

Aus dem  
Charité Centrum für Herz-, Kreislauf- und Gefäßmedizin  
Klinik für Kardiologie – Campus Virchow-Klinikum  
Direktor: Professor Dr. Burkert Pieske

## **Habilitationsschrift**

# **Pathophysiologie und therapeutische Modulation der T-Helferzellenfunktion bei der Herzinsuffizienz**

zur Erlangung der Lehrbefähigung  
für das Fach Innere Medizin und Kardiologie

vorgelegt dem Fakultätsrat der Medizinischen Fakultät  
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Dr. med. Konstantinos Savvatis  
geboren in Thessaloniki

Eingereicht: Januar 2015  
Dekan: Prof. Dr. Axel R. Pries  
1. Gutachter: Prof. Dr. Ulrich Laufs  
2. Gutachter: Prof. Dr. Stefan Störk

# Inhaltsverzeichnis

<b>Abkürzungsverzeichnis</b>	<b>3</b>
<b>1 Einleitung</b>	<b>4</b>
Pathophysiologie der Herzinsuffizienz . . . . .	4
Aktuelle Therapie . . . . .	5
Inflammation bei der Herzinsuffizienz . . . . .	6
Anti-inflammatorische Ansätze bei der Herzinsuffizienz . . . . .	7
T-Helferzellen bei der Herzinsuffizienz . . . . .	8
Fragestellung und Zielsetzung . . . . .	8
<b>2 Ergebnisse – Eigene Arbeiten</b>	<b>10</b>
Rolle der CD4+ und CD8+ Zellen in der Pathogenese der inflammatorischen Kardiomyopathie . . . . .	10
Anti-inflammatorische Rolle der regulatorischen T-Zellen bei der myokardialen Immunantwort . . . . .	23
Interleukin-6 als zentraler Mediator der Th17-Reaktion bei der Myokarditis . . . . .	40
Effekte der Th1- und Th17-Reaktion auf die Wundheilung bei der ischämischen Kardiomyopathie . . . . .	55
Effekte des IL-2 und der regulatorischen T-Zellen in der ischämischen Kardiomyopathie . . . . .	68
<b>3 Diskussion</b>	<b>75</b>
<b>4 Zusammenfassung</b>	<b>82</b>
<b>5 Literaturverzeichnis</b>	<b>84</b>
<b>6 Danksagung</b>	<b>94</b>
<b>7 Erklärung</b>	<b>95</b>

# Abkürzungsverzeichnis

$\alpha$ -SMA	“ $\alpha$ -smooth muscle actin”
TNF- $\alpha$	“Tumor necrosis factor- $\alpha$ ”
CVB3	Coxsackievirus B3
DCM	Dilatative Kardiomyopathie
EF	Ejektionsfraktion
HFpEF	Herzinsuffizienz mit erhaltener EF (“Heart failure with preserved EF”)
HFrEF	Herzinsuffizienz mit reduzierter EF (“Heart failure with reduced EF”)
ICAM	“intercellular adhesion molecule”
ICM	Ischämische Kardiomyopathie
IDO	Indolamin-2,3-Dioxygenase
IFN	Interferon
IL	Interleukin
LV	linker Ventrikel/ linksventrikulär
MCP	“monocyte chemotactic protein”
MIP	“macrophage inflammatory protein”
MSC	Mesenchymale Stromazelle
NO	Stickstoffmonoxid
RAAS	Renin-Angiotensin-Aldosteron-System
TGF- $\beta$	“transforming growth factor- $\beta$ ”
Treg	regulatorische T-Zelle
VCAM	“vascular cell adhesion molecule”

# Einleitung

Die Herzinsuffizienz gehört zu den häufigsten Erkrankungen weltweit und betrifft sowohl die westliche Welt, als auch zunehmend die Entwicklungsländer<sup>37,69</sup>. Die Anzahl der Menschen, die an Herzinsuffizienz leiden, wird aktuell auf 38 Millionen weltweit geschätzt<sup>32</sup>. Die Prävalenz der Herzinsuffizienz steigt kontinuierlich an und wird in der Zukunft aufgrund der Überalterung der Bevölkerung und der Zunahme traditioneller Risikofaktoren, wie die arterielle Hypertonie, der Diabetes mellitus, die Adipositas und der Nikotinabusus, noch weiter ansteigen. Ferner, durch die Fortschritte der modernen Medizin, überleben zunehmend mehr Patienten mit Herzinfarkt oder akute Herzinsuffizienz, die in eine chronische Form zu übergehen.

Die Herzinsuffizienz ist mit einer hohen Morbidität und Mortalität assoziiert und stellt die häufigste Ursache einer Krankenhauseinweisung bei Patienten über 65 Jahre in der westlichen Welt dar<sup>6,60</sup>. Die 5-Jahres-Überlebensrate der fortgeschrittenen Herzinsuffizienz ist vergleichbar oder sogar ungünstiger als die einer Krebserkrankung<sup>42</sup>.

Die häufigste Ursache der Herzinsuffizienz ist der Myokardinfarkt und die ischämische Kardiomyopathie, welche für ca. 50% der Patienten mit Herzinsuffizienz verantwortlich sind. Die dilatative Kardiomyopathie (DCM) ist die zweithäufigste Ursache, verantwortlich für ein weiteres 30% der Herzinsuffizienz-Fälle<sup>4,23</sup>. Die virale inflammatorische Kardiomyopathie gehört zu den häufigsten Ursachen der DCM, vor allem bei jungen Patienten und Kleinkindern, und ist eine der wichtigsten Todesursachen bei Sportlern.

