifluoro-ethoxy)phenylhydrazon, Exp (B) = *Hazard Ratio*. Pro Patient ist der Mittelwert [MW] aller für diese Substratkombination vorhandenen Messungen genutzt worden.

3.3.3 Mitochondriale Respiration und Hospitalisationen

Eine weitere Kaplan-Meier-Analyse ergab keinen statistisch signifikanten Unterschied zwischen den Gruppen bezüglich des hospitalisationsfreien Überlebens (Abb. 14). Die Hospitalisation wurde hierbei definiert als jede nicht elektive internistische Hospitalisation.

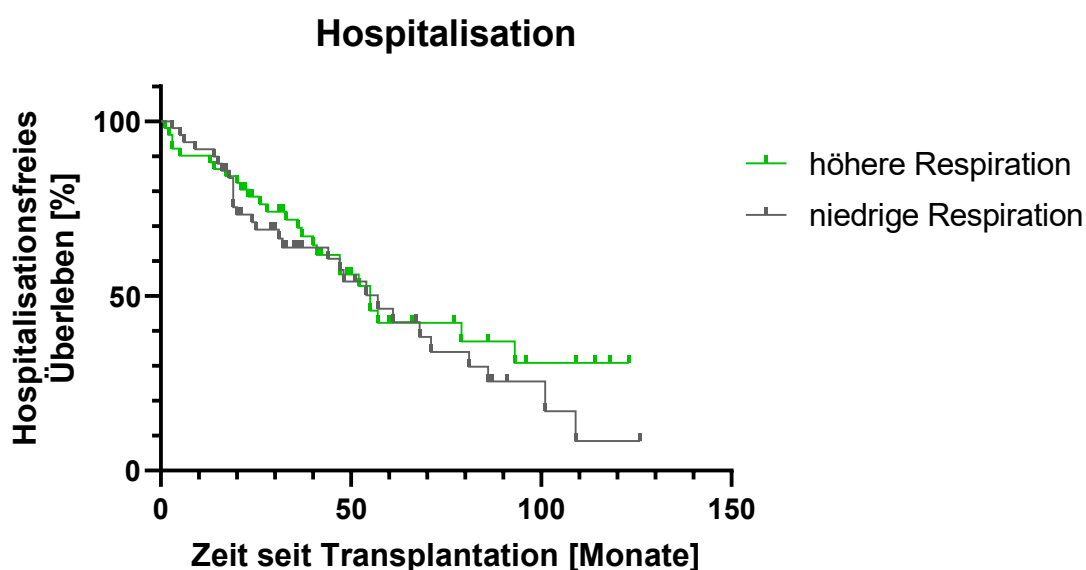


Abb. 14: Hospitalisationsfreies Überleben nach Herztransplantation abhängig von der Höhe der Respiration

Hospitalisationsfreies Überleben [%] in Abhängigkeit von der Zeit seit Herztransplantation [Monate] und der mitochondrialen Respiration. Die Hospitalisation ist definiert als jede nicht-elektive internistische Hospitalisation, unabhängig von der Ursache. Mittelwert der Respiration von allen verwertbaren Messungen der Substratkombination MO_{ADP} (Malat + Octanoylcarnitin + Adenosindiphosphat) pro Patient, geteilt am Median. Höhere Respiration: $n = 51$, niedrige Respiration: $n = 50$, $p = 0,418$. Kaplan-Meier-Analyse mit Log-Rank-Test.

In einer Wiederholung dieser Analyse wurde die Hospitalisation als Aufnahme auf einer *Intermediate-Care*- oder Intensivstation definiert. Hierbei ergab sich im Vergleich zu Abb. 14 ein deskriptiv stärkerer Nachteil im Überleben für die Gruppe mit niedrigerer Respiration, allerdings blieb der Unterschied statistisch nicht signifikant ($p = 0,205$) (Abb. 15).

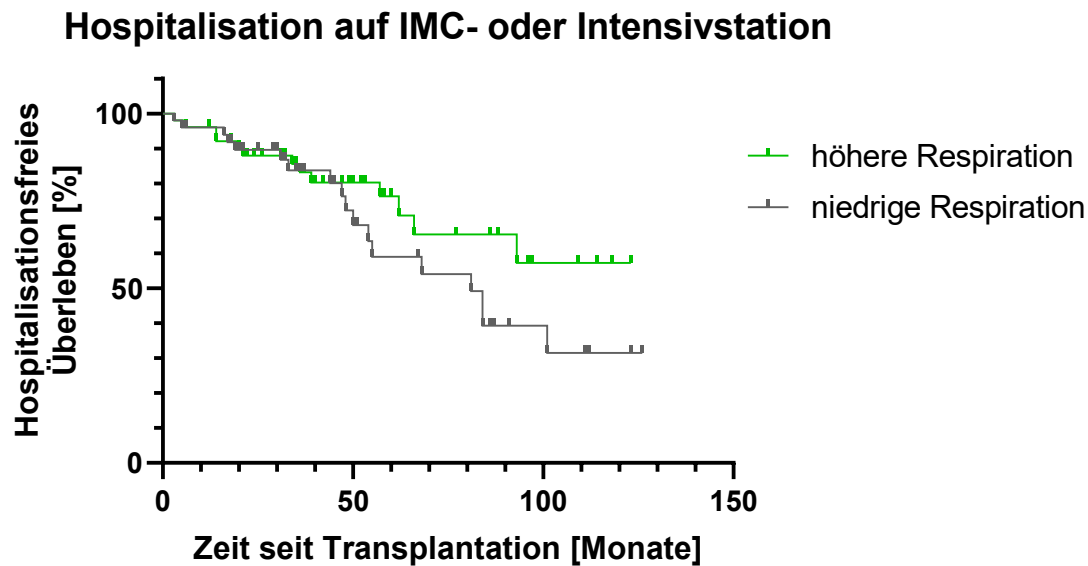


Abb. 15: Überleben nach Herztransplantation frei von Hospitalisation auf einer IMC- oder Intensivstation abhängig von der Höhe der Respiration

Hospitalisationsfreies Überleben [%] in Abhängigkeit von der Zeit seit Herztransplantation [Monate] und der mitochondrialen Respiration. Kombiniertes Endpunkt Tod und Hospitalisation auf Intensiv- oder Intermediate-Care (IMC) Station. Mittelwert der Respiration von allen verwertbaren Messungen der Substratkombination MO_{ADP} (Malat + Octanoylcarnitin + Adenosindiphosphat) pro Patient, geteilt am Median. Höhere Respiration: $n = 51$, niedrige Respiration: $n = 50$, $p = 0,205$. Kaplan-Meier-Analyse mit Log-Rank-Test.

3.3.4 Mitochondriale Respiration und Abstoßungsepisoden

Zur Analyse des Zusammenhangs des Auftretens von Abstoßungsepisoden und der mittleren Höhe der Respiration, wurden die Abstoßungsepisoden definiert als höhergradige Abstoßung IHSLT Grad 2 oder Grad 3. Bei 16 Patienten trat eine höhergradige Abstoßungsreaktion auf, zwölf der Abstoßungsreaktionen ereigneten sich im ersten Jahr nach HTX. Abb. 16 zeigt den Vergleich der Respirations-Gruppen bezogen auf das abstoßungsfreie Überleben mittels Kaplan-Meier-Analyse, dabei ergaben sich keine signifikanten Unterschiede ($p = 0,64$).

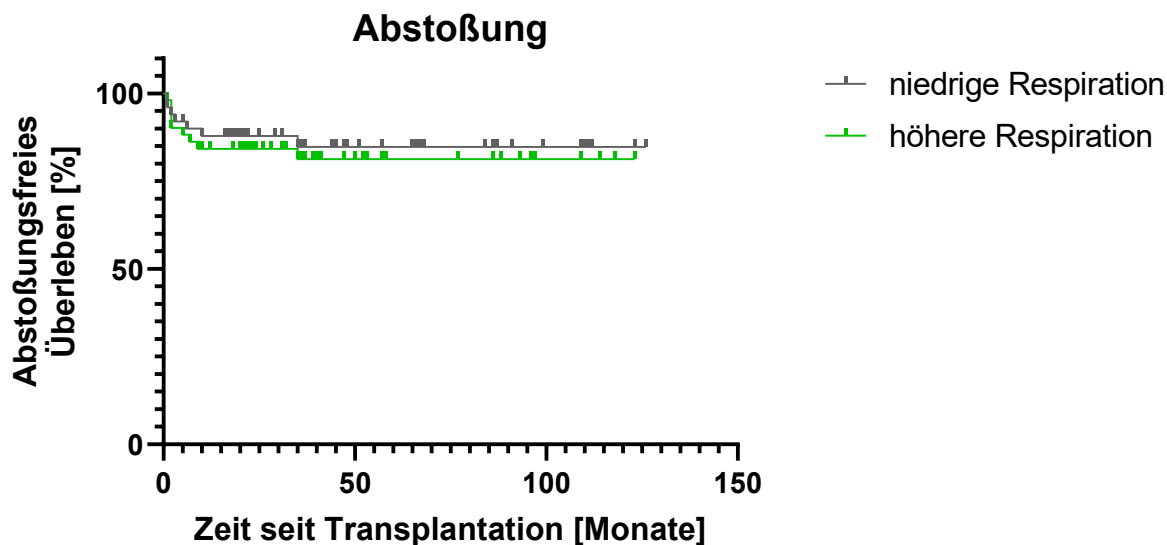


Abb. 16: Abstoßungsfreies Überleben nach Herztransplantation abhängig von der Höhe der Respiration

Abstoßungsfreies Überleben [%] in Abhängigkeit von der Zeit seit Herztransplantation [Monate] und der mitochondrialen Respiration. Die Abstoßung ist definiert als ISHLT Grad 2 oder 3. Mittelwert der Respiration von allen verwertbaren Messungen der Substratkombination MO_{ADP} (Malat + Octanoylcarnitin + Adenosindiphosphat) pro Patient, geteilt am Median. Höhere Respiration: $n = 51$, niedrige Respiration: $n = 50$, $p = 0,64$. Kaplan-Meier-Analyse mit Log-Rank-Test.

3.3.5 Diabetes Mellitus und Überleben

T2DM stellte in der vorliegenden Stichprobe in einer Kaplan-Meier-Analyse einen signifikanten Nachteil für das Überleben nach HTX dar ($p = 0,043$) (Abb. 17). In der T2DM-Gruppe kam es zu 13 Todesfällen und in der Non-DM-Gruppe zu acht Todesfällen. Zu beachten ist, dass aufgrund niedriger Eventzahlen hierbei die Prädiabetes-Gruppe in die Non-DM Gruppe inkludiert wurde.

