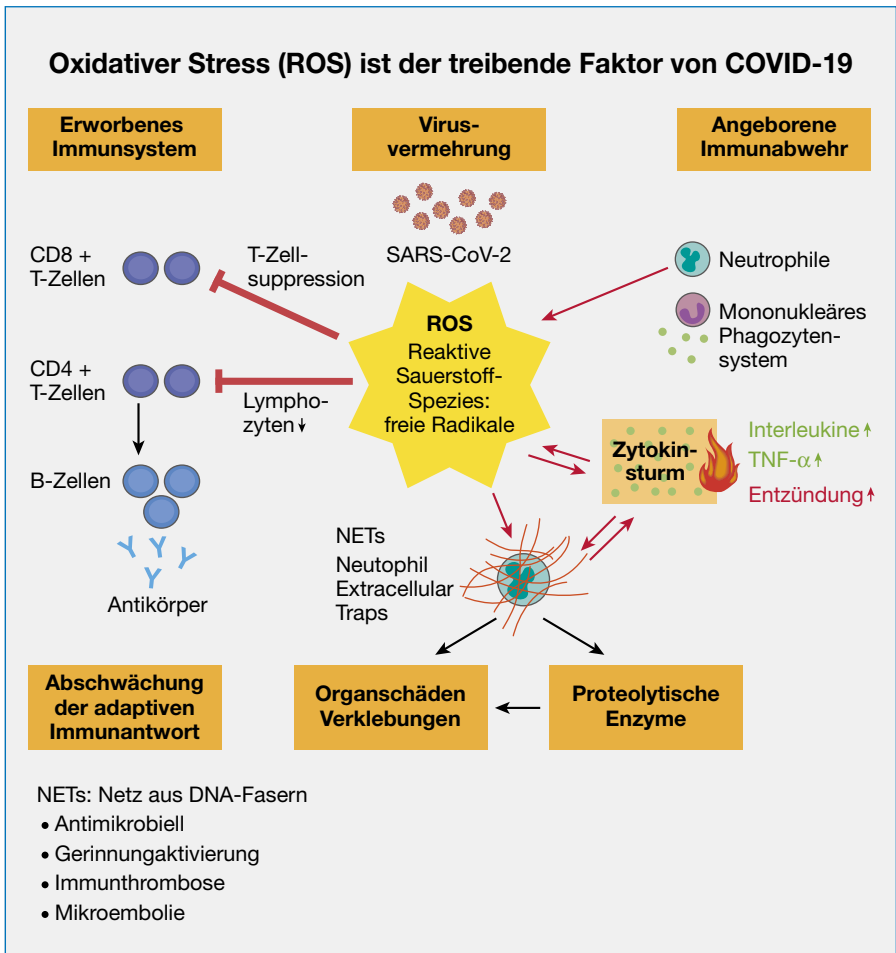




## 10 Long-COVID – Zwischen Endothelopathie mit Koagulopathie und mitochondrialer Dysfunktion

Long-COVID bzw. Post-COVID ist mit substanzieller Morbidität und relevanten Konsequenzen für das Gesundheitssystem assoziiert. Für Erwachsene, Jugendliche und Kinder scheint Long-COVID also nicht weniger belastend zu sein als die akute COVID-19-Erkrankung. Obwohl die individuellen Risiken für die meisten Spätfolgen gering sind, können die gesundheitlichen und sozialen Konsequenzen aufgrund des Ausmaßes der Pandemie sowie der Tatsache, dass viele dieser Erkrankungen chronisch sind, beträchtlich sein. Um effektive Monitoring- und Therapieverfahren zu etablieren, ist ein tieferes Verständnis über die genauen Pathomechanismen entscheidend. International schätzen Kliniker und Wissenschaftler zunehmend Long-COVID als Endothelopathie mit generalisierter Endothelentzündung sowie mikro- und makrovaskulären Störungen als treibende Pathomechanismen für die Entstehung der postviralen Komplikationen ein. Reaktive Sauerstoffspezies (ROS) stehen dabei im Mittelpunkt • Abb. 10.1.



• **Abb. 10.1** ROS führen bei COVID-19 zu verschiedenen pathologischen Effekten.