## Pathophysiologie der Herzinsuffizienz

Die Herzinsuffizienz kann anhand der linksventrikulären (LV) Ejektionsfraktion (EF) in zwei großen Gruppen aufgeteilt werden, die Herzinsuffizienz mit eingeschränkter EF (HFrEF) – in den meisten Studien < 45% – und die Herzinsuffizienz mit erhaltener EF (HFpEF) – > 45%<sup>36</sup>. Diese Aufteilung hat eine große Bedeutung sowohl für die Ursachen und Mechanismen der entsprechenden Herzinsuffizienzgruppen als auch für die Therapie.

In der Pathophysiologie der Herzinsuffizienz sind unterschiedliche Mechanismen involviert. Bei der HFrEF ist der häufigste initiale Mechanismus der Verlust einer großen Anzahl von Kardiomyozyten wie bei einem akuten Myokardinfarkt, so dass es zu einem mechanischen Pumpversagen kommt. Auch Dysfunktion der Kardiomyozyten durch Entzündung, wie zum Beispiel durch eine virale Myokarditis, kann zu einem Pumpversagen durch Verlust der normalen Kardiomyozytenfunktion kommen. Bei der HFpEF handelt es sich im Gegensatz hierzu nicht um einen Zellverlust, sondern hauptsächlich um eine diastolische Dysfunktion des Herzens, induziert entweder durch eine Zellhypertrophie, eine Zelldysfunktion (z.B. im Rahmen einer Ischämie oder eines entzündlichen Prozesses wie die virale Myokarditis) oder eine erhöhte Ablagerung von strukturellen Proteinen in der extrazellulären Matrix. Als Folge kommt es zu einer erhöhten Steifigkeit des LV und diastolischen Dysfunktion<sup>8</sup>.

Als Antwort auf diese initialen Noxen werden diverse, für die reduzierte Herzaktion kompensierende, Mechanismen aktiviert. Dazu gehören Veränderungen der extrazellulären Matrix im Sinne einer Austauschfibrose in den ehemaligen Regionen, wo sich vorher Kardiomyozyten befanden<sup>17</sup>. Ferner, kommt es zu einer systemischen neurohumoralen Aktivierung. Die zwei wichtigsten Kaskadensysteme die aktiviert werden sind das Renin-Angiotensin-Aldosteron-System (RAAS) und das adrenerge System<sup>5,7</sup>. Auch auf Zellebene finden wichtige Veränderungen statt, hauptsächlich im Kalziumhaushalt, welcher wichtig für den Kontraktionsmechanismus der Kardiomyozyten ist. Veränderungen der RyR2-Rezeptoren oder der Funktion der SERCA2a-Kalziumpumpe führen zu einer reduzierten intrazellulären Kalziumkonzentration und gestörten systolischen Funktion<sup>10,46</sup>. Diese Mechanismen resultieren zu einer Dilatation des Herzens, die somit über einen variablen Zeitraum für die reduzierte Herzfunktion kompensieren kann. Dieser Prozeß ist als kardiales Remodelling bekannt. Somit wird ein neues, zunächst stabiles, Gleichgewicht erreicht. Die kompensatorischen Mechanismen sind als solche auch schädlich und führen zu weiteren Veränderungen im Herzen mit progressivem Verlust von Kardiomyozyten und adversen Umbau der extrazellulären Matrix. Das Herz kann nicht mehr den Bedarf des Körpers decken und es kommt zum terminellen Stadium der Herzinsuffizienz.

## Aktuelle Therapie

Die Therapie der Herzinsuffizienz basiert auf Blockierung der unterschiedlichen Signaltransduktionswege, die kompensatorisch aktiviert werden. Somit wird eine weitere Progression der Herzinsuffizienz verlangsamt. Die wichtigsten medikamentösen Interventionen führen zu einer Blockierung des RAAS und der  $\beta$ -adrenergen Rezeptoren und haben eine deutliche Verbesserung der Prognose bei Patienten mit einer HFrEF gebracht. Eine symptomatische Therapie durch Diuretika erreichte eine Stimulation der Nieren, die dadurch das übermäßige Wasser aus

dem Körper entfernen. Diuretika haben allerdings im Allgemeinen keinen Effekt auf die Prognose der Erkrankung. Die Implantation eines internen Defibrillators und eines biventrikulären Schrittmachers sind zwei weitere therapeutische Alternativen für Patienten mit HFrEF, die in randomisierten Studien einen signifikanten prognostischen Effekt haben<sup>36</sup>.

Obwohl die aktuellen Therapieoptionen das Gesamtüberleben verbessern können, kann die Heilungsrate nicht beeinflusst werden, sondern nur den Progress verlangsamen. Ferner, konnten in den letzten 30 Jahren keine neuen Schritte in der Therapie erreicht werden. Interessanterweise haben alle vorhandenen multizentrisch randomisierten Studien keinen positiven prognostischen Effekt der vorhandenen Medikamente bei Patienten mit einer HFpEF beweisen und etablieren können<sup>8</sup>. Dies hat zur Folge, dass für ca. 30-40% der Patienten mit Herzinsuffizienz keine adäquate Therapiemöglichkeit besteht. Diese Fakten weisen auf die Existenz anderer pathogenetischer Mechanismen hin, die durch die aktuell vorhandenen Therapien nicht modifiziert werden können und unterstreichen die Notwendigkeit weiterer Forschung für die Entwicklung innovativer Therapieoptionen.