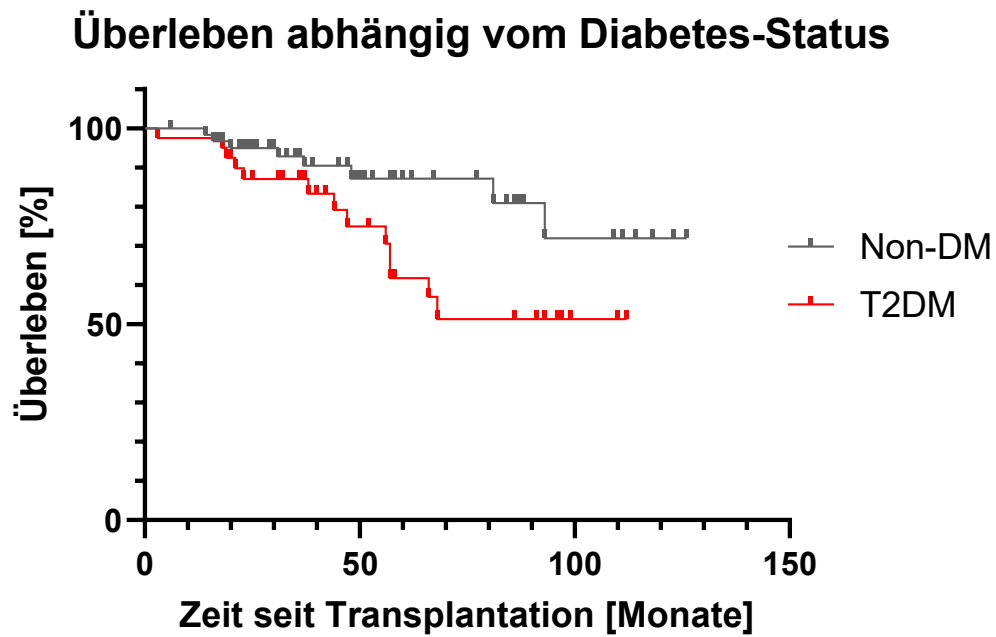


Abb. 17: Überleben nach Herztransplantation abhängig vom Diabetes-Status

Überleben [%] in Abhängigkeit von der Zeit seit Herztransplantation [Monate] und dem Diabetes-Status. Non-DM: $n = 61$, T2DM: $n = 40$. Kaplan-Meier-Analyse mit Log-Rank-Test, $p = 0,043$. T2DM = Typ 2 Diabetes Mellitus.

4 Diskussion

In der vorliegenden Studie wurden erstmals Analysen zum Einfluss der Zeit seit HTX auf die mitochondriale Respiration und zum Einfluss der mitochondrialen Respiration auf die Prognose der Patienten durchgeführt.

Aus den geschilderten Daten ergeben sich folgende Rückschlüsse auf die Hypothesen:

- 1) Eine fortgeschrittene Zeit seit HTX ist in Patienten mit T2DM mit niedriger mitochondrialer Respiration assoziiert, jedoch ließ sich keine statistisch signifikante Verschlechterung der mitochondrialen Respiration zwischen zwei Messungen nachweisen.
- 2) Eine niedrige mitochondriale Respiration ist in der vorliegenden Kohorte mit einer niedrigen LV-EF assoziiert.
- 3) Die mitochondriale Respiration hat keinen statistisch signifikanten Einfluss auf Mortalität, Hospitalisationen und Abstoßungsreaktionen nach HTX.

4.1 Klinische Charakteristika der HTX-Empfänger

Die eingeschlossenen Patienten waren zum Untersuchungszeitpunkt im Mittel 60 Jahre alt und zu 82,4% männlichen Geschlechts. Weltweit liegt das mediane Alter von HTX-Empfängern bei 55 Jahren, wobei über die vergangenen Jahrzehnte eine Tendenz zu einem steigenden Empfänger-Alter festgestellt wurde (Khush et al. 2019). Der Anteil an männlichen Empfängern liegt im internationalen Vergleich zwischen 70 und 80% (Khush et al. 2019). Somit entsprach unsere Kohorte, in der eine mediane Zeit seit HTX von 19 Monaten vorlag, im Allgemeinen einer typischen Kohorte herztransplanterter Patienten.

Wir stellten in unserer Kohorte eine Prävalenz von Diabetes Mellitus von 39,2% fest. Diese übertrifft den in der Literatur beschriebenen Anteil von Patienten mit Diabetes Mellitus, der fünf Jahre nach HTX auf etwa ein Drittel der Patienten geschätzt wird (Khush et al. 2019). Hierbei ist die Differenzierung zwischen Patienten, die bereits vor Transplantation an T2DM litten, von Patienten, die nach Transplantation einen Diabetes Mellitus (NODAT) entwickelten, herausfordernd. In nur wenigen Publikationen wird dies berücksichtigt und auch in der vorliegenden Studie ist die Unterscheidung nicht abschließend möglich. Bedingt durch die Kurzfristigkeit von Transplantationseingriffen und die überregionale Zuweisung von

Patienten zum Transplantationszentrum, war es nicht möglich von allen Patienten vor Transplantation Blutproben zu entnehmen. Eine Studie an 336 HTX-Empfängern stellte nach Ausschluss von Patienten mit T2DM eine Prävalenz von NODAT von 32% fest (Zielińska et al. 2020). In unserer Kohorte lag die Prävalenz von NODAT nach Ausschluss von Patienten mit vor Transplantation gesichertem T2DM bei 34%, wurde aber gegebenenfalls geringfügig überschätzt, da von einigen Patienten erst nach Transplantation entsprechende Laboruntersuchungen durchgeführt werden konnten, obwohl die Diagnosekriterien möglicherweise schon präoperativ erfüllt gewesen wären. Dennoch haben wir für die Prüfung unserer Hypothesen angenommen, dass der Zeitraum der Diabetes-Exposition der Zeit seit Transplantation entspricht, da NODAT in der Regel bereits kurz nach der Transplantation entsteht (Montori et al. 2002). Daher, und auch aufgrund der schwierigen retrospektiven Unterscheidung von T2DM und NODAT, ist in unseren statistischen Analysen keine Unterscheidung von T2DM und NODAT erfolgt.

Zur Prüfung der Frage, ob die Entwicklung der mitochondrialen Respiration abhängig vom Diabetes-Status ist, wurden die Patienten in die Gruppen Non-DM, Prädiabetes und T2DM eingeteilt. Dabei wurde in der Ein-Zeitpunkt-Analyse pro Patient der aktuellste verfügbare Datensatz untersucht (Tabelle 13). Die T2DM-Gruppe wies einen signifikant höheren BMI als die Non-DM-Gruppe auf, während der BMI der Prädiabetes-Gruppe dazwischen lag. Dies entsprach der Erwartung, da Patienten mit T2DM häufiger als Patienten ohne DM von Übergewicht betroffen sind (American Diabetes Association 2019). In Konsequenz des Größen- und Gewichtsmatchings bei der Zuteilung von Spenderherzen, wies die T2DM-Gruppe auch den höchsten Donor-BMI auf. Auch der Anteil an Patienten mit einer Anamnese von ischämischer Herzerkrankung und arterieller Hypertonie war in der T2DM-Gruppe im Vergleich zur Non-DM-Gruppe signifikant erhöht und entsprach somit ebenfalls dem Risikoprofil von Patienten mit Typ 2 Diabetes Mellitus (International Diabetes Federation 2021). Die Unterschiede zwischen den Gruppen bezüglich Insulin- und Metformineinnahme, Blutzucker und HbA1c lassen sich auf die Gruppendifinition gemäß der Kriterien der *American Diabetes Association* zurückführen (American Diabetes Association 2019). Des Weiteren nahmen Patienten der Gruppen Prädiabetes und T2DM häufiger Statine ein als Patienten der Non-DM-Gruppe.

Die Gruppen unterschieden sich in der ersten Datenauswahl (Tabelle 13) statistisch signifikant bezüglich des hsTropT, wobei die Non-DM-Gruppe höhere hsTropT-Werte als die

anderen Gruppen aufwies. Eine denkbare Ursache ist eine Interaktion des hsTropT mit dem Abstoßungsstatus, da die Non-DM-Gruppe anteilig auch die meisten Patienten mit einer Abstoßung ISHLT 1 aufwies. Die Publikationen zur Assoziation von hsTropT und dem Abstoßungsstatus sind widersprüchlich. In einigen Studien wiesen Patienten mit höherem ISHLT-Grad trendweise höhere Troponin-Werte auf, aber das statistische Signifikanzniveau wurde nicht immer erreicht (Scheiber et al. 2021; Imran et al. 2019; Boeken et al. 2016). In dieser Analyse lagen nur von 54 der 102 eingeschlossenen Patienten Daten zum hsTropT vor, sodass außerdem in Betracht zu ziehen ist, dass der mögliche Interaktionseffekt hier gegebenenfalls übersteigert dargestellt wird. In der zweiten Datenauswahl mit zwei Messzeitpunkten pro Patient ließ sich kein Unterschied bezüglich des hsTropT nachweisen.

Der Anteil an Patienten mit schwerer Niereninsuffizienz (CKD 5) war in der Prädiabetes-Gruppe signifikant niedriger als in den anderen Gruppen. Da Diabetes Mellitus einen Risikofaktor für chronische Niereninsuffizienz darstellt, wäre der höchste Anteil von Patienten mit CKD5 in der T2DM-Gruppe und der niedrigste in der Non-DM-Gruppe zu erwarten gewesen (International Diabetes Federation 2021). Aufgrund insgesamt geringer Fallzahlen muss hierbei aber auch ein rein zufälliger Unterschied in Betracht gezogen werden.

4.2 Hypothese 1 – mitochondriale Respiration im zeitlichen Verlauf nach HTX

4.2.1 Fortgeschrittene Zeit seit Transplantation ist bei Patienten mit T2DM mit niedriger mitochondrialer Respiration assoziiert

Verschiedene Studien haben bereits zeigen können, dass T2DM mit einer verringerten myokardialen mitochondrialen Funktion assoziiert ist (Zweck et al. 2021; Anderson et al. 2009). In den meisten Studiendesigns blieb die Frage nach der zeitlichen Dynamik dieser verringerten mitochondrialen Funktion ungeklärt, da nur Daten zu einem Zeitpunkt vorlagen. Auch aus Tierversuchen liegen keine Daten zu longitudinalen Untersuchungen der Mitochondrienfunktion vor. Flamment et al. (2012) näherten sich einer longitudinalen Untersuchung an, indem sie mehreren Untersuchungsgruppen von Ratten über verschiedene Zeiträume eine fettreiche Diät verabreichten, bevor sie deren hepatische Mitochondrienfunktion untersuchten. Dabei stellten sie in Ratten, die über zwei bzw. vier Wochen die Diät erhielten, keine Veränderungen der mitochondrialen Respiration fest. Ratten, die acht Wochen die Diät erhielten, wiesen eine verminderte mitochondriale

Respiration auf (Flamment et al. 2012). Eine longitudinale Studie an herztransplantierten Patienten führten Marfella et al. (2020) durch. Sie untersuchten wiederholt durch Biopsien gewonnenes Myokardgewebe und wiesen eine progrediente Lipidakkumulation in HTX-Empfängern mit T2DM nach, während es unter HTX-Empfängern ohne T2DM nicht zur Lipidakkumulation kam (Marfella et al. 2020).

Ein zunehmender zeitlicher Abstand zur HTX war in der vorliegenden Studie nur in Patienten mit T2DM, nicht aber bei euglykämien Patienten, mit einer niedrigen mitochondrialen Respiration assoziiert. Diese Beobachtung könnte darauf hinweisen, dass eine längere T2DM-Erkrankungsdauer mit einer progredienten Verschlechterung der mitochondrialen Respiration assoziiert sein kann. Insgesamt unterstützen unsere Ergebnisse die von Flamment et al. (2012) und Marfella et al. (2020), die ebenfalls Hinweise auf eine progrediente Beeinträchtigung der mitochondrialen Respiration beziehungsweise des mitochondrialen Stoffwechsels fanden.