## 10.1 Endothelopathie

Das vaskuläre Endothel ist neben dem respiratorischen Epithel das am stärksten von SARS-CoV-2 betroffene Organ. Das Gefäßendothel ist bekanntlich das größte Organ des menschlichen Körpers. Bei einem Durchschnittsgewicht von 70 kg umfasst letzteres eine Fläche von etwa sechs Tennisplätzen und ist mit einer Masse von 1,8 kg sogar schwerer als die Leber. Morphologisch imponieren die Endothelläsionen durch eine generalisierte Endothelentzündung mit deut-

lichen Zeichen von Apoptose. Die endotheliale Dysfunktion ist mit einer Vaskokonstriktion assoziiert und führt damit zu einer reduzierten Blutversorgung der betroffenen Organe (z. B. Lunge, Myokard, Niere). Aufgrund der strategisch wichtigen Lage zwischen Blut und glatten Gefäßmuskelzellen, hat das Gefäßendothel eine große Bedeutung bei der Modulierung des Gefäßtonus, des Gefäßwachstums sowie der Thrombozytenaggregation und Monozytenadhäsion. Das Gefäßendothel spielt zudem eine komplexe Rolle bei der Regulierung des Immunsystems (→ Homing, Lymphgefäße, T-Zell-vermittelte Immunität, VCAM-1) sowie der inflammatorischen Antwort. Letztendlich ist die durch proinflammatorische Zytokine induzierte endotheliale Dysfunktion gekennzeichnet durch das Auftreten von Immunothrombosen in mikro- und makrovaskulären Systemen begleitet von atherothrombotischen Komplikationen (z. B. Beinvenenthrombose, pulmonale Embolie).

Als Folge der vaskulären Läsionen können auch zirkulierende Endothelzellen (CEC) ins Blut übergehen. Bei schweren Verläufen von COVID-19 mit oder ohne Nierenschädigung konnte man eine erhöhte Anzahl an CEC nachweisen. Obwohl CEC normalerweise nur in geringen Mengen im peripheren Blut vorkommen, gelten sie als valider Biomarker für das Ausmaß der Endothelschäden, die mit einer Vielzahl von kardiopulmonalen Erkrankungen wie Herzinsuffizienz, Lungenembolie, Myokardinfarkt oder Schlaganfall assoziiert sind. Als Zeichen für eine proinflammatorisch geprägte Stoffwechsellage im Sinne einer *Silent Inflammation* können auch die Blutspiegel an Entzündungsmediatoren wie hoch-sensitivem C-reaktivem Protein (hsCRP), dem proinflammatorischen Interleukinen (z. B. IL-1 $\beta$ , IL-6), dem Schlüsselzytokin TNF $\alpha$  und 3-Nitrotyrosin (→ Nitrostress) erhöht sein. Störungen im Stoffwechsel der Aminosäure L-Tryptophan können als Hinweis auf einen Serotoninmangel bei neuropsychiatrischen Komplikationen wie der Depressions-Fatigue-Symptomatik vorliegen. Hemmt man beispielsweise den Einfluss des TNF $\alpha$  im ZNS kann man die Zeichen einer Neuroinflammation wie Schmerzempfindlichkeit als auch die psychischen Veränderungen (z. B. Abgeschlagenheit, Müdigkeit, Schlaflosigkeit, depressive Verstimmungen), die bei der Long-COVID-Fatigue vermehrt auftreten, günstig beeinflussen.

Mittlerweile wird COVID-19 als Multisystemerkrankung betrachtet, die besonders bei schweren Verläufen mit einer Dysregulation des Immunsystems und Hyperkoagulation einhergeht. Die Immunothrombose, die in diesen Fällen auftritt, stellt auch eine Verbindung zwischen dem angeborenen Immunsystem und Koagulationssystem dar. Ein nach der Genesung persistierender überaktiver Zustand des Immunsystems könnte auch ein Hauptgrund sein für das Auftreten einer endothelialen Dysfunktion nach einer COVID-19-Erkrankung.

Wissenschaftler schätzen daher zunehmend die mit COVID-19 assoziierte generalisierte Endothelentzündung gepaart mit einer endothelialen Dysfunktion als zentrale Noxe ein, die maßgeblich für postvirale Komplikationen wie Long-COVID verantwortlich sind. Auch Long-COVID imponiert insofern als Multisystemerkrankung mit endothelialer Dysfunktion und Dysregulation des Immunsystems.