## Inflammation bei der Herzinsuffizienz

Die Rolle der Inflammation in der Pathophysiologie der Herzinsuffizienz zieht immer mehr Interesse in den letzten Jahren an. Es gibt aktuell viele Daten, welche auf eine entscheidende Rolle der systemischen und myokardialen Immunantwort auf die Prognose der Herzinsuffizienz hinweisen<sup>26</sup>. Das Immunsystem wird in der Herzinsuffizienz aktiviert<sup>67</sup>. Zytokine wie TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  und IL-6, und Chemokine, wie MCP-1, IL-8 und MIP-1 $\alpha$ , sind bei Patienten mit chronischer Herzinsuffizienz erhöht<sup>1-3</sup>. Ferner, korreliert die Konzentration proinflammatorischer Zytokine im Blut mit dem Schweregrad der Erkrankung oder mit einem weiteren Progress der Herzinsuffizienz<sup>54</sup>. In der SOLVD-Studie (Studies On Left Ventricular Dysfunction) hatten Patienten mit einem TNF- $\alpha$ -Blutspiegel < 6.5 pg/ml eine bessere Prognose als Patienten mit höherem Spiegel<sup>57</sup>. In der VEST-Studie (VESnarinone Trial) war der Blutspiegel von proinflammatorischen Zytokinen und ihren Rezeptoren unabhängiger Prädiktor für die Mortalität der Patienten mit fortgeschrittener Herzinsuffizienz<sup>12</sup>. Neben der systemischen Immunantwort wird das Immunsystem auch lokal im Herzen aktiviert und scheint wesentlich mit einer Progression der Herzinsuffizienz assoziiert zu sein. Unsere Arbeitsgruppe konnte zeigen, dass bei Patienten mit DCM in der endomyokardialen Biopsie eine erhöhte Expression von Adhäsionsmolekülen, wie VCAM und ICAM, als auch proinflammatorische Zellen gefunden werden können und dies mit dem Schweregrad der Erkrankung korreliert<sup>29</sup>.

Die inflammatorische Antwort bei der Herzinsuffizienz hat mehrere Ursachen. Initiale Schäden am Herzen, wie eine Ischämie, eine virale Infektion oder toxische Substanzen, können eine

Zellschädigung verursachen und das Immunsystem aktivieren<sup>48,50</sup>. Auch die klassischen Risikofaktoren, wie der Diabetes mellitus, die arterielle Hypertonie und der Nikotinabusus, führen zu einer inflammatorischen Antwort. Genauso sind die kompensatorischen Mechanismen, wie das RAAS und das adrenerge System in der Lage eine inflammatorische Reaktion auszulösen. Dabei werden unterschiedliche Komponente der Immunabwehr aktiv. Das Gefäßendothel exprimiert Adhäsionsmoleküle, die Rezeptoren des angeborenen Immunsystems, hauptsächlich die "Toll-like"-Rezeptoren, werden hochreguliert und stimulieren proinflammatorische Kaskaden. Proinflammatorische Zellen, zunächst des angeborenen Immunsystems – wie Makrophagen, Neutrophilen, dendritische Zellen – werden ins Myokard durch die aktivierten Endothelzellen gelockt. Im weiteren Verlauf wird auch die spezifische Immunabwehr durch Migration von CD4+ und CD8+ T-Zellen und B-Zellen ins Herzen aktiv<sup>13,41,62</sup>.

## Anti-inflammatorische Ansätze bei der Herzinsuffizienz

Die meisten Daten zum therapeutischen Einsatz anti-inflammatorischer Therapien stammen aus experimentellen Studien an Herzinsuffizienz-Modellen. Diverse tierexperimentelle Arbeiten konnten einen positiven Effekt durch die Hemmung proinflammatorischer Zytokine auf unterschiedliche Formen von Herzinsuffizienz zeigen. Leider konnten diese positiven Ergebnisse in klinischen Studien nicht bestätigt werden. Eine Hemmung des TNF- $\alpha$  durch einen Antikörper konnte bei Patienten mit Herzinsuffizienz keine signifikante Besserung erreichen. Dabei äußerte sich sogar der Verdacht auf eher adverse Effekte<sup>11,20,33</sup>. Multiple Studien, bei denen eine Cortisontherapie nach einem akuten Myokardinfarkt getestet wurde, konnten ebenso keine sicheren positiven Effekte zeigen<sup>19</sup>.