4.2.2 Limitationen

Denkbar ist nicht nur eine Assoziation der T2DM-Erkrankungsdauer mit der mitochondrialen Respiration, sondern auch ein kausaler Zusammenhang mit zunehmender Beeinträchtigung der mitochondrialen Respiration aufgrund Diabetes-assoziiierter Pathologien wie beispielsweise chronischer Hyperglykämie. Der Beweis einer Kausalität ist anhand der vorliegenden Daten nicht möglich und sollte Gegenstand weiterer Forschung sein.

Die Aussagekraft der obigen Ergebnisse ist insbesondere durch die relativ geringe Stichprobe begrenzt. Bedingt durch die niedrige Anzahl an transplantierten Herzen weltweit, werden Studien an herztransplantierten Patienten oft an relativ kleinen Kohorten durchgeführt. Die aus den Ergebnissen der moderierten Regression zu vermutende Verschlechterung der mitochondrialen Respiration in Patienten mit T2DM, konnten wir in Zwei-Zeitpunkt-Analysen nicht abschließend bestätigen, da wir in messwiederholten Analysen keine statistisch signifikante Änderung nachweisen konnten. Während für die Regressionsanalysen mit einem Messzeitpunkt und 102 eingeschlossenen Patienten von einer ausreichenden Aussagekraft ausgegangen werden kann, gestalteten sich insbesondere die messwiederholten Analysen erschwert. Die Patienten mussten nicht nur mindestens zwei Mal vorstellig gewesen sein, sondern durch notwendige Ausschlusskriterien wie höhergradige Abstoßungsreaktionen oder Fehlmessungen wurde die Anzahl an Daten, die den gewünschten Zeitraum optimal

abbilden, weiter reduziert. In die messwiederholten Analysen konnten daher nur 72 Patienten eingeschlossen werden. Um eine möglichst große Zeitspanne zu untersuchen, wurde der erste und letzte verfügbare Datensatz jedes Patienten berücksichtigt. Durch Transplantationen, die vor Beginn der Datenerfassung dieser Studie stattfanden oder durch Transplantationen gegen Ende des Zeitraums der Datenerfassung, gestaltete sich allerdings die Zeit seit Transplantation und die tatsächlich beobachtete Zeitspanne individuell sehr unterschiedlich. Konventionelle statistische Methoden sind nicht in der Lage dieses Problem zu erfassen und behandeln die Zeit seit HTX lediglich als kategoriellen Faktor (Pallant 2016).

Zu beachten ist auch, dass die Einteilung der Gruppen anhand dynamischer Parameter erfolgte. Im Rahmen der immunsuppressiven Medikation nach HTX entwickeln viele Patienten eine Verschlechterung von Blutzuckerwerten bis hin zu einem Diabetes Mellitus (Kim et al. 2017). Konventionelle statistische Methoden sind ebenfalls nicht in der Lage die Dynamik dieser Gruppen-definierenden Kriterien zu berücksichtigen, was die Abgrenzbarkeit zwischen den Gruppen insbesondere bei messwiederholten Analysen herabsetzt. Möglicherweise wurde durch diese Faktoren die wirkliche Entwicklung der mitochondrialen Respiration in der vorliegenden Kohorte verschleiert.

4.3 Hypothese 2 – mitochondriale Respiration und kardiale Funktion

4.3.1 Niedrige mitochondriale Respiration ist mit niedriger LV-EF assoziiert

Wir konnten zeigen, dass die Höhe der mitochondrialen Respiration für die Substratkombination MO_{ADP} positiv mit der Höhe der linksventrikulären Ejektionsfraktion korreliert. Dies unterstützt die Ergebnisse anderer Studiengruppen, die ebenfalls eine Assoziation von Mitochondrienfunktion und Myokardfunktion nachwiesen. Montaigne et al. (2014) stellten in 141 atrialen Proben von Patienten, die eine koronare Bypass-Operation erhielten, eine positive Korrelation der Fettsäure gestützten Respiration und der Kontraktilität fest (Montaigne et al. 2014). Auch linksventrikuläres Myokardgewebe wies in einer Studie von Stride et al. (2013) bei verringerter linksventrikulärer Ejektionsfraktion eine geringere mitochondriale Respiration auf, sowohl in Fettsäure-basierten Protokollen als auch in Protokollen ohne Fettsäuren (Stride et al. 2013). Stride et al. (2013) untersuchten dafür 29 Patienten, denen während einer Herzklappen- oder LVAD-Operation Biopsien aus dem linken Ventrikel entnommen wurden und teilten diese Patienten in Gruppen mit einer LV-EF von

über bzw. unter 45% ein. Zu beachten ist hierbei aber das Fehlen einer gesunden Kontrollgruppe. Bedingt durch die intraoperative Probengewinnung, litten auch alle Patienten der Gruppe mit LV-EF > 45% an chronischen Herzerkrankungen. Eine gesunde Kontrollgruppe beinhaltete die Studie von Lemieux et al. (2011), die neben acht Patienten ohne chronische Herzinsuffizienz aber mit einer Indikation zu einem herzchirurgischen Eingriff (*heart-disease*-Gruppe) und drei Patienten mit chronischer Herzinsuffizienz, auch zwei linksatriale Proben gesunder Spenderherzen enthielt. Hier konnte bereits für die *heart-disease*-Gruppe eine signifikant geringere Respiration für Fettsäure- und Citratzyklussubstrate im Vergleich zur Kontrollgruppe gezeigt werden (Lemieux et al. 2011). Wie auch bei Stride et al. (2013) war die Respiration in der Gruppe mit chronischer Herzinsuffizienz geringer als in der *heart-disease*-Gruppe, der Unterschied erreichte bei Lemieux et al. (2011) aber keine statistische Signifikanz. Die Nutzung von HTX-Empfängern als Kontrollgruppe mit einer signifikant höheren mitochondrialen Respiration im Vergleich zu terminal herzinsuffizienten Patienten wurde von unserer Arbeitsgruppe bereits etabliert (Scheiber et al. 2019). In dieser Arbeit konnten wir erstmals nachweisen, dass die Assoziation von geringer mitochondrialer Respiration und geringer LV-EF bereits in einer Gruppe herztransplantierter Patienten mit ausschließlich normwertigen LV-EF-Werten nachweisbar ist.

4.3.2 Limitationen

Nicht zu jedem Zeitpunkt der Respirometrieanalyse lagen auch Daten zur linksventrikulären Ejektionsfraktion vor. Unter den 39 Patienten mit vollständigen Daten war es daher nicht sinnvoll genauere Subgruppenanalysen nach weiteren, möglicherweise die mitochondriale Respiration beeinflussenden, Faktoren wie dem Diabetes-Status oder dem Abstoßungs-Status durchzuführen.

Unklar bleibt die mögliche Assoziation von mitochondrialer Respiration und *Cardiac Index*. Während andere Untersuchungen eine positive Korrelation nahelegten (Scheiber et al. 2019), konnten wir dieses Ergebnis in der vorliegenden Arbeit nicht reproduzieren. Auch das Verhältnis anderer kardialer Funktionsparameter und mitochondrialer Respiration sollte Gegenstand weiterer Forschung sein. In der vorliegenden Stichprobe mit weitgehend normaler kardialer Funktion war keine Assoziation von HZV, NYHA-Status, hsTroponin T oder NT-pro-BNP mit der mitochondrialen Respiration nachweisbar, möglicherweise träte

eine solche aber unter kränkeren Patientengruppen eher zu Tage. So konnten beispielsweise Shirakawa et al. (2019) in herzinsuffizienten Patienten eine positive Korrelation von mitochondrialer Produktion reaktiver Sauerstoffspezies und BNP nachweisen (Shirakawa et al. 2019). Dies könnte ein Hinweis sein, dass auch in Kohorten wie der unseren bei Verschlechterung der myokardialen Funktion, eine Korrelation der mitochondrialen Respiration mit NT-pro-BNP auftreten könnte.

4.4 Hypothese 3 – mitochondriale Respiration und Prognose nach HTX

4.4.1 Die mitochondriale Respiration hat keinen statistisch signifikanten Einfluss auf das Auftreten unerwünschter Ereignisse nach HTX

In unseren Untersuchungen konnten wir die Hypothese eines Einflusses der mitochondrialen Respiration auf die Prognose von HTX-Empfängern nicht bestätigen. Wir konnten zeigen, dass in unserer Kohorte eine geringere mitochondriale Respiration mit einem Nachteil im Überleben und einem höheren Risiko für Hospitalisationen auf IMC- oder Intensivstationen assoziiert ist, diese Assoziation erreichte aber keine statistische Signifikanz. Bisher gibt es keine Studien, welche die mitochondriale Funktion als möglichen prognostischen Parameter bezüglich Mortalität oder Hospitalisation untersuchen.

Bekannt ist allerdings, dass ein hoher Plasmaspiegel von Acylcarnitinen in Patienten mit Herzinsuffizienz mit einer erhöhten Mortalität assoziiert ist (Ueland et al. 2013; Truby et al. 2021). Das zusätzliche Vorliegen eines Diabetes Mellitus steigert das Mortalitätsrisiko noch weiter (Truby et al. 2021). Als Ursache der Akkumulation zirkulierender langkettiger Acylcarnitine im Plasma vermuteten Truby et al. (2021) Störungen der mitochondrialen Betaoxidation. Die Autoren vermuteten als Quelle der zirkulierenden langkettigen Acylcarnitine den Herzmuskel, konnten eine Produktion im Skelettmuskel aber nicht ausschließen.

Unsere Ergebnisse unterstützen die Ergebnisse von Truby et al. (2021) und Ueland et al. (2013), die einen Zusammenhang erhöhter zirkulierender langkettiger Acylcarnitine, als Indikator eingeschränkter mitochondrialer Funktion, und schlechterer Prognose sahen. Durch die Untersuchung von Myokardgewebe konnten wir außerdem einen Hinweis darauf finden, dass die Störung der mitochondrialen Funktion tatsächlich, wie von Truby et al. (2021) vermutet, im Herzmuskel lokalisiert ist.

4.4.2 Limitationen

Die von uns dargestellten Ergebnisse können nur einen Hinweis darauf geben, dass die mitochondriale Respiration möglicherweise mit dem *Outcome* assoziiert ist, können dies aber nicht beweisen. Dennoch unterstützen unsere Ergebnisse den aktuellen Forschungsstand und unterstützen Bemühungen, die prognostische Wertigkeit der mitochondrialen Respiration in weiteren Studien genauer zu charakterisieren.

Zu möglichen Faktoren, die den Nachweis der mitochondrialen Respiration als prognostischen Faktor in unserer Studie erschwert haben, gehören der Beobachtungszeitraum und die damit einhergehende Anzahl unerwünschter Ereignisse. Die Beobachtungszeit nach HTX lag bei 52 ± 31 Monate (MW $\pm$ SD). In diesem Zeitraum kam es zu 21 Todesfällen. Unter der Annahme, dass das Risiko unerwünschter Ereignisse durch eine chronische und nicht durch eine akute Verringerung der mitochondrialen Respiration bedingt ist, könnte ein verlängerter Beobachtungszeitraum den Effekt gegebenenfalls genauer darstellen.

Eine der Herausforderungen in Analysen von nicht elektiven Hospitalisationen ist die niedrighschwellige Indikationsstellung zur Hospitalisation in dieser immunsupprimierten Patientengruppe und die Beurteilung, ob es sich um eine klinisch relevante Hospitalisation handelte. In einer Wiederholung der Analyse berücksichtigten wir daher nur Hospitalisationen auf IMC- oder Intensivstationen. In der Kaplan-Meier-Darstellung zeigte sich dabei eine stärkere Trennung der Kurven mit mehr Hospitalisationen in der Gruppe mit niedrigerer Respiration, der Unterschied erreichte aber nicht das Signifikanzniveau (Abb. 15).