## 10.2 Virale Störung der Mitochondrienfunktion und mitochondriale Dysfunktion: Long-COVID – eine Mitochondriopathie?

Eine Störung der mitochondrialen Aktivität in Zellen des Endothels dürfte eine zentrale Rolle in der Pathogenese von COVID-19 als auch von Long-COVID spielen. Modifikationen in der Morphologie und Funktion der Mitochondrien führen zu zahlreichen Störungen und Erkrankungen. Aufmerksam wurde man auf diese Gruppe von Erkrankungen durch die Entdeckung von Myopathien mit morphologisch veränderten Mitochondrien. Mitochondriale Erkrankungen, die sogenannten Mitochondriopathien, stellen in der Regel heterogene Multisystemerkrankungen dar, die mit einer Störung der oxidativen Phosphorylierung assoziiert sind. Diese sind angeboren oder erworben. Ursächlich können sowohl Veränderungen in der mitochondrialen (*mtDNA*) wie auch nukleären DNA sein. Charakteristische Symptome sind unter anderem endokrine, immunologische, metabolische, muskuläre, neurologische sowie kardiopulmonale und vaskuläre Beschwerden. Auch Riech-, Hör- und/oder Sehstörungen (z. B. Augenbewegungsstörungen) können auftreten. In der Regel sind mehrere Organsysteme betroffen, vor allem das Zentralnervensystem, die Sinnesorgane (z. B. Riechen), die Leber, die Nieren, das Pankreas sowie die Herz- und Skelettmuskulatur.

Unter den mitochondrialen Erkrankungen ist die krankheitsbedingte Störung der oxidativen Phosphorylierung als potentieller Risikofaktor für einen schwereren Verlauf von COVID-19 zu diskutieren. Im Rahmen systemischer inflammatorischer Prozesse kann sich bei bereits beeinträchtigter Atmungskettenfunktion rasch eine metabolische Dekompensation entwickeln. Viren, wie SARS-CoV-2, können zentrale mitochondriale Funktionen beeinflussen und die Zellmaschinerie zugunsten viraler Proliferation manipulieren. Unter anderem sind Effekte auf Autophagie, Mitophagie und diverse Regulationsstörungen mitochondrialer Proteine beschrieben. Das SARS-CoV-2-Virus kann durch spezifische Gensequenzen (z. B. ORF9) eine mitochondrial getriggerte Störung

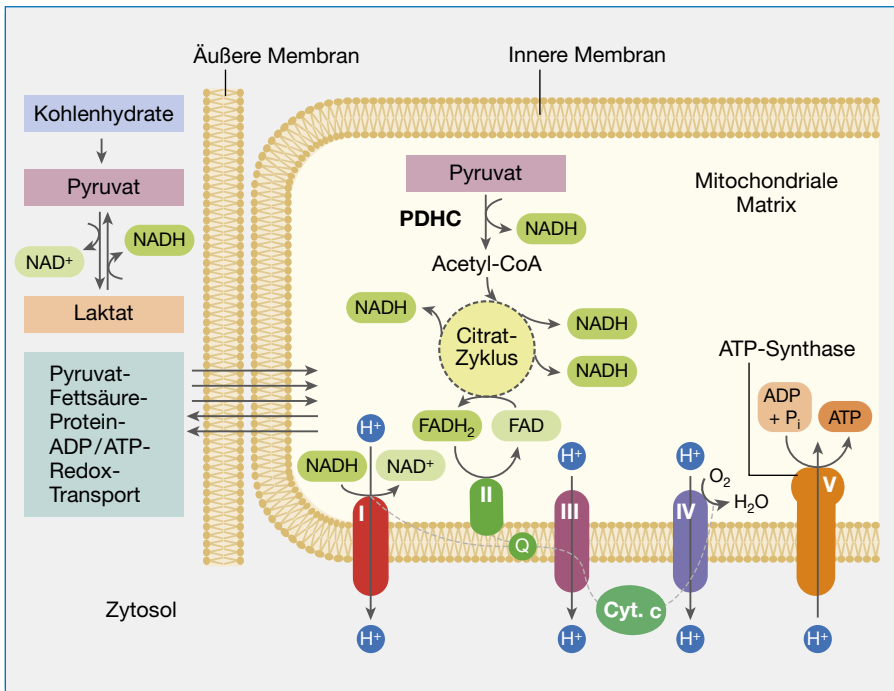
der angeborenen Immunität sowie der antiviralen Signalwege und mitochondrialen Dynamik auslösen. Nach den Ergebnissen von bioinformatischen Analysen ist eine Down-Regulation mitochondrialer Proteine durch SARS-CoV-2 wahrscheinlich. Ob eine Störung der oxidativen Phosphorylierung generell eine Prädisposition für einen schweren COVID-19- und Long-COVID-Verlauf darstellt, ist bisher noch nicht geklärt.