Einer der Hauptgründe für den fehlenden Erfolg dieser therapeutischen Ansätze scheint die Breite der verwendeten medikamentösen Präparate zu sein. Die meisten Therapien richteten sich nach Zytokinen oder Mechanismen, welche multiple Funktionen an unterschiedlichen Zellarten haben. Potenziell schützende Effekte von TNF- $\alpha$  oder IL-1 $\beta$  wurden somit ebenso gehemmt. Corticosteroide verursachen auch eine generalisierte Immunsuppression und können somit viele Nebenwirkungen haben. Deshalb erscheint aktuell eher eine Immunmodulation statt einer Immunsuppression sinnvoller. Eine Immunmodulation basiert auf eine gleichzeitige Immunsuppression der schädlichen und eine Stimulation der schützenden Komponenten des Immunsystems. Hier ist besonders interessant der Einsatz multipotenter Zellen, wie z.B. die MSCs, welche gleichzeitig viele immunmodulatorische Funktionen ausüben können.

Auf diese Konzepte basiert die moderne Therapie vieler inflammatorischer Erkrankungen in anderen Organsystemen. Dies ist allerdings nur durch weitere Untersuchung der Pathophysiologie der inflammatorischen Reaktion bei der Herzinsuffizienz möglich.

## T-Helferzellen bei der Herzinsuffizienz

Die T-Helferzellen gehören zur spezifischen Immunabwehr und ihre Hauptrolle ist die Koordination der Immunantwort. Sie befinden sich im naiven Stadium im Körper, können sich aber schnell nach Stimulation durch bestimmte Zytokinen in diverse Richtungen differenzieren, welche entweder proinflammatorische oder anti-inflammatorische Funktionen haben können<sup>70</sup>. Die T-Helferzellen kooperieren mit den restlichen Zellen des Immunsystems aber auch durch ihre Effektorzytokine mit anderen Zellen, wie Endothelzellen und Fibroblasten. Ihre Hauptfunktion ist eine spezialisierte Immunantwort zu koordinieren und nach der Beseitigung der entsprechenden Noxen, die Auflösung der Immunantwort zu induzieren, so dass eine unnötige Gewebeerstörung vermieden werden kann.

Viele inflammatorische und Autoimmunerkrankungen schulden ihre Pathogenese der Funktion der T-Helferzellen und viele Forschungsarbeiten konzentrieren sich auf die Modulation der T-Helferzellenfunktion. Die T-Helferzellen sind unter anderem in den inflammatorischen Darmerkrankungen, der rheumatoiden Arthritis, der multiplen Sklerose, dem Typ I Diabetes mellitus und der Psoriasis involviert. Moderne Therapieansätze basieren auf die Gegenwirkung von Antikörpern auf diejenigen Zytokine, die mit der Differenzierung der T-Helferzellen assoziiert sind (z.B. IL-12, IL-23, IL-6), um somit die Aktivierung der T-Helferzellen zu hemmen<sup>35,52</sup>.

Die T-Helferzellen scheinen wichtige Rolle auch in der Herzinsuffizienz zu spielen. Defizienz an CD4+ T-Helferzellen führte zu einer verbesserten Prognose in einem experimentellen Modell der CVB3-Myokarditis<sup>39</sup>. Die prophylaktische Gabe von regulatorischen T-Zellen (Tregs), einer Untergruppe der T-Helferzellen, reduzierte die Inflammation und verbesserte die Prognose bei der CVB3-Myokarditis<sup>47</sup>. CD4+ T-Helferzellen-defiziente Mäuse wiesen adverse Wundheilungsprozesse nach einem akuten Myokardinfarkt auf<sup>24</sup>. Th17-Zellen, eine weitere Untergruppe der T-Helferzellen, sind zentral in der Transplantatabstoßung nach Herztransplantation involviert<sup>25</sup>. Das T-Helferzellensystem könnte daher multiple Interventionsmöglichkeiten in der Herzinsuffizienz anbieten.

## Fragestellung und Zielsetzung

Ziel dieser Arbeit ist die Charakterisierung der Funktion und des Stellenwertes der CD4+ T-Helferzellen und ihrer Untergruppen in der Pathogenese der Herzinsuffizienz und sowie die Explorierung potenzieller therapeutischer Modulationsmöglichkeiten. Dabei wird der Einfluss der T-Helferzellen in zwei Modellen der Herzinsuffizienz untersucht, der ischämischen Kardiomyopathie und der viralen Myokarditis als Modell der inflammatorischen Kardiomyopathie.

Diese Modelle können wichtige Informationen für die Pathophysiologie der humanen Herzinsuffizienz liefern.

Speziell wird die Einwirkung der T-Helferzellen und ihre Immunmodulation auf die myokardiale Immunantwort und ihre Effekte auf die kardialen Fibroblasten und das kardiale Remodelling analysiert. Ferner, werden die MSCs und eine Hemmung spezifischer Zytokine, die an der Differenzierung der T-Helferzellen beteiligt sind, als immunomodulatorische Konzepte bei der Herzinsuffizienz untersucht.

Die folgenden Originalpublikationen bilden eine kumulative Habilitationsschrift. Die abschließende Zusammenfassung im Diskussionsteil stellt den thematischen Zusammenhang der Publikationen dar.

# Ergebnisse – Eigene Arbeiten

## Rolle der CD4+ und CD8+ Zellen in der Pathogenese der inflammatorischen Kardiomyopathie

### Originalarbeit:

„Mesenchymal stem cells improve murine acute coxsackievirus B3-induced myocarditis“, *Eur Heart J*, 32(17):2168-78, 2011.

Van Linthout, S.\* , Savvatis, K.\* , Miteva, K., Peng, J., Ringe, J., Warstat, K., Schmidt-Lucke, C., Sittinger, M., Schultheiss, H. P., Tschöpe, C.