Außerdem ist zu beachten, dass die Daten anamnestisch aus Patientengesprächen und aus der elektronischen Patientenakte erfasst wurden. Möglich ist also eine geringfügige Unterschätzung der Anzahl von Hospitalisationen, falls sich Patienten nicht mehr adäquat an Art und Datum einer nicht-elektiven Hospitalisation in einem externen Krankenhaus erinnern konnten. Dennoch war das *Follow-Up* weitgehend vollständig, lediglich zwei Patienten galten als „*lost-to-follow-up*“, da sie nicht mehr kontaktierbar waren.

4.5 T2DM ist mit einem Überlebensnachteil nach HTX assoziiert

Der Einfluss von Diabetes Mellitus auf die Mortalität nach HTX ist bisher nicht systematisch untersucht. Dies begründet sich, neben der mangelnden Datenlage durch die relativ geringe Anzahl herztransplantierte Patienten, auch auf die nicht immer einheitliche Definition und Diagnostik von Diabetes. Nach 5 Jahren leidet etwa ein Drittel der Empfänger an Diabetes Mellitus (Khush et al. 2019). Nur wenige Studien führen postoperativ ein strukturiertes Screening für Diabetes Mellitus durch, was die Diagnostik von NODAT erschwert und dazu führen kann, dass die Prävalenz unterschätzt wird und diese Patienten in Überlebens-Analysen wie Patienten ohne Diabetes Mellitus behandelt werden (z.B. Saraiva et al. 2011). Ob eine Unterscheidung von Patienten mit NODAT von Patienten mit bereits präoperativ vorhandenem T2DM notwendig ist, ist bisher noch unklar. Einige Studien konnten keinen Nachteil im Überleben für Patienten mit NODAT im Vergleich zu Patienten ohne DM feststellen (Mogollón Jiménez et al. 2008; Cho et al. 2012; Bedanova et al. 2009). Im Gegensatz dazu fanden andere Studien eine erhöhte Mortalität von Patienten mit NODAT (Zhao et al. 2020; Kim et al. 2017). Als bisher größte Studie auf diesem Gebiet zeigten Kim et al. (2017) sogar, dass die Mortalität von Patienten mit NODAT der von Patienten mit T2DM entsprach (Kim et al. 2017). In dieser Arbeit erfolgte für die *Outcome*-Analysen bei einer relativ kleinen Anzahl Todesfälle keine Unterscheidung von Patienten mit NODAT und Patienten mit T2DM.

Im Falle eines bereits präoperativ diagnostizierten Diabetes Mellitus ist DM langfristig mit einem Überlebensnachteil assoziiert (Kim et al. 2017; Khush et al. 2019). Unklar bleibt aber, ab welchem Erkrankungszeitraum dies der Fall ist. Beispielsweise stellten Saraiva et al. (2011) zwar keinen Unterschied im 1-Jahres-Überleben zwischen Patienten mit und ohne T2DM fest, aber dafür ein schlechteres 3-Jahres Überleben von Patienten mit T2DM (Saraiva et al. 2011). Dagegen ist bereits die 1-Jahres-Mortalität, genauso wie die 5-Jahres-Mortalität in der *ISHLT-Registry* bei Empfängern mit Diabetes um 20-40% erhöht (Taylor et al. 2003; Taylor et al. 2004; Khush et al. 2019). Eine große Analyse aus einer Datenbank von 30606 Patienten ergab, dass DM insbesondere im längerfristigen Zeitraum das Überleben beeinflusst (Hsieh et al. 2020).

In unserer Kohorte konnten wir ein signifikant geringeres Überleben für Patienten mit T2DM im Vergleich zu Patienten ohne DM nachweisen. Insbesondere konnten wir in der Kaplan-

Meier-Analyse (Abb. 17) darstellen, dass das Überleben von Patienten mit T2DM in circa den ersten 3 Jahren nach HTX nur geringfügig stärker beeinträchtigt ist als das Überleben von Patienten ohne DM. Im weiteren zeitlichen Verlauf verstärkt sich allerdings der Nachteil für Patienten mit T2DM im Vergleich zur Kontrollgruppe. Unsere Ergebnisse unterstützen daher die Ergebnisse von Hsich et al. (2020), weil sie einen Nachteil im Überleben von Patienten mit T2DM zeigen und weil dieser insbesondere im langfristigen Verlauf relevant wird.

4.6 Rückschlüsse auf Veränderungen im mitochondrialen Stoffwechsel von Patienten mit Typ 2 Diabetes Mellitus

Es ist zu beachten, dass wir die bereits diskutierte Assoziation von fortgeschrittener Zeit seit HTX mit niedriger mitochondrialer Respiration in Patienten mit T2DM nur für die Substratkombination MO_{ADP} nachweisen konnten. Für die weiteren Substratkombination MO_{GADP} , MO_{GSADP} und MO_{GSFCCP} ergab sich keine statistisch signifikante Assoziation zur Zeit seit HTX. Dies gibt Hinweise auf mögliche Lokalisationen pathologischer Veränderungen im diabetischen Mitochondrium. Octanoyl-Carnitin wird in der *High-Resolution*-Respirometrie als Substrat für die Betaoxidation genutzt (Gnaiger 2020). Eine Einschränkung der Octanoyl-Carnitin-gestützten Respiration könnte somit einen Hinweis auf eine eingeschränkte Funktion der Betaoxidation oder der Komplexe der Atmungskette sein. Da gleichzeitig die MO_{GSADP} -Respiration keinen Unterschied zwischen den Gruppen aufwies, wäre ein Defekt in der Atmungskette an den Komplexen CETF oder CI zu lokalisieren.

Die von uns gezeigte Einschränkung der Fettsäure-assoziierten Respiration erscheint zunächst überraschend. Auch unter physiologischen Bedingungen deckt das Herz 60-70% seines Energiebedarfs aus Fettsäuren (Gollmer et al. 2020). Bei Vorliegen eines Diabetes Mellitus wird dieser Anteil noch gesteigert (Gollmer et al. 2020). Auf Basis dieser veränderten Substratnutzung wäre somit zunächst eine gesteigerte MO_{ADP} -Respiration zu erwarten gewesen. Einige Studien konnten eine Steigerung der Betaoxidation zeigen (Carley und Severson 2005; Belke et al. 2000). Diese Studien bezogen sich allerdings vorwiegend auf Tiermodelle, in denen ein mögliche Änderungen der Substratnutzung im zeitlichen Verlauf unbeachtet blieben. Flamment et al. (2012) fanden in Ratten, die eine fettreiche Diät erhielten nach 2 und 4 Wochen Anzeichen für eine gesteigerte Betaoxidation, nach 8 Wochen jedoch

Hinweise auf eine verringerte Betaoxidation (Flamment et al. 2012). Obwohl das Myokard kurzfristig zu einer Steigerung des Anteils von Fettsäuren an der Substratnutzung in der Lage ist, übersteigt das Angebot bei Diabetes Mellitus im langfristigen Verlauf die Kapazitäten der Betaoxidation (Gollmer et al. 2020). Es kommt zur Akkumulation von Produkten des Fettstoffwechsels wie Triacylglyceriden, Ceramiden und Acyl-Carnitinen (Gollmer et al. 2020). Diese werden unter anderem mit vermehren reaktiven Sauerstoffspezies und gesteigerter Apoptose in Verbindung gebracht (Gollmer et al. 2020). Dieses Phänomen wird auch als Lipotoxizität bezeichnet (Gollmer et al. 2020). Auch unter HTX-Empfängern mit Diabetes Mellitus ist eine progrediente Akkumulation von Lipiden im Myokard bereits beschrieben (Marfella et al. 2020). Allerdings führten Marfella et al. (2020) in ihrer Studie keine direkten Untersuchungen der mitochondrialen Funktion durch. Anderson et al. (2009) untersuchten in ihrer Studie Proben aus dem rechten Atrium von Patienten mit und ohne Diabetes, die sich einer koronaren Bypass-Operation unterzogen. Sie wiesen dabei ebenfalls erhöhte intrazelluläre Triglyceride im diabetischen Myokard nach (Anderson et al. 2009). Zusätzlich untersuchten sie mittels *High Resolution* Respirometrie die mitochondriale Respiration und fanden für Patienten mit T2DM eine signifikant verringerte Fettsäure- und Glutamat-gestützte Respiration (Anderson et al. 2009).

Unsere Ergebnisse stützen die Ergebnisse von Marfella et al. (2020) und Anderson et al. (2009). Wie Anderson et al. (2009) stellten wir eine verringerte Fettsäure-gestützte mitochondriale Respiration fest. Allerdings konnten wir zeigen, dass diese einen zeitabhängigen Charakter hat und mit fortschreitender Expositionszeit auftritt. Die progrediente Erschöpfung der Nutzung von Fettsäuren als Substrat der Atmungskette und die verringerte Effizienz in der Energiegewinnung könnten somit zur der von Marfella et al. (2020) nachgewiesenen zeitabhängigen Akkumulation von Lipiden im Myokard von HTX-Empfängern beitragen.

Im weiteren zeitlichen Verlauf ist die Akkumulation von Lipiden im Myokard mit Einschränkungen der myokardialen Funktion assoziiert (Marfella et al. 2020) und ist somit ein möglicher Faktor in der Entwicklung der diabetischen Kardiomyopathie. Plasmaspiegel von Vorprodukten der Betaoxidation wie Acylcarnitine, die durch den verminderten Abbau erhöht sind, werden daher auch als prädiktive Biomarker für das Auftreten einer diabetischen Kardiomyopathie diskutiert (Zheng et al. 2021; Truby et al. 2021).

Die eingeschränkte Energiegewinnung aus Fettsäuren stellt aber nicht nur einen möglichen Biomarker dar, sondern zeigt auch neue Ansatzpunkte für zukünftige Therapiestrategien zur Prävention der diabetischen Kardiomyopathie auf. Besonders interessant für zukünftige Studien sind dabei unter anderem die SGLT2-Inhibitoren. Diese sind in der Therapie der Herzinsuffizienz bereits seit 2021 auch bei Patienten ohne T2DM indiziert, obwohl der Wirkmechanismus ihres protektiven Effektes bezüglich Herzinsuffizienz nicht abschließend verstanden ist (McDonagh et al. 2021). Zu den diskutierten Mechanismen gehört ein Shift in der Substratnutzung weg von Fettsäuren hin zu Ketonkörpern, was eine Verringerung des oxidativen Stresses bewirkt und eine effizientere Energiequelle für die Atmungskette darstellt (Wojcik und Warden 2019; Maejima 2019).