## Mitochondrien: Aufbau und Funktion

Mitochondrien sind ubiquitär vorkommende Zellorganellen mit einer Phospholipid-Doppelmembran. Außer in Erythrozyten kommen Mitochondrien in allen Zellen des menschlichen Körpers vor. Thrombozyten besitzen zwar keinen Zellkern, sind aber von einer Zellmembran umgeben und enthalten im Zytoplasma Mitochondrien mit den mitochondrialen Atmungskettenkomplexen für die effiziente Bildung von ATP. Es wird vermutet, dass nicht nur die Dysfunktion der intrazellulären Mitochondrien als Folge der COVID-19 Infektion von pathophysiologischer Bedeutung ist, sondern auch die Störung der extrazellulären Mitochondrien die eine zentrale Rolle spielen in Bezug auf Koagulopathien wie gesteigerte Blutgerinnung, Blutgerinnsel und Anfälligkeit für Thrombosen.

Nach der Endosymbiotentheorie sind Eukaryoten aus einer Endosymbiose prokaryotischer Vorläuferorganismen hervorgegangen. Dabei sind chemo- und phototrophe Bakterien von Urbakterien (Archaeobakterien) aufgenommen worden, in denen sie sich zu Zellorganellen ihrer Wirtszellen entwickelt haben, darunter auch die Mitochondrien. Demnach sollen die Zellorganellen der Mitochondrien von Bakterien der Gattung *Rickettsia* abstammen. Reife Eizellen weisen mit 100.000 bis 600.000 ( $1 \times 10^5$  bis  $6 \times 10^5$ ) die höchste Mitochondriendichte aller Körperzellen auf. Vor der Befruchtung befinden sich die Mitochondrien in einem Ruhestadium, um unmittelbar nach der Befruchtung den hohen Energiebedarf der schnell wachsenden Zellen zu decken. Mitochondrien sind aber nicht nur intrazelluläre Organellen, sondern es finden sich auch sehr viele zellfreie intakte Mitochondrien im Blutplasma. Vor kurzem konnte man erstmals nachweisen, dass sich in 1 ml Blutplasma von Gesunden zwischen 200.000 bis 3,7 Millionen Mitochondrien befinden. Diese Tatsache lässt nur erahnen, welches enorme Ausmaß eine Störung der mitochondrialen Funktion für den menschlichen Körper und Immunmetabolismus hat.

Mitochondrien bestehen aus einer Zellmatrix, die durch eine Phospholipid-Doppelmembran begrenzt wird. Die mitochondriale Matrix enthält unter anderem den Pyruvat-Dehydrogenase-(PDH)-Komplex sowie die Enzyme der Beta-



• **Abb. 10.2** In Mitochondrien spielen sich verschiedene Stoffwechselfunktionen ab.

Oxidation und des Citrat-Zyklus. Die primäre Aufgabe der Mitochondrien ist die Produktion von zellulärer Energie in Form von ATP aus der Verwertung von Pyruvat (→ Proteine, Kohlenhydrate) und/oder aus der Beta-Oxidation von Fettsäuren. Gemeinsame Endstrecke dieser Stoffwechselprozesse ist der Citrat-Zyklus und schließlich die mitochondriale Atmungskette. Die dabei freigesetzte Energie wird im Rahmen der oxidativen Phosphorylierung als ATP gespeichert

• **Abb. 10.2.**

Neben der fundamentalen Bedeutung bei der zellulären Energiebereitstellung in Form von ATP sind Mitochondrien auch äußerst dynamische Zellorganellen, die intrazellulär Netzwerkstrukturen ausbilden und permanent morphologischen Veränderungen (z. B. Fission, Fusion) unterliegen. Diese Prozesse spielen u. a. eine zentrale Rolle bei der Regulation des Immunsystems, der Apoptose sowie der Vervielfältigung von Nukleinsäure-Molekülen (→ Reduplikation).