Die virale inflammatorische Kardiomyopathie gehört zu den häufigsten Ursachen der chronischen Herzinsuffizienz, vor allem bei jungen Patienten und Kleinkindern und ist eine der wichtigsten Todesursachen bei Sportlern. Enteroviren, hauptsächlich das Coxsackievirus B3, gehört zu den häufigsten Erregern. Neben der direkten Schädigung des Herzens durch das Virus, spielt das Immunsystem eine entscheidende Rolle bei der Pathogenese der inflammatorischen Kardiomyopathie. Eine potente Immunantwort ist zwar nötig für die Viruselimination aus dem Herzen, kann allerdings durch die überschießende Entzündung und Autoimmunmechanismen häufig zu einer chronischen Inflammation im Myokard führen und damit zu einer weiteren immuninduzierten Schädigung. Die mesenchymalen Stromazellen haben sich als potente immunmodulatorische Mediatoren bewiesen. Zusätzlich zeigen sie direkte anti-apoptische Effekte.

In dieser Arbeit wurden die direkten Effekte der MSCs auf die Zellinfektion durch das CVB3 untersucht. Die Gabe von MSCs konnte die Infektion und Replikation des CVB3 in isolierten Kardiomyozyten hemmen. Die Applikation von MSCs im Modell der murinen CVB3-Myokarditis führte zu einer signifikanten Reduktion der Aktivität und Proliferation der CD4+ und CD8+ T-Zellen. Die Aktivierung der MSCs war stark vom Interferon- $\gamma$  abhängig, welches während der Th1-Reaktion bei der akuten Myokarditis stark exprimiert wird. Dadurch konnte eine Reduktion

---

\*Geteilte Erstautorenschaft

der Myokardschädigung erreicht werden.

Diese Arbeit konnte die Bedeutung der CD4+ und CD8+ Zellen bei der Pathogenese der inflammatorischen Kardiomyopathie zeigen. Ferner, lieferte diese Arbeit wichtige Informationen zur immunmodulatorischen Funktion der MSCs in der inflammatorischen Kardiomyopathie. Neben den direkten antiviralen Effekten, scheint die Hemmung der Immunantwort und speziell der CD4+ T-Helferzellen und der CD8+ zytotoxischen T-Zellen von enormer Bedeutung zu sein.

Der Originalartikel wurde aufgrund von Urheberrechten entfernt.

**Mesenchymal stem cells improve murine acute coxsackievirus B3-induced myocarditis.**

Eur Heart J, 32(17):2168-78, 2011. doi: <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehq467>

Van Linthout, S.<sup>†</sup>, Savvatis, K.<sup>†</sup>, Miteva, K., Peng, J., Ringe, J., Warstat, K., Schmidt-Lucke, C., Sittinger, M., Schultheiss, H. P., Tschöpe, C.

---

<sup>†</sup>Geteilte Erstautorenschaft





















## Anti-inflammatorische Rolle der regulatorischen T-Zellen bei der myokardialen Immunantwort

### Originalarbeit:

„Mesenchymal stromal cells but not cardiac fibroblasts exert beneficial systemic immunomodulatory effects in experimental myocarditis“, *PLoS One*, 7(7):e41047, 2012.

Savvatis, K., Van Linthout, S., Miteva, K., Pappritz, K., Westermann, D., Schefold, J. C., Fusch, G., Weithauer, A., Rauch, U., Becher, P. M., Klingel, K., Ringe, J., Kurtz, A., Schultheiss, H. P., Tschöpe, C.

In dieser Arbeit wurden die genauen Mechanismen der immunomodulatorischen Effekte der MSCs bei der inflammatorischen Kardiomyopathie untersucht. Dafür wurde das Modell der murinen CVB3-Myokarditis angewendet. Humane MSCs oder humane kardiale Fibroblasten als Kontrolle wurden einen Tag nach der Infektion intravenös verabreicht. Die Gabe von MSCs konnte die inflammatorische Antwort im Herzen reduzieren. Die Expression der proinflammatorischen Zytokine TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  und IL-6 wurde signifikant gesenkt. Es kam zu einer erhöhten Produktion von IFN- $\gamma$ , welches notwendig für die Aktivierung der MSCs war.

Diese Effekte waren mit einer starken systemischen Hochregulation der regulatorischen T-Helferzellen assoziiert, die potente anti-inflammatorische Wirkung haben. Die Gabe von MSCs konnte sowohl die naiven CD4+CD25+Foxp3, als auch die induzierten CD4+IL-10-produzierenden regulatorischen T-Zellen stimulieren. Beide führten zur Induktion von Apoptose in den Effektor-CD4+ und CD8+ T-Zellen und Reduktion ihrer proinflammatorischen Wirkung. Die Reduktion der myokardialen Entzündung hatte als Folge eine reduzierte Gewebezerstörung, einen verbesserten Umbau der extrazellulären Matrix und eine signifikante Besserung der linksventrikulären Funktion.

Diese Arbeit zeigt, dass das Gleichgewicht zwischen proinflammatorischen und anti-inflammatorischen T-Helferzellen entscheidend für die Prognose der inflammatorischen Kardiomyopathie ist und dass regulatorische T-Zellen eine starke protektive Wirkung haben können.