4.7 Untersuchung herztransplanterter Patienten - Chancen und Limitationen

4.7.1 Untersuchung von gesundem Myokard

Eine der größten Schwierigkeiten in der Untersuchung der myokardialen mitochondrialen Respiration im Menschen ist der Mangel an untersuchbarem Gewebe. Häufig entstammt das zu untersuchende Myokardgewebe dem rechten Atrium und wird während koronaren Bypass-Operationen gewonnen (Anderson et al. 2009; Lemieux et al. 2011). Fraglich ist, inwiefern Atrium und Ventrikel trotz stark unterschiedlicher Druckverhältnisse vergleichbar sind. Es liegen nur wenige Studien vor, die die mitochondriale Funktion in Myokardgewebe unterschiedlicher Lokalisation vergleichen. Diese deuten aber darauf hin, dass die respiratorische Kapazität im Ventrikel signifikant höher ist (Lemieux et al. 2011; Scheiber et al. 2019). Eine weitere Möglichkeit ist die Untersuchung von linksventrikulärem Gewebe, welches während LVAD-Implantationen oder Herzklappen-Operationen zugänglich ist (Stride et al. 2013). Wie auch bei der Gewinnung von atrialem Gewebe während Bypass-Operationen, stellt sich hierbei aber die Schwierigkeit des Mangels einer gesunden Kontrollgruppe. Gemäß den Operations-Indikationen kann nur Myokardgewebe von Patienten mit terminaler Herzinsuffizienz oder fortgeschrittener ischämischer Herzerkrankung untersucht werden. Eine mögliche Lösung ist die Untersuchung gesunder Donorherzen, wie von Lemieux et al. (2011) durchgeführt. Aufgrund ethischer Gesichtspunkte ist dies aber nur selten möglich, sodass nur Proben von zwei Herzen gewonnen werden konnten (Lemieux et al. 2011). Eine zusätzliche Herausforderung bei der Untersuchung gesunder Donorherzen

während der Transplantation ist die Berücksichtigung von Ischämiezeiten. Die Betrachtung von durch Biopsien bei HTX-Empfängern gewonnenem Myokardgewebe ermöglicht die Untersuchung von humanem ventrikulärem Myokardgewebe mit weitgehend normaler Pumpfunktion. Obwohl durch Biopsien nur sehr kleine Probenmengen gewonnen werden können, sind diese in ihrer mitochondrialen Respiration vergleichbar mit Proben welche bei größeren Eingriffen entnommen werden (Scheiber et al. 2019). Dennoch bietet die Untersuchung von HTX-Empfängern auch einige Besonderheiten, die im Folgenden diskutiert werden sollen.

4.7.2 Einfluss des Abstoßungsstatus auf die mitochondriale Respiration

Die Möglichkeit des Vorliegens einer Abstoßungsreaktion ist, gemeinsam mit der immunsuppressiven Medikation, eines der wichtigsten Unterscheidungsmerkmale zu gesunden Probanden und sollte daher bei der Untersuchung von HTX-Empfängern stets bedacht werden. Verschiedene Studien legen nahe, dass der Abstoßungsstatus Einfluss auf die mitochondriale Funktion nimmt. Einen indirekten Nachweis eingeschränkter mitochondrialer Funktion bei akuter zellulärer Abstoßung erbrachten Romero et al. (2020), die eine eingeschränkte Aktivität Mitochondrien-assoziiierter Gene in Biopsien mit Abstoßungsreaktion zeigen konnten. Untersuchungen der mitochondrialen Respiration in Biopsien von HTX-Empfängern konnten zeigen, dass bereits eine Abstoßung ISHLT Grad 1R im Vergleich zu Biopsien ohne Abstoßung eine verringerte mitochondriale Respiration aufweist (Scheiber et al. 2021).

Auch in der vorliegenden Arbeit stellte die Abstoßung einen relevanten Störfaktor dar. In der moderierten Regression war der Abstoßungsstatus trendweise ($p = 0,06$) mit einer verringerten mitochondrialen Respiration assoziiert. Eine Berücksichtigung des Abstoßungsstatus war notwendig, um den Interaktionseffekt von der Zeit seit HTX und T2DM auf die mitochondriale Respiration zu demaskieren. Zukünftige Studien zur Mitochondrienfunktion in Organempfängern sollten daher Sorge tragen, den Abstoßungsstatus als Störfaktor zu berücksichtigen.

Des Weiteren konnten wir keine Assoziation zwischen der mittleren Höhe der Respiration und dem Auftreten einer höhergradigen Abstoßung (ISHLT Grad 2R oder 3R) nachweisen. Dies könnte zum einen darauf hinweisen, dass eine verringerte mitochondriale Respiration

nicht kausal am Auftreten einer Abstoßungsreaktion beteiligt ist, zum anderen aber auch darauf, dass eine durch eine Abstoßung akut verminderte Respiration bei adäquater Therapie die Mitochondrienfunktion langfristig nur wenig beeinflusst.

4.7.3 Einfluss der Medikation auf die mitochondriale Respiration

4.7.3.1 Immunsuppressiva

Eine Studie an herztransplantierten Patienten bietet die seltene Möglichkeit Myokardgewebe von weitgehend gesunden Herzen zu untersuchen. Dennoch unterscheiden sich HTX-Empfänger in ihrer Medikation durch die notwendige Einnahme von Immunsuppressiva deutlich von Gesunden. Eine Evaluation eines möglichen Einflusses von immunsuppressiven Medikamenten auf die mitochondriale Respiration war in der vorliegenden Arbeit aufgrund Mangels einer gesunden Vergleichsgruppe nicht möglich.

Das in unserer Kohorte am häufigsten eingenommene Immunsuppressivum war Tacrolimus. Im Gegensatz zu seinem Vorgänger Cyclosporin-A, fanden verschiedene Studien im Tierversuch oder in Zellkulturen keinen Einfluss von Tacrolimus in therapeutischen Dosierungen auf die Mitochondrienfunktion (Albawardi et al. 2015; Nash et al. 2020).

Der häufige Kombinationspartner von Tacrolimus, Mycophenolatmofetil ist dagegen mit vermehrten reaktiven Sauerstoffspezies und vermindertem mitochondrialem Sauerstoffverbrauch assoziiert (Nash et al. 2020). Der Einfluss von Everolimus auf die mitochondriale Respiration bleibt in der Literatur bisher unklar, da die wenigen vorhandenen Studien sich hauptsächlich auf den mTOR-Inhibitor Sirolimus beziehen (Nash et al. 2020; Albawardi et al. 2015), der im Wirkmechanismus aber nicht exakt mit Everolimus zu vergleichen ist (Klawitter et al. 2015). Auch für Glucocorticoide, die oftmals einen unverzichtbaren Teil der immunsuppressiven Medikation darstellen, sind Interaktionen mit der Mitochondrienfunktion beschrieben (Martens et al. 1991).

Da die HTX-Empfänger in der vorliegenden Kohorte gleichermaßen eine immunsuppressive Medikation erhielten, ist diese für den Vergleich bezüglich des Diabetes-Status vernachlässigbar. Insgesamt ist jedoch davon auszugehen, dass Immunsuppressiva ebenfalls Einfluss auf die mitochondriale Respiration nehmen können.

4.7.3.2 Antidiabetika

Ein wichtiges Unterscheidungsmerkmal zwischen Patienten mit und ohne T2DM ist neben Blutzuckerwerten die Einnahme antidiabetischer Medikation. Bei der Betrachtung von Unterschieden in der mitochondrialen Respiration dieser Gruppen, ist also auch ein möglicher Einfluss der Medikation zu bedenken. Besonders von Interesse ist dabei Metformin. Trotz des langjährigen und evidenzgestützten Einsatzes von Metformin als Antidiabetikum ist seine Wirkweise bis heute nicht vollständig verstanden (Rena et al. 2017). Heutzutage wird den Mitochondrien eine zentrale Rolle in den Wirkmechanismen von Metformin zugeschrieben (Feng et al. 2022). Verschiedene Studien haben im Lebergewebe oder im Tierversuch im Skelettmuskel zeigen können, dass Metformin den Komplex I inhibiert, während Komplex II unbeeinträchtigt bleibt (Páleníčková et al. 2011; Wessels et al. 2014). Interessanterweise konnten Páleníčková et al. (2011) außerdem Hinweise darauf finden, dass auch die Fettsäure-gestützte Respiration in Lebergewebe bei Gabe von Metformin eingeschränkt ist (Páleníčková et al. 2011). Da auch wir in der vorliegenden Arbeit eine verringerte Fettsäure- aber nicht Komplex II- assoziierte mitochondriale Respiration in einer Gruppe, die zum Teil Metformin einnahm, zeigen konnten, ist ein Einfluss der Medikation nicht auszuschließen. Neben dem Einfluss von Metformin auf die Atmungskette, gibt es vermutlich aber noch andere Stoffwechselwege auf denen Metformin direkt oder indirekt die Mitochondrienfunktion beeinflussen kann. Beispielsweise konnten Marfella et al. (2020) zeigen, dass unter HTX-Empfängern mit T2DM diejenigen Patienten, die Metformin einnahmen, eine geringere myokardiale Lipidakkumulation aufwiesen. Die Verringerung lipotoxischer Faktoren könnte sich protektiv auf die Mitochondrienfunktion auswirken (Marfella et al. 2020).

Auch andere Antidiabetika nehmen möglicherweise Einfluss auf die mitochondriale Respiration. Wie für Metformin, ist beispielsweise auch für Glitazone eine Assoziation mit verringerter Komplex-I-assoziiierter Respiration beschrieben (Brunmair et al. 2004). In zukünftigen Studien werden außerdem die SGLT2-Inhibitoren an Bedeutung gewinnen, auch diesen werden Effekte im Mitochondrium zugeschrieben (Wojcik und Warden 2019).

Insgesamt ist der komplexe Einfluss von antidiabetischer Medikation auf die mitochondriale Respiration im Myokardgewebe bisher noch kaum untersucht. Einen Vergleich in unserer Studie erschwerte insbesondere die relativ geringe Anzahl an Patienten mit T2DM im Zusammenspiel mit der Vielzahl an Möglichkeiten zur Kombination antidiabetischer

Medikation. Spätere Studien mit größeren Patientenzahlen sollten den möglichen Effekt verschiedener Antidiabetika in Subgruppenanalysen berücksichtigen.

4.8 Schlussfolgerungen

In der vorliegenden Studie konnten wir erstmals zeigen, dass die Dauer der Diabetes-Exposition mit der ventrikulären mitochondrialen Respiration assoziiert ist.

Die Untersuchung herztransplantierter Patienten ermöglichte es uns, vormalig gesundes Myokardgewebe zu untersuchen und die Dauer der Einwirkung des diabetischen Stoffwechsels relativ genau zu bestimmen. Die Nutzung von Biopsiematerial bietet die seltene Möglichkeit longitudinaler Forschung an Myokardgewebe. Trotz der vorliegenden Hinweise auf eine zeitabhängige Verschlechterung der mitochondrialen Respiration konnten wir diese in messwiederholten Analysen noch nicht beweisen. Mehr Daten sind notwendig, um die longitudinale Entwicklung der mitochondrialen Respiration genauer zu charakterisieren.

Wir bestätigten außerdem die Ergebnisse anderer Studien, indem wir nachwiesen, dass eine verringerte mitochondriale Respiration mit einer verringerten LV-EF assoziiert ist.

Erstmals prüften wir außerdem, ob eine verringerte mitochondriale Respiration mit einer schlechteren Prognose assoziiert ist. Bezüglich Mortalität und Hospitalisationen auf Intensiv- oder IMC-Stationen ergab sich deskriptiv ein Nachteil für Patienten mit geringerer mitochondrialer Respiration, der aber keine statistische Signifikanz erreichte. Größere Studien mit längeren Beobachtungszeiträumen sind notwendig, um die mitochondriale Respiration als Prädiktor für Mortalität oder Hospitalisationen genauer zu untersuchen. Insbesondere ist dabei auch ein Diabetes Mellitus zu berücksichtigen, welcher sowohl mit einer verringerten mitochondrialen Respiration als auch mit einer erhöhten Mortalität nach Herztransplantation assoziiert ist.