Mitochondrien spielen neben der Produktion von ATP auch eine Schlüsselrolle bei der:



- Regulierung der angeborenen und adaptiven Immunität,
- Aufrechterhaltung der zelluläre Kalzium ( $\text{Ca}^{2+}$ )-Homöostase,
- Bildung von Harnsäure, Phospholipiden und Pyrimidinen,
- Temperatur-Regulation im Körper durch mitochondriale Entkopplung sowie
- Synthese von Neurotransmittern, Steroidhormonen, Aminosäuren und Vitamin B<sub>9</sub> (Folsäure).

### Die mitochondriale DNA

Mitochondrien besitzen als einzige eukaryotische Zellorganelle eine eigene genetische Information, welche in der mitochondrialen DNA (*mtDNA*) kodiert ist. Die *mtDNA* ist in der mitochondrialen Matrix lokalisiert. Die *mtDNA* kodiert für eine kleine Anzahl an mitochondrialen Proteinen und mitochondrialer RNA (z. B. 13 Proteine der mitochondrialen Atmungskette). Von radikal-induzierten Schäden sind vor allem der Komplex I und IV betroffen, da diese überwiegend von der *mtDNA* codiert werden. Allerdings wird der Großteil der etwa 1.500 mitochondrialen Proteine durch die nukleäre DNA kodiert und in das Mitochondrium importiert. Zwischen der Gen-Aktivierung des Zellkerns und der zirkulären *mtDNA* besteht eine intensive bidirektionale Kommunikation.

Aktuell konnte im Blutplasma von Gesunden erstmals gegenüber dem nukleären Genom etwa 50.000-fach mehr Kopien an mitochondrialem Genom nachgewiesen werden. Das mitochondriale Genom ist etwa 10× anfälliger für Mutationen als das nukleäre Genom. Die *mtDNA* ist besonders vulnerabel für oxidative Schäden aufgrund der hohen Belastung mit ROS in den Mitochondrien und den ineffizienteren DNA-Reparaturmechanismen aufgrund fehlender Introns und schützender Histone. Oxidative Schäden an der *mtDNA* sind aus diesem Grund sehr viel stärker ausgeprägt als bei nukleärer DNA.

### Die mitochondriale Atmungskette

Die mitochondriale Produktion von ATP ist der wesentliche Mechanismus der zellulären Energiegewinnung. An der inneren Membran der Mitochondrien befinden sich die vier Multienzymkomplexe, die sogenannte Elektronentransportkette (ETK):

- Komplex I: NADH-Ubiquinon-Oxidoreduktase,
- Komplex II: Succinat-Ubiquinon-Oxidoreduktase,
- Komplex III: Ubiquinol-Cytochrom-c-Oxidoreduktase und
- Komplex IV: Cytochrom-c-Oxidase.

Diese können die Elektronendonatoren NADH und FADH<sub>2</sub> oxidieren. Dabei werden Elektronen schrittweise auf Coenzym Q<sub>10</sub>, Cytochrom c und elementarem Sauerstoff übertragen, der schließlich zu H<sub>2</sub>O reduziert. Der Elektronentransfer führt zur Translokation von Protonen aus der mitochondrialen Matrix in den Intermembranraum und damit zum Aufbau eines elektrochemischen Gradienten über die innere mitochondriale Membran. Dieser wird über die magnesiumabhängige ATP-Synthase (Komplex V) zur Produktion von ATP aus ADP benutzt.