Der Originalartikel wurde aufgrund von Urheberrechten entfernt.

**Mesenchymal stromal cells but not cardiac fibroblasts exert beneficial systemic immunomodulatory effects in experimental myocarditis.** PLoS One, 7(7):e41047, 2012. doi: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0041047>

Savvatis, K., Van Linthout, S., Miteva, K., Pappritz, K., Westermann, D., Schefold, J. C., Fusch, G., Weithauser, A., Rauch, U., Becher, P. M., Klingel, K., Ringe, J., Kurtz, A., Schultheiss, H. P., Tschöpe, C.































## Interleukin-6 als zentraler Mediator der Th17-Reaktion bei der Myokarditis

### Originalarbeit:

„Interleukin-6 receptor inhibition modulates the immune reaction and restores titin phosphorylation in experimental myocarditis“, *Basic Res Cardiol*, 109(6):449-462, 2014.

Savvatis, K., Müller, I., Fröhlich, M., Pappritz, K., Zietsch, C., Hamdani, N., Grote, K., Schieffer, B., Klingel, K., Van Linthout, S., Linke, W. A., Schultheiss, H. P., Tschöpe, C.

Interleukin-6 ist wichtiges Zytokin für die Regulation der Immunantwort. Es spielt eine zentrale Rolle bei der Aktivierung der T-Helferzellen und bei der Differenzierung der proinflammatorischen Th17-Zellen. Th17-Zellen sind aktivierte T-Helferzellen, welche grosse Mengen von proinflammatorischen Zytokinen, hauptsächlich IL-17 und IL-22, produzieren. Sie stimulieren die Aktivierung von Makrophagen und Neutrophilen im Bereich der Entzündung. Unterschiedliche Studien in inflammatorischen und Autoimmunerkrankungen konnten allerdings zeigen, dass Th17-Zellen einen wichtigen Stellenwert in der Pathogenese der Gewebedestruktion haben.

In dieser Arbeit wurde im Mausmodell der experimentellen CVB3-Myokarditis ein Antikörper gegen den IL-6-Rezeptor (MR16-1, tocilizumab) einen Tag nach Infektion verabreicht. Inhibition des IL-6-Signaltransduktionsweges führte zu einer reduzierten Th17-Aktivierung und einer gesteigerten Th1-Reaktion, welche potente antivirale Funktion hat. Es konnte dadurch eine signifikante Reduktion der Myokardentzündung und eine Verbesserung des Remodellings der extrazellulären Matrix erreicht werden. Ferner, wurde die Virusreplikation im Myokard gehemmt und es kam zu einer indirekten Verbesserung der Titin-Phosphorylierung und der linksventrikulären Funktion.

Diese Daten zeigen die zentrale Rolle des IL-6 bei der Pathogenese der Myokarditis und der inflammatorischen Kardiomyopathie. Th17-Zellen, welche hauptsächlich durch IL-6 stimuliert werden, sind stark an der Myokardentzündung und Gewebeerstörung bei der inflammatorischen Kardiomyopathie beteiligt.

Der Originalartikel wurde aufgrund von Urheberrechten entfernt.

**Interleukin-6 receptor inhibition modulates the immune reaction and restores titin phosphorylation in experimental myocarditis.** Basic Res Cardiol, 109(6):449-462, 2014. doi: <https://doi.org/10.1007/s00395-014-0449-2>

Savvatis, K., Müller, I., Fröhlich, M., Pappritz, K., Zietsch, C., Hamdani, N., Grote, K., Schieffer, B., Klingel, K., Van Linthout, S., Linke, W. A., Schultheiss, H. P., Tschöpe, C.



























## Effekte der Th1- und Th17-Reaktion auf die Wundheilung bei der ischämischen Kardiomyopathie

### Originalarbeit:

„Interleukin-23 deficiency leads to impaired wound healing and adverse prognosis after myocardial infarction“, *Circ Heart Fail*, 7(1):161-171, 2014.

Savvatis, K., Pappritz, K., Becher, P. M., Lindner, D., Zietsch, C., Volk, H. D., Westermann, D., Schultheiss, H. P., Tschöpe, C.

Die CD4+ T-Helferzellen koordinieren vieler der Wundheilungsmechanismen nach einem akuten Myokardinfarkt durch Effekte sowohl auf inflammatorische Zellen als auch auf kardiale Fibroblasten und Endothelzellen. Diese Arbeit fokusierte auf die genaue Charakterisierung der wichtigsten Subgruppen der T-Helferzellen, der Th1- und Th17-Zellen, welche unterschiedliche Funktionen besitzen.