5 Literaturverzeichnis

Ahmad, Faraz S.; Ning, Hongyan; Rich, Jonathan D.; Yancy, Clyde W.; Lloyd-Jones, Donald M.; Wilkins, John T. (2016): Hypertension, Obesity, Diabetes, and Heart Failure–Free Survival: The Cardiovascular Disease Lifetime Risk Pooling Project. In: *JACC. Heart failure* 4 (12), S. 911–919. DOI: 10.1016/j.jchf.2016.08.001.

Albawardi, Alia; Almarzooqi, Saeeda; Saraswathiamma, Dhanya; Abdul-Kader, Hidaya Mohammed; Souid, Abdul-Kader; Alfazari, Ali S. (2015): The mTOR inhibitor sirolimus suppresses renal, hepatic, and cardiac tissue cellular respiration. In: *International Journal of Physiology, Pathophysiology and Pharmacology* 7 (1), S. 54–60.

American Diabetes Association (2019): 2. Classification and Diagnosis of Diabetes: Standards of Medical Care in Diabetes-2019. In: *Diabetes care* 42 (Suppl 1), S13-S28. DOI: 10.2337/dc19-S002.

Anderson, Ethan J.; Kypson, Alan P.; Rodriguez, Evelio; Anderson, Curtis A.; Lehr, Eric J.; Neuffer, P. Darrell (2009): Substrate-Specific Derangements in Mitochondrial Metabolism and Redox Balance in the Atrium of the Type 2 Diabetic Human Heart. In: *Journal of the American College of Cardiology*.

Andersson, Tobias; Hjerpe, Per; Carlsson, Axel C.; Pivodic, Aldina; Wändell, Per; Manhem, Karin; Bengtsson Boström, Kristina (2018): Mortality trends and cause of death in patients with new-onset type 2 diabetes and controls: A 24-year follow-up prospective cohort study. In: *Diabetes Research and Clinical Practice* 138, S. 81–89. DOI: 10.1016/j.diabres.2018.01.038.

Bauduceau, Bernard; Le Floch, Jean-Pierre; Halimi, Serge; Verny, Christiane; Doucet, Jean (2018): Cardiovascular Complications Over 5 Years and Their Association With Survival in the GERODIAB Cohort of Elderly French Patients With Type 2 Diabetes. In: *Diabetes care* 41 (1), S. 156–162. DOI: 10.2337/dc17-1437.

Bedanova, Helena; Ondrasek, Jiri; Cerny, Jan; Orban, Marek; Spinarova, Lenka; Hude, Petr et al. (2009): Impact of diabetes mellitus on survival rates after heart transplantation. In: *Biomedical papers of the Medical Faculty of the University Palacky, Olomouc, Czechoslovakia* 153 (4), S. 283–287. DOI: 10.5507/bp.2009.047.

Belke, D. D.; Larsen, T. S.; Gibbs, E. M.; Severson, D. L. (2000): Altered metabolism causes cardiac dysfunction in perfused hearts from diabetic (db/db) mice. In: *American journal of physiology. Endocrinology and metabolism* 279 (5), E1104-13. DOI: 10.1152/ajpendo.2000.279.5.E1104.

Bleumink, Gysèle S.; Knetsch, Anneke M.; Sturkenboom, Miriam C. J. M.; Straus, Sabine M. J. M.; Hofman, Albert; Deckers, Jaap W. et al. (2004): Quantifying the heart failure epidemic: prevalence, incidence rate, lifetime risk and prognosis of heart failure The Rotterdam Study. In: *European heart journal* 25 (18), S. 1614–1619. DOI: 10.1016/j.ehj.2004.06.038.

Boeken, U.; Mehdiani, A.; Ballazs, C.; Sowa, C.; Westenfeld, R.; Saeed, D. et al. (2016): Use of a Highly Sensitive Assay for Cardiac Troponin T as an Adjunct to Diagnose Acute Rejection after Cardiac Transplant. In: *The Journal of Heart and Lung Transplantation* 35 (4), S205. DOI: 10.1016/j.healun.2016.01.576.

Boonman-de Winter, L. J. M.; Rutten, F. H.; Cramer, M. J. M.; Landman, M. J.; Liem, A. H.; Rutten, G. E. H. M.; Hoes, A. W. (2012): High prevalence of previously unknown heart failure and left ventricular dysfunction in patients with type 2 diabetes. In: *Diabetologia* 55 (8), S. 2154–2162. DOI: 10.1007/s00125-012-2579-0.

Borghetti, Giulia; Lewinski, Dirk von; Eaton, Deborah M.; Sourij, Harald; Houser, Steven R.; Wallner, Markus (2018): Diabetic Cardiomyopathy: Current and Future Therapies. Beyond Glycemic Control. In: *Frontiers in physiology* 9, S. 1514. DOI: 10.3389/fphys.2018.01514.

Bouthoorn, Selma; Gohar, Aisha; Valstar, Gideon; Ruijter, Hester M. den; Reitsma, J. B.; Hoes, Arno W.; Rutten, Frans H. (2018): Prevalence of left ventricular systolic dysfunction and heart failure with reduced ejection fraction in men and women with type 2 diabetes mellitus: a systematic review and meta-analysis. In: *Cardiovasc Diabetol* 17 (1), S. 58. DOI: 10.1186/s12933-018-0690-3.

Boyer, John K.; Thanigaraj, Srihari; Schechtman, Kenneth B.; Pérez, Julio E. (2004): Prevalence of ventricular diastolic dysfunction in asymptomatic, normotensive patients with diabetes mellitus. In: *The American Journal of Cardiology* 93 (7), S. 870–875. DOI: 10.1016/j.amjcard.2003.12.026.

Bragazzi, Nicola Luigi; Zhong, Wen; Shu, Jingxian; Abu Much, Arsalan; Lotan, Dor; Grupper, Avishay et al. (2021): Burden of heart failure and underlying causes in 195 countries

and territories from 1990 to 2017. In: *European journal of preventive cardiology*. DOI: 10.1093/eurjpc/zwaa147.

Brunmair, Barbara; Staniek, Katrin; Gras, Florian; Scharf, Nicole; Althaym, Aleksandra; Clara, Renate et al. (2004): Thiazolidinediones, like metformin, inhibit respiratory complex I: a common mechanism contributing to their antidiabetic actions? In: *Diabetes* 53 (4), S. 1052–1059. DOI: 10.2337/diabetes.53.4.1052.

Bugger, Heiko; Abel, E. Dale (2014): Molecular mechanisms of diabetic cardiomyopathy. In: *Diabetologia* 57 (4), S. 660–671. DOI: 10.1007/s00125-014-3171-6.

Bundesärztekammer (BÄK), Kassenärztliche Bundesvereinigung (KBV), Arbeitsgemeinschaft der Wissenschaftlichen Medizinischen Fachgesellschaften (AWMF) (2019): NVL Chronische Herzinsuffizienz – Langfassung, 3. Auflage. DOI: 10.6101/AZQ/000465.

Butler, Javed; Yang, Mei; Manzi, Massimiliano Alfonso; Hess, Gregory P.; Patel, Mahesh J.; Rhodes, Thomas; Givertz, Michael M. (2019): Clinical Course of Patients With Worsening Heart Failure With Reduced Ejection Fraction. In: *Journal of the American College of Cardiology* 73 (8), S. 935–944. DOI: 10.1016/j.jacc.2018.11.049.

Carley, Andrew N.; Severson, David L. (2005): Fatty acid metabolism is enhanced in type 2 diabetic hearts. In: *Biochimica et biophysica acta* 1734 (2), S. 112–126. DOI: 10.1016/j.bbalip.2005.03.005.

Cho, Min Soo; Choi, Hyo-In; Kim, In-Ok; Jung, Sung-Ho; Yun, Tae-Jin; Lee, Jae-Won et al. (2012): The clinical course and outcomes of post-transplantation diabetes mellitus after heart transplantation. In: *Journal of Korean Medical Science* 27 (12), S. 1460–1467. DOI: 10.3346/jkms.2012.27.12.1460.

Cho, N. H.; Shaw, J. E.; Karuranga, S.; Huang, Y.; da Rocha Fernandes, J. D.; Ohlrogge, A. W.; Malanda, B. (2018): IDF Diabetes Atlas: Global estimates of diabetes prevalence for 2017 and projections for 2045. In: *Diabetes Research and Clinical Practice* 138, S. 271–281. DOI: 10.1016/j.diabres.2018.02.023.

Cosentino, Francesco; Grant, Peter J.; Aboyans, Victor; Bailey, Clifford J.; Ceriello, Antonio; Delgado, Victoria et al. (2020): 2019 ESC Guidelines on diabetes, pre-diabetes, and

cardiovascular diseases developed in collaboration with the EASD. In: *European heart journal* 41 (2), S. 255–323. DOI: 10.1093/eurheartj/ehz486.

Costanzo, Maria Rosa; Dipchand, Anne; Starling, Randall; Anderson, Allen; Chan, Michael; Desai, Shashank et al. (2010): The International Society of Heart and Lung Transplantation Guidelines for the care of heart transplant recipients. In: *The Journal of Heart and Lung Transplantation* 29 (8), S. 914–956. DOI: 10.1016/j.healun.2010.05.034.

Deutsche Stiftung Organtransplantation (2022): Herz- und Herz-Lungen-Transplantation 2021. Online verfügbar unter https://dso.de/DSO-Infografiken/Herz_LungenTX.png, zuletzt aktualisiert am 05.04.2022, zuletzt geprüft am 23.11.2022.

DSO-Jahresbericht 2022. Online verfügbar unter <https://dso.de/SiteCollectionDocuments/DSO-Jahresbericht%202022.pdf>, zuletzt geprüft am 05.06.2023.

Feng, Jin; Wang, Xiaohui; Ye, Xiaochun; Ares, Irma; Lopez-Torres, Bernardo; Martínez, Marta et al. (2022): Mitochondria as an important target of metformin: The mechanism of action, toxic and side effects, and new therapeutic applications. In: *Pharmacological research* 177, S. 106114. DOI: 10.1016/j.phrs.2022.106114.

Flamment, Mélissa; Rieusset, Jennifer; Vidal, Hubert; Simard, Gilles; Malthiery, Yves; Fromenty, Bernard; Ducluzeau, Pierre-Henri (2012): Regulation of hepatic mitochondrial metabolism in response to a high fat diet: a longitudinal study in rats. In: *J Physiol Biochem* 68 (3), S. 335–344. DOI: 10.1007/s13105-012-0145-3.

Gnaiger, Erich (2008): Polarographic Oxygen Sensors, the Oxygraph, and High-Resolution Respirometry to Assess Mitochondrial Function. In: *Drug-Induced Mitochondrial Dysfunction: John Wiley & Sons, Ltd*, S. 325–352. Online verfügbar unter <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/9780470372531.ch12>.

Gnaiger, Erich (2020): Mitochondrial Pathways and Respiratory Control. Unter Mitarbeit von Erich Gnaiger. Online verfügbar unter https://wiki.oroboros.at/images/e/ec/BEC_2020.2_doi10.26124bec2020-0002.pdf, zuletzt geprüft am 01.09.2021.

Gollmer, Johannes; Zirlik, Andreas; Bugger, Heiko (2020): Mitochondrial Mechanisms in Diabetic Cardiomyopathy. In: *Diabetes & metabolism journal* 44 (1), S. 33–53. DOI: 10.4093/dmj.2019.0185.

Hayes, Andrew F. (2013): Introduction to mediation, moderation, and conditional process analysis. A regression-based approach. New York, NY: Guilford Press (Methodology in the social sciences).