### Die mitochondriale Doppelmembran

Im Gegensatz zu eukaryotischen Zellen besitzen Mitochondrien zwei Membranen, eine äußere und innere Membran, die sich in der Zusammensetzung der Phospholipide unterscheiden. Die Lipiddoppelschicht der Mitochondrien enthält viele mehrfach ungesättigte Fettsäuren (PUFA). Darunter ist das Phospholipid Cardiolipin eines der wichtigsten. Die *äußere* Membran ist vor allem durch eine Vielzahl an Porinen gekennzeichnet, die eine Art Sieb darstellen und die Permeabilität für Moleküle begrenzen. Die *innere* Membran ist reich an Fettsäuren und besitzt viele Transportproteine, die es ermöglichen, Substrate, die für den mitochondrialen Stoffwechsel essenziell sind, in die mitochondriale Matrix einzuschleusen (z. B. CPT I, CPT II). Die innere Membran hat auch Einfluss auf die Komplexe der mitochondrialen Atmungskette. Die Oberfläche der inneren Membran wird durch Cristae (Auffaltungen) und Tubuli (Einstülpungen) um ein Vielfaches vergrößert.

Cardiolipin ist ein Phospholipid mit vier ungesättigten Fettsäuren. Es bildet die Hauptkomponente der inneren Mitochondrienmembran und ist von elementarer Bedeutung für die Integrität der Zellkraftwerke. Das Phospholipid dient der Membranorganisation in die typische Cristae-Struktur sowie der Struktur der Atmungskettenkomplexe (z. B. Komplex I). Weiterhin vermittelt es die Verankerung von Cytochrom c in der Membran und gewährleistet somit den Elektronentransfer von Komplex III auf den Komplex IV der mitochondrialen Atmungskette. Aufgrund seines hohen Gehalts an mehrfach ungesättigten Fettsäuren ist Cardiolipin besonders vulnerabel gegenüber der Lipidperoxidation durch mtROS. Eine oxidative Schädigung des Cardiolipins führt zu einer Reduktion der mitochondrialen ATP-Produktion und des mitochondrialen Membranpotenzials. Durch Öffnung von Poren wird in der Folge die Membranpermeabilität für Kalzium (Ca<sup>2+</sup>)-Ionen erhöht. Dies führt zum Ausstrom von Cytochrom c aus den Mitochondrien, triggert Kaskaden der Apoptose und führt somit zum Zelluntergang. Bemerkenswerterweise sind bei kritisch kranken COVID-19-Patienten mit Koagulopathie und Thrombozytopenie erhöhte



Werte an Antikörpern gegen Cardiolipin im Blutserum nachweisbar. Der Nachweis kann als ein Hinweis einer oxidativen Beeinträchtigung der Mitochondrienfunktion sein, die im Rahmen der COVID-19 Pathogenese auftritt.

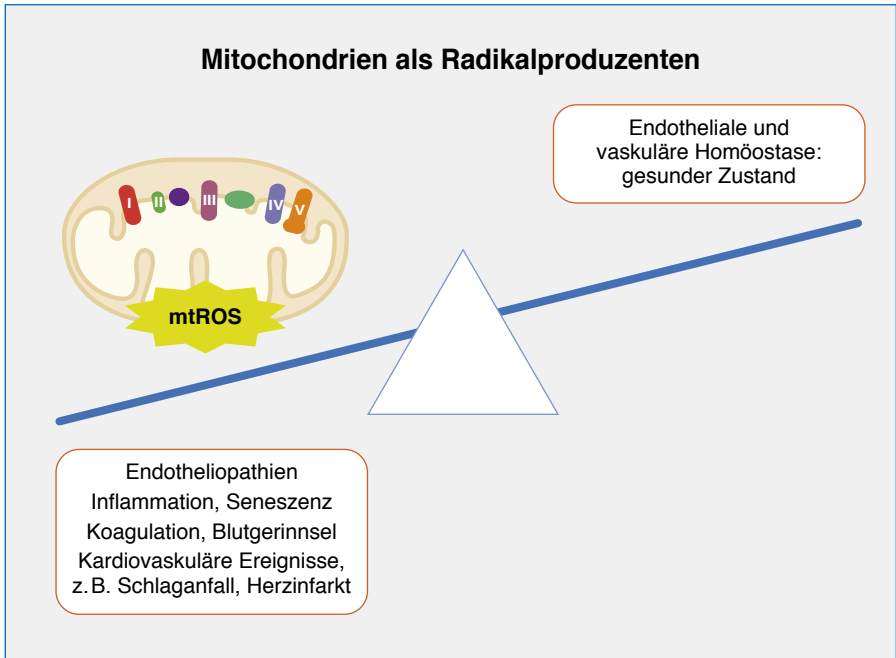
### *Das mitochondriale Membranpotenzial $\Delta\psi_m$*