Im experimentellen Modell des akuten Myokardinfarktes und der ischämischen Kardiomyopathie wurde speziell der Effekt einer IL-23-Defizienz untersucht. IL-23 stimuliert zusammen mit TGF- $\beta$  und IL-6 die Differenzierung der naiven T-Helferzellen in die Th17-Richtung. Finden sich im Inflammationsbereich große Mengen von IL-23, kommt es zu einer gesteigerten Th17-Produktion und Suppression der konkurrierenden Th1-Zellen. Auf der anderen Seite führt IFN- $\gamma$  zu einer Inhibition der Th17-Zellen und stimulation der Th1-Reaktion. IL-23 und IFN- $\gamma$  sind also für das Gleichgewicht zwischen Th1- und Th17-Zellen entscheidend. Die Defizienz an IL-23 hatte als Folge eine Hemmung der Th17-Reaktion. Allerdings kam dadurch zu einer gesteigerten Th1-Reaktion und übermäßige Produktion von IFN- $\gamma$ . Diese Effekte waren bereits 4 Tage nach Induktion des Myokardinfarktes zu erkennen und persistierten bis 30 Tage nach dem Infarkt. Die IL-23-defizienten Mäuse zeigten ein signifikant gebessertes Überleben im Vergleich zu den Wildtyp-Tieren. Die immunhistochemische Analyse der Wildtyp-Herzen ergab eine starke Inflammation, welche bereits im akuten Stadium zu einer Destabilisierung der Infarktnarbe und zu erhöhter Ruptur der Herzwand führte. Die genaue Analyse der Infarktnarbe bei den Wildtyp-Tieren zeigte eine gestörte Ablagerung von Kollagen und eine reduzierte Anzahl von Myofibroblasten im Vergleich zu den IL-23-defizienten Tieren.

Die direkte Stimulation von isolierten kardialen Fibroblasten mit IFN- $\gamma$  führte zur Hemmung der Aktivierung der Fibroblasten in Myofibroblasten. Als Folge produzierten letztere geringere Mengen an Kollagen, welches für die Narbenstabilisierung nötig ist und adoptierten einen pro-

inflammatorischen Phänotyp mit erhöhter Expression von Chemokinen und Zytokinen.

Die Ergebnisse dieser Arbeit zeigen eine einzigartige protektive Rolle für die Th17-Zellen und das IL-23, welche durch Inhibition der Th1-Reaktion und der IFN- $\gamma$ -Produktion einhergeht. Die Th1-Immunantwort und das IFN- $\gamma$  sind mit einer erhöhten Inflammation und einer gestörten Wundheilung bei der ischämischen Kardiomyopathie assoziiert.

Der Originalartikel wurde aufgrund von Urheberrechten entfernt.

**Interleukin-23 deficiency leads to impaired wound healing and adverse prognosis after myocardial infarction.** *Circ Heart Fail*, 7(1):161-171, 2014. doi: <https://doi.org/10.1161/CIRCHEARTFAILURE>.

Savvatis, K., Pappritz, K., Becher, P. M., Lindner, D., Zietsch, C., Volk, H. D., Westermann, D., Schultheiss, H. P., Tschöpe, C.





















## Effekte des IL-2 und der regulatorischen T-Zellen in der ischämischen Kardiomyopathie

### Originalarbeit:

„Immunosuppression with an interleukin-2 fusion protein leads to improved LV function in experimental ischemic cardiomyopathy“, *Int Immunopharmacol*, 10(2):207-12, 2010.

Koch, M.<sup>‡</sup>, Savvatis, K.<sup>‡</sup>, Scheeler, M., Dhayat, S., Bonaventura, K., Pohl, T., Riad, A., Bulfone-Paus, S., Schultheiss, H. P., Tschöpe, C.

In dieser Arbeit wurde die Rolle des IL-2-Signaltransduktionsweges auf die ischämische Kardiomyopathie untersucht. IL-2 stimuliert die Differenzierung der naiven T-Helferzellen zu regulatorischen T-Zellen. Im Modell des akuten Myokardinfarktes wurde ein IL-2IgG2b-Fusionsprotein verabreicht, welches den IL-2-Rezeptor stimuliert und den IL-2-Signaltransduktionsweg potent aktiviert und die Anzahl der regulatorischen T-Zellen in inflammatorischen Erkrankungen erhöhen kann. Die Gabe des Fusionsproteins führte zu einer signifikanten Verbesserung des Remodelings der extrazellulären Matrix durch Reduktion der Inflammation und der Kollagenproduktion im nicht-ischämischen linken Ventrikel. Diese Effekte waren mit einer signifikanten Verbesserung der LV-Funktion assoziiert.

Die Ergebnisse dieser Studie zeigen die Bedeutung des Immunsystems für die Prognose nach einem akuten Myokardinfarkt und die protektive Rolle des IL-2-Signaltransduktionsweges und der regulatorischen T-Zellen in der ischämischen Kardiomyopathie.

---

<sup>‡</sup>Geteilte Erstautorenschaft

Der Originalartikel wurde aufgrund von Urheberrechten entfernt.

**Immunosuppression with an interleukin-2 fusion protein leads to improved LV function in experimental ischemic cardiomyopathy.** *Int Immunopharmacol*, 10(2):207-12, 2010. doi: <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2009.11.001>

Koch, M.<sup>§</sup>, Savvatis, K.<sup>§</sup>, Scheeler, M., Dhayat, S., Bonaventura, K., Pohl, T., Riad, A., Bulfone-Paus, S., Schultheiss, H. P., Tschöpe, C.

---

<sup>§</sup>Geteilte Erstautorenschaft











# Diskussion

Die Herzinsuffizienz ist eine der häufigsten Krankheiten und ist mit einer hohen Mortalität und Morbidität assoziiert<sup>5</sup>. Trotz des Einsatzes moderner medikamentöser und interventioneller Therapien, steigt die Prävalenz der Herzinsuffizienz kontinuierlich weltweit an. Ferner, bleibt die Prognose der Patienten, die an chronischer Herzinsuffizienz leiden, schlecht, so dass neue und innovative Therapieansätze dringend notwendig sind. Durch das Ausbauen eines tieferen Kenntnisses der Pathophysiologiemechanismen der Herzinsuffizienz ist das Potential neue Signaltransduktionswege zu entdecken und innovative therapeutische Ziele zu finden noch höher.