Hemmerich, W. (2017): Korrelationen statistisch vergleichen. Online verfügbar unter <https://statistikguru.de/rechner/korrelationen-vergleichen.html>, zuletzt geprüft am 02.07.2022.

Herold, Gerd (2021): Innere Medizin. 2021 : eine vorlesungsorientierte Darstellung : unter Berücksichtigung des Gegenstandskataloges für die ärztliche Prüfung : mit ICD 10-Schlüssel im Text und Stichwortverzeichnis. Köln, Berlin: Gerd Herold; Walter de Gruyter GmbH.

Hsich, Eileen M.; Blackstone, Eugene H.; Thuita, Lucy W.; McNamara, Dennis M.; Rogers, Joseph G.; Yancy, Clyde W. et al. (2020): Heart Transplantation: An In-Depth Survival Analysis. In: *JACC. Heart failure* 8 (7), S. 557–568. DOI: 10.1016/j.jchf.2020.03.014.

Immohr, Moritz Benjamin; Mehdiani, Arash; Albert, Alexander; Boettger, Charlotte; Dalyanoglu, Hannan; Scheiber, Daniel et al. (2019): Heart transplantation in patients with ventricular assist devices: Impacts of the implantation technique and support duration. In: *Journal of cardiac surgery*. DOI: 10.1111/jocs.14392.

Imran, Muhammad; Wang, Louis; McCrohon, Jane; Yu, Chung; Holloway, Cameron; Otton, James et al. (2019): Native T1 Mapping in the Diagnosis of Cardiac Allograft Rejection: A Prospective Histologically Validated Study. In: *JACC. Cardiovascular imaging* 12 (8 Pt 2), S. 1618–1628. DOI: 10.1016/j.jcmg.2018.10.027.

International Diabetes Federation (2021): IDF Diabetes Atlas, 10th edn. Brussels, Belgium: International Diabetes Federation, 2021. Online verfügbar unter https://diabetesatlas.org/idfawp/resource-files/2021/07/IDF_Atlas_10th_Edition_2021.pdf, zuletzt geprüft am 25.04.2022.

Jacobs, E.; Hoyer, A.; Brinks, R.; Icks, A.; Kuß, O.; Rathmann, W. (2017): Healthcare costs of Type 2 diabetes in Germany. In: *Diabetic Medicine* 34 (6), S. 855–861. DOI: 10.1111/dme.13336.

Jia, Guanghong; Hill, Michael A.; Sowers, James R. (2018): Diabetic Cardiomyopathy: An Update of Mechanisms Contributing to This Clinical Entity. In: *Circulation research* 122 (4), S. 624–638. DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.117.311586.

Jones, Nicholas R.; Roalfe, Andrea K.; Adoki, Ibiye; Hobbs, F. D. Richard; Taylor, Clare J. (2019): Survival of patients with chronic heart failure in the community: a systematic review and meta-analysis. In: *European journal of heart failure* 21 (11), S. 1306–1325. DOI: 10.1002/ejhf.1594.

Kannel, William B.; Hjortland, Marthana; Castelli, William P. (1974): Role of diabetes in congestive heart failure: The Framingham study. In: *The American Journal of Cardiology* 34 (1), S. 29–34. DOI: 10.1016/0002-9149(74)90089-7.

Khush, Kiran K.; Cherikh, Wida S.; Chambers, Daniel C.; Harhay, Michael O.; Hayes, Don; Hsich, Eileen et al. (2019): The International Thoracic Organ Transplant Registry of the International Society for Heart and Lung Transplantation: Thirty-sixth adult heart transplantation report - 2019; focus theme: Donor and recipient size match. In: *The Journal of heart and lung transplantation : the official publication of the International Society for Heart Transplantation* 38 (10), S. 1056–1066. DOI: 10.1016/j.healun.2019.08.004.

Kim, Ho Jin; Jung, Sung-Ho; Kim, Jae-Joong; Yun, Tae-Jin; Kim, Joon Bum; Choo, Suk Jung et al. (2017): New-Onset Diabetes Mellitus After Heart Transplantation - Incidence, Risk Factors and Impact on Clinical Outcome. In: *Circulation journal : official journal of the Japanese Circulation Society* 81 (6), S. 806–814. DOI: 10.1253/circj.CJ-16-0963.

Klawitter, Jost; Nashan, Björn; Christians, Uwe (2015): Everolimus and sirolimus in transplantation-related but different. In: *Expert opinion on drug safety* 14 (7), S. 1055–1070. DOI: 10.1517/14740338.2015.1040388.

Kuznetsov, Andrey V.; Veksler, Vladimir; Gellerich, Frank N.; Saks, Valdur; Margreiter, Raimund; Kunz, Wolfram S. (2008): Analysis of mitochondrial function in situ in permeabilized muscle fibers, tissues and cells. In: *Nat Protoc* 3 (6), S. 965–976. DOI: 10.1038/nprot.2008.61.

Lee, Marshall; Gardin, Julius M.; Lynch, James C.; Smith, Vivienne-Elizabeth; Tracy, Russell P.; Savage, Peter J. et al. (1997): Diabetes mellitus and echocardiographic left ventricular

function in free-living elderly men and women: The Cardiovascular Health Study. In: *American heart journal* 133 (1), S. 36–43. DOI: 10.1016/S0002-8703(97)70245-X.

Lemieux, Hélène; Semsroth, Severin; Antretter, Herwig; H  fer, Daniel; Gnaiger, Erich (2011): Mitochondrial respiratory control and early defects of oxidative phosphorylation in the failing human heart. In: *The international journal of biochemistry & cell biology* 43 (12), S. 1729–1738. DOI: 10.1016/j.biocel.2011.08.008.

Löffler/Petrides Biochemie und Pathobiochemie (2014). 9., vollständig   berarbeitete Auflage. Berlin, Heidelberg: Springer (Springer-Lehrbuch).

MacDonald; Petrie, M. C.; Varyani, F.; Ostergren, J.; Michelson, E. L.; Young, J. B. et al. (2008): Impact of Diabetes on Outcomes in Patients With Low and Preserved Ejection Fraction Heart Failure: An Analysis of the Candesartan in Heart Failure: Assessment of Reduction in Mortality and Morbidity (CHARM) Programme. In: *European heart journal* 29 (11). DOI: 10.1093/eurheartj/ehn153.

Maejima, Yasuhiro (2019): SGLT2 Inhibitors Play a Salutary Role in Heart Failure via Modulation of the Mitochondrial Function. In: *Front. Cardiovasc. Med.* 6, S. 186. DOI: 10.3389/fcvm.2019.00186.

Makrecka-Kuka, Marina; Liepinsh, Edgars; Murray, Andrew J.; Lemieux, Hélène; Dambrova, Maija; Tepp, Kersti et al. (2020): Altered mitochondrial metabolism in the insulin-resistant heart. In: *Acta physiologica (Oxford, England)* 228 (3), e13430. DOI: 10.1111/apha.13430.

Marchetti, Piero (2004): New-onset diabetes after transplantation. In: *The Journal of Heart and Lung Transplantation* 23 (5 Suppl), S194-201. DOI: 10.1016/j.healun.2004.03.007.

Marfella, Raffaele; Amarelli, Cristiano; Cacciatore, Francesco; Balestrieri, Maria Luisa; Mansueto, Gelsomina; D'Onofrio, Nunzia et al. (2020): Lipid Accumulation in Hearts Transplanted From Nondiabetic Donors to Diabetic Recipients. In: *Journal of the American College of Cardiology* 75 (11), S. 1249–1262. DOI: 10.1016/j.jacc.2020.01.018.

Marín-García, José. (2005): Mitochondria and the Heart. Boston, MA: Springer Science+Business Media Inc (Developments in Cardiovascular Medicine, 256).

Martens, M. E.; Peterson, P. L.; Lee, C. P. (1991): In vitro effects of glucocorticoid on mitochondrial energy metabolism. In: *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics* 1058 (2), S. 152–160. DOI: 10.1016/S0005-2728(05)80232-4.

Matsushita, Kunihiro; Blecker, Saul; Pazin-Filho, Antonio; Bertoni, Alain; Chang, Patricia P.; Coresh, Josef; Selvin, Elizabeth (2010): The association of hemoglobin a1c with incident heart failure among people without diabetes: the atherosclerosis risk in communities study. In: *Diabetes* 59 (8), S. 2020–2026. DOI: 10.2337/db10-0165.

McDonagh, Theresa A.; Metra, Marco; Adamo, Marianna; Gardner, Roy S.; Baumbach, Andreas; Böhm, Michael et al. (2021): 2021 ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure. In: *Eur Heart J*. DOI: 10.1093/eurheartj/ehab368.

Mogollón Jiménez, M. V.; Sobrino Márquez, J. M.; Arizón Muñoz, J. M.; Sánchez Brotons, J. A.; Guisado Rasco, A.; Hernández Jiménez, M. M. et al. (2008): Incidence and importance of de novo diabetes mellitus after heart transplantation. In: *Transplantation proceedings* 40 (9), S. 3053–3055. DOI: 10.1016/j.transproceed.2008.09.045.

Montaigne, David; Marechal, Xavier; Coisne, Augustin; Debry, Nicolas; Modine, Thomas; Fayad, Georges et al. (2014): Myocardial contractile dysfunction is associated with impaired mitochondrial function and dynamics in type 2 diabetic but not in obese patients. In: *Circulation* 130 (7), S. 554–564. DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.113.008476.

Montori, Victor M.; Basu, Ananda; Erwin, Patricia J.; Velosa, Jorge A.; Gabriel, Sherine E.; Kudva, Yogish C. (2002): Posttransplantation diabetes: a systematic review of the literature. In: *Diabetes Care* 25 (3), S. 583–592. DOI: 10.2337/diacare.25.3.583.

Moos, C.; Scheiber, D.; Zweck, E.; Horn, P.; Boeken, U.; Akhyari, P. et al. (2021): Time dependent deterioration of mitochondrial oxidative capacity in heart transplant recipients with type 2 diabetes mellitus. In: *European heart journal* 42 (Supplement_1), Artikel ehab724.3221. DOI: 10.1093/eurheartj/ehab724.3221.

Nash, Amanda; Samoylova, Mariya; Leuthner, Tess; Zhu, Minghua; Lin, Liwen; Meyer, Joel N.; Brennan, Todd V. (2020): Effects of Immunosuppressive Medications on Mitochondrial Function. In: *The Journal of surgical research* 249, S. 50–57. DOI: 10.1016/j.jss.2019.12.010.

Páleníčková, E.; Cahová, M.; Drahota, Z.; Kazdová, L.; Kalous, M. (2011): Inhibitory effect of metformin on oxidation of NADH-dependent substrates in rat liver homogenate. In: *Physiol Res* 60 (5), S. 835–839. DOI: 10.33549/physiolres.932193.

Pallant, Julie (2016): SPSS survival manual. A step by step guide to data analysis using IBM SPSS. 6th edition. Maidenhead, New York: McGraw Hill Education.

Rena, Graham; Hardie, D. Grahame; Pearson, Ewan R. (2017): The mechanisms of action of metformin. In: *Diabetologia* 60 (9), S. 1577–1585. DOI: 10.1007/s00125-017-4342-z.

Romero, Erick; Chang, Eleanor; Tabak, Esteban; Pinheiro, Diego; Tallaj, Jose; Litovsky, Silvio et al. (2020): Rejection-associated Mitochondrial Impairment After Heart Transplantation. In: *Transplantation direct* 6 (11), e616. DOI: 10.1097/TXD.0000000000001065.