In der mitochondrialen Atmungskette werden somit Protonen und Elektronen, die bei der Oxidation von Glucose und Fettsäuren entstehen, durch Multienzymkomplexe unter der Bildung von  $H_2O$  auf Sauerstoff übertragen. Der Elektronenfluss zwischen diesen Transmembrankomplexen führt zu einer Translokation von Protonen in die innere Membran. Das hierdurch entstehende elektrochemische Potenzial wird dazu genutzt, mit Hilfe der ATP-Synthase die Zellenergie zu generieren. Die Arbeit der mitochondrialen Atmungskettenkomplexe lässt unter physiologischen Bedingungen einen elektrochemischen Gradienten von etwa -150 bis -180 mV über die innere mitochondriale Membran entstehen. Die erhöhte Anzahl an Protonen löst also nicht nur eine chemische Veränderung des pH-Wertes aus, sondern führt auch durch die positive Ladung der Protonen zu einem elektrischen Potenzial, dem sogenannten mitochondrialen Membranpotenzial ( $\Delta\psi_m$ ). Die Stärke des mitochondrialen Membranpotenzials wird unter anderen von den Konzentrationen an oxidierten und reduzierten Nukleotiden NADH/NAD, der Anzahl an reaktiven Sauerstoffspezies (ROS) sowie dem Verhältnis von reduziertem L-Glutathion (GSH) zu seiner oxidierten Form Glutathion-Disulfid (GSSG) beeinflusst.

Neben der Funktion im Rahmen der zellulären Energiegewinnung ist  $\Delta\psi_m$  auch für weitere physiologische Aufgaben wichtig. So sind zum Beispiel Prozesse der Apoptose an  $\Delta\psi_m$  gekoppelt. Eine Abnahme des  $\Delta\psi_m$  führt zur Auffaltung der Cristae und Kondensation der mitochondrialen Matrix, die durch die Freisetzung von Cytochrom c aus dem mitochondrialen Intermembranraum Apoptosesignalwege aktivieren. Darüber hinaus hat die Hyperpolarisation des  $\Delta\psi_m$  auch Einfluss auf die Aktivität von Immunzellen und Signalkaskaden der angeborenen und adaptiven Immunität.

### *Einfluss der Mitochondrien auf die antivirale Immunantwort*

Für Wachstum und Ausübung ihrer Funktionen brauchen Immunzellen vor allem Energie. Seit den 1970er-Jahren ist beispielsweise die metabolische Reprogrammierung von Makrophagen während einer Immunreaktion bekannt. Aktivierte Makrophagen nutzen dabei die aerobe Glykolyse zur Bildung von ATP (Warburg-Effekt). Die mitochondriale Integrität spielt insofern eine zentrale Rolle im Rahmen der antiviralen Immunantwort sowie bei der Regulierung



• **Abb. 10.3** Zu viel *mtROS* führt zu Erkrankungen.

metabolischer Stoffwechselwege von Immunzellen. Über spezielle Mechanismen (z. B. MAVS) können Mitochondrien die metabolische Aktivität und Funktion von Zellen der angeborenen und adaptiven Immunantwort modulieren. Die angeborene Immunität und die damit assoziierten Entzündungsreaktionen werden vor allem durch die mitochondriale Dynamik reguliert. Eine mitochondriale Dysfunktion kann beispielsweise die Aktivierung des NLRP3-Inflammasoms durch Immunzellen auslösen. Der durch SARS-CoV-2-induzierte Anstieg der *mtROS*-Bildung (→ mitochondriale Dysfunktion) wirkt pro-seneszent und proinflammatorisch mit seinen vielfältigen Auswirkungen auf Endothelzellen und Organe • Abb. 10.3. In Bezug auf virale Infektionen wie COVID-19 werden verschiedene Mechanismen, die zur mitochondrialen Dysfunktion beitragen können, diskutiert.

### Das antivirale Signalprotein MAVS

Die äußere Membran der Mitochondrien enthält ein Mitochondriales Antivirales Signalprotein (MAVS), welches für die antivirale angeborene Immunität essenziell ist. MAVS wird durch das Retinsäure induzierbare Gen I (RIG-I) akti-