Rubler, Shirley; Dlugash, Joel; Yuceoglu, Yusuf Ziya; Kumral, Tarik; Branwood, Arthur Whitley; Grishman, Arthur (1972): New type of cardiomyopathy associated with diabetic glomerulosclerosis. In: *The American Journal of Cardiology* 30 (6), S. 595–602. DOI: 10.1016/0002-9149(72)90595-4.

Saraiva, Joana; Sola, Emília; Prieto, David; Antunes, Manuel J. (2011): Diabetes as an outcome predictor after heart transplantation. In: *Interactive cardiovascular and thoracic surgery* 13 (5), 499-504; discussion 504. DOI: 10.1510/icvts.2010.256321.

Scheiber, Daniel; Jelenik, Tomas; Zweck, Elric; Horn, Patrick; Schultheiss, Heinz-Peter; Lassner, Dirk et al. (2019): High-resolution respirometry in human endomyocardial biopsies shows reduced ventricular oxidative capacity related to heart failure. In: *Experimental & molecular medicine* 51 (2), S. 16. DOI: 10.1038/s12276-019-0214-6.

Scheiber, Daniel; Zweck, Elric; Albermann, Sophie; Jelenik, Tomas; Spieker, Maximilian; Bönner, Florian et al. (2021): Human myocardial mitochondrial oxidative capacity is impaired in mild acute heart transplant rejection. In: *ESC Heart Failure* 8 (6), S. 4674–4684. DOI: 10.1002/ehf2.13607.

Schneider, J.; Han, W. H.; Matthew, R.; Sauvé, Y.; Lemieux, H. (2020): Age and Sex as Confounding Factors in the Relationship Between Cardiac Mitochondrial Function and Type 2 Diabetes in the Nile Grass Rat. In: *PloS one* 15 (2). DOI: 10.1371/journal.pone.0228710.

Shirakawa, Ryosuke; Yokota, Takashi; Nakajima, Takayuki; Takada, Shingo; Yamane, Miwako; Furihata, Takaaki et al. (2019): Mitochondrial reactive oxygen species generation in blood cells is associated with disease severity and exercise intolerance in heart failure patients. In: *Scientific reports* 9 (1), S. 14709. DOI: 10.1038/s41598-019-51298-3.

Stamler, J.; Vaccaro, O.; Neaton, J. D.; Wentworth, D. (1993): Diabetes, other risk factors, and 12-yr cardiovascular mortality for men screened in the Multiple Risk Factor Intervention Trial. In: *Diabetes Care* 16 (2), S. 434–444. DOI: 10.2337/diacare.16.2.434.

Stehlik, Josef; Kobashigawa, Jon; Hunt, Sharon A.; Reichenspurner, Hermann; Kirklin, James K. (2018): Honoring 50 Years of Clinical Heart Transplantation in Circulation: In-Depth State-of-the-Art Review. In: *Circulation* 137 (1), S. 71–87. DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.117.029753.

Stewart, Susan; Winters, Gayle L.; Fishbein, Michael C.; Tazelaar, Henry D.; Kobashigawa, Jon; Abrams, Jacki et al. (2005): Revision of the 1990 working formulation for the standardization of nomenclature in the diagnosis of heart rejection. In: *The Journal of Heart and Lung Transplantation* 24 (11), S. 1710–1720. DOI: 10.1016/j.healun.2005.03.019.

Störk, Stefan; Handrock, Renate; Jacob, Josephine; Walker, Jochen; Calado, Frederico; Lahoz, Raquel et al. (2017): Epidemiology of heart failure in Germany: a retrospective database study. In: *Clinical research in cardiology : official journal of the German Cardiac Society* 106 (11), S. 913–922. DOI: 10.1007/s00392-017-1137-7.

Streng, Koen W.; Nauta, Jan F.; Hillege, Hans L.; Anker, Stefan D.; Cleland, John G.; Dickstein, Kenneth et al. (2018): Non-cardiac comorbidities in heart failure with reduced, mid-range and preserved ejection fraction. In: *International journal of cardiology* 271, S. 132–139. DOI: 10.1016/j.ijcard.2018.04.001.

Stride, Nis; Larsen, Steen; Hey-Mogensen, Martin; Sander, Kåre; Lund, Jens T.; Gustafsson, Finn et al. (2013): Decreased mitochondrial oxidative phosphorylation capacity in the human heart with left ventricular systolic dysfunction. In: *European journal of heart failure* 15 (2), S. 150–157. DOI: 10.1093/eurjhf/hfs172.

Szendroedi, J.; Roden, M. (2008): Mitochondrial fitness and insulin sensitivity in humans. In: *Diabetologia* 51 (12), S. 2155–2167. DOI: 10.1007/s00125-008-1153-2.

- Tamayo, Teresa; Brinks, Ralph; Hoyer, Annika; Kuß, Oliver S.; Rathmann, Wolfgang (2016): The Prevalence and Incidence of Diabetes in Germany. In: *Deutsches Arzteblatt international* 113 (11), S. 177–182. DOI: 10.3238/arztebl.2016.0177.
- Taylor, David O.; Edwards, Leah B.; Boucek, Mark M.; Trulock, Elbert P.; Keck, Berkeley M.; Hertz, Marshall I. (2004): The Registry of the International Society for Heart and Lung Transplantation: twenty-first official adult heart transplant report--2004. In: *The Journal of Heart and Lung Transplantation* 23 (7), S. 796–803. DOI: 10.1016/j.healun.2004.05.004.
- Taylor, David O.; Edwards, Leah B.; Mohacsi, Paul J.; Boucek, Mark M.; Trulock, Elbert P.; Keck, Berkeley M.; Hertz, Marshall I. (2003): The registry of the international society for heart and lung transplantation: twentieth official adult heart transplant report—2003. In: *The Journal of Heart and Lung Transplantation* 22 (6), S. 616–624. DOI: 10.1016/S1053-2498(03)00186-4.
- Truby, Lauren K.; Regan, Jessica A.; Giamberardino, Stephanie N.; Ilkayeva, Olga; Bain, James; Newgard, Christopher B. et al. (2021): Circulating long chain acylcarnitines and outcomes in diabetic heart failure: an HF-ACTION clinical trial substudy. In: *Cardiovasc Diabetol* 20 (1), S. 161. DOI: 10.1186/s12933-021-01353-z.
- Ueland, Thor; Svardal, Asbjørn; Øie, Erik; Askevold, Erik T.; Nymo, Ståle H.; Bjørndal, Bodil et al. (2013): Disturbed carnitine regulation in chronic heart failure--increased plasma levels of palmitoyl-carnitine are associated with poor prognosis. In: *International journal of cardiology* 167 (5), S. 1892–1899. DOI: 10.1016/j.ijcard.2012.04.150.
- van Deursen, Vincent M.; Urso, Renato; Laroche, Cecile; Damman, Kevin; Dahlström, Ulf; Tavazzi, Luigi et al. (2014): Co-morbidities in patients with heart failure: an analysis of the European Heart Failure Pilot Survey. In: *European journal of heart failure* 16 (1), S. 103–111. DOI: 10.1002/ejhf.30.
- Wessels, Bart; Ciapaite, Jolita; van den Broek, Nicole M. A.; Nicolay, Klaas; Prompers, Jeanine J. (2014): Metformin impairs mitochondrial function in skeletal muscle of both lean and diabetic rats in a dose-dependent manner. In: *PloS one* 9 (6), e100525. DOI: 10.1371/journal.pone.0100525.

Wojcik, Cezary; Warden, Bruce A. (2019): Mechanisms and Evidence for Heart Failure Benefits from SGLT2 Inhibitors. In: *Current cardiology reports* 21 (10), S. 130. DOI: 10.1007/s11886-019-1219-4.

Zhao, Tian; Zhao, Yinan; Zong, Ailun; Tang, Yadi; Shi, Xiaopeng; Zhou, Yingsheng (2020): Association of body mass index and fasting plasma glucose concentration with post-transplantation diabetes mellitus in Chinese heart transplant recipients. In: *The Journal of international medical research* 48 (3), 300060520910629. DOI: 10.1177/0300060520910629.

Zheng, Dan-meng; An, Zhen-ni; Ge, Ming-hao; Wei, Dong-zhuo; Jiang, Ding-wen; Xing, Xue-jiao et al. (2021): Medium & long-chain acylcarnitine's relation to lipid metabolism as potential predictors for diabetic cardiomyopathy: a metabolomic study. In: *Lipids in Health and Disease* 20 (1), S. 151. DOI: 10.1186/s12944-021-01576-9.

Ziaecian, Boback; Hernandez, Adrian F.; DeVore, Adam D.; Wu, Jingjing; Xu, Haolin; Heidenreich, Paul A. et al. (2019): Long-term outcomes for heart failure patients with and without diabetes: From the Get With The Guidelines-Heart Failure Registry. In: *American heart journal* 211, S. 1–10. DOI: 10.1016/j.ahj.2019.01.006.

Zielińska, Katarzyna; Kukulski, Leszek; Wróbel, Marta; Przybyłowski, Piotr; Zakliczyński, Michał; Strojek, Krzysztof (2020): Prevalence and Risk Factors of New-Onset Diabetes After Transplantation (NODAT). In: *Annals of transplantation* 25, e926556. DOI: 10.12659/AOT.926556.

Zweck, Elric; Scheiber, Daniel; Jelenik, Tomas; Bönner, Florian; Horn, Patrick; Pesta, Dominik et al. (2021): Exposure to Type 2 Diabetes Provokes Mitochondrial Impairment in Apparently Healthy Human Hearts. In: *Diabetes care* 44 (5), e82-e84. DOI: 10.2337/dc20-2255.

Danksagung

Mein Dank gilt meinen Doktoreltern Frau Prof. Dr. med. Julia Szendrödi PhD, Herrn Prof. Dr. med. Ralf Westenfeld, Herrn Prof. Dr. med. Amin Polzin und Herrn Priv.-Doz. Dr. med. Christian Buchbender für die Bereitstellung des Themas, die Betreuung und die Ermöglichung der Fertigstellung der Arbeit.

Mein besonderer Dank gilt Daniel Scheiber, der immer für Fragen zur Verfügung stand und mit seiner engagierten Betreuung einen essenziellen Beitrag zum Gelingen dieses Projektes geleistet hat.

Bedanken möchte ich mich außerdem bei den weiteren Doktoranden dieser Arbeitsgruppe Elric Zweck, Sophie Albermann, Julius Borger, Martin Leung und Maximilian Karschnia für die gute Zusammenarbeit in der Datenerhebung, den fachlichen Austausch und die gegenseitige Unterstützung.

Den Mitarbeitern des Deutschen Diabetes Zentrums und der Klinik für Kardiologie, Pneumologie und Angiologie danke ich für die Mithilfe in der Erhebung der Daten und viele hilfreiche Anregungen.

Ich danke Herrn Prof. Dr. med. Malte Kelm und Herrn Prof. Dr. med. Michael Roden für die Ermöglichung der Durchführung des Projektes.

Ich bedanke mich bei Marko Rieke für seine motivierenden Worte und bei Anna-Lena Schulz für einige wertvolle Hinweise beim Korrekturlesen. Meinen Großeltern Erika und Walter danke ich dafür, dass sie mir mein Leben lang immer unterstützend zur Seite gestanden haben.

Mein wichtigster Dank gilt meinen Eltern, deren bedingungslose Unterstützung und Motivation mich da hin gebracht hat, wo ich heute bin.