Der Stellenwert des Immunsystems bei der Pathogenese der Herzinsuffizienz wird zunehmend anerkannt und etabliert. Die tiefere Explorierung der myokardialen Immunantwort und die Modulation der Immunreaktion kann potenziell signifikante Effekte auf die Prognose der Herzinsuffizienz bedeuten.

Unsere Arbeit hatte als Ziel die Untersuchung der spezifischen Immunabwehr in der Pathophysiologie der Herzinsuffizienz, sowie deren Anwendung im Rahmen neuer Therapiekonzepte. Speziell, wurde die Funktion der T-Helferzellen und der Zytokine, welche mit der Aktivierung und Funktion der T-Helferzellen assoziiert sind, näher untersucht. Verwendet wurden die experimentelle CVB3-Myokarditis als Modell der inflammatorischen Kardiomyopathie (DCM), und der experimentelle chronische Myokardinfarkt als Modell der ischämischen Kardiomyopathie. Die Ergebnisse der Studien zeigen eine wichtige Rolle der T-Helferzellen in der Pathogenese der Herzinsuffizienz durch zahlreiche Effekte auf andere Immunzellen, aber auch auf die kardialen Zellen, hauptsächlich die kardialen Fibroblasten und Kardiomyozyten.

## Immunantwort bei der inflammatorischen Kardiomyopathie

### Effekte der T-Helferzellen auf die myokardiale Entzündung

Die inflammatorische Kardiomyopathie wird durch eine Inflammation im Herzen gekennzeichnet. Ein initiales Ereignis, wie eine kardiale Virusinfektion durch CVB3, führt zur Zerstörung von Kardiomyozyten. Das Immunsystem hat als Ziel die Elimination des Virus im Myokard und eine potente Immunreaktion ist somit wichtig für die Prognose bei der viralen Myokarditis, kann aber zur Myokardschädigung beitragen<sup>22</sup>. Auf der anderen Seite kann eine schwache oder inadäquate Immunreaktion zu einer Viruspersistenz im Myokard führen mit der Folge einer chronischen Infektion und Dysfunktion<sup>65</sup>. Ferner, werden durch den Zelluntergang unterschiedliche intrazelluläre Moleküle freigesetzt, welche einen Autoimmunmechanismus triggern können und damit zu einer chronischen myokardialen Entzündung führen<sup>14</sup>. Wünschenswert wäre also eine Immunreaktion, die sich gezielt gegen die Virusausbreitung richtet und gleichzeitig die Myokardschädigung so gering wie möglich hält.

Die CD4+ T-Helferzellen spielen eine zentrale Rolle bei der Koordination der Immunantwort. Experimentelle Studien in der murinen CVB3-Myokarditis konnten zeigen, dass die Elimination der CD4+ Zellen zu einer Verbesserung der Myokarditis führen kann. Auf der anderen Seite, führte die Elimination von CD8+ Zellen zu einer Steigerung der Myokardinflammation und Verschlechterung der Prognose. Die Elimination beider Zelltypen hatte ebenso einen positiven Effekt auf die Myokarditis<sup>39</sup>. Unsere Daten zeigen ebenso eine pathogenetische Rolle für die CD4+ T-Helferzellen. Es kommt im Laufe der akuten Myokarditis zu einer signifikanten Erhöhung der Anzahl der CD4+ T-Helferzellen und dadurch zu einer Steigerung der Inflammation im Herzen<sup>59</sup>. Proinflammatorische Zytokine, wie TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-18, IL-12 und IFN- $\gamma$ , zeigen eine signifikante Erhöhung im Myokard. Ferner, können im Herzen inflammatorische Zellen, wie Makrophagen, Neutrophile und zytotoxische T-Zellen nachgewiesen werden, welche zu einer Gewebeerstörung beitragen.

MSCs haben in mehreren Studien gezeigt, dass sie in kardiale Zellen transformieren können. Allerdings kann die nur geringe Anzahl der neuen Kardiomyozyten im Herzen schwierig die deutlich positiven Effekte auf die LV-Funktion erklären<sup>56</sup>. Es wird zunehmend mehr erkannt, dass die MSCs einen großen Teil ihrer Effekte ihrer immunmodulatorischen Wirkung schulden<sup>38</sup>. Mehrere Studien, sowohl experimentell als auch klinisch, haben eine signifikante Wirkung der MSCs auf diverse Ebenen der Immunantwort beschrieben, von der Antigenpräsentation, bis hin zur Suppression der spezifischen Effektorzellen. Somit können MSCs die Immunantwort modulieren und die Gewebedestruktion einschränken. Wir konnten zeigen, dass die Applikation von MSCs in der inflammatorischen Kardiomyopathie die kardiale Entzündung

reduzieren kann, indem sie die Funktion der CD4+ T-Helferzellen hemmt. Einer der wichtigsten Mechanismen dabei ist die Induktion von Apoptose in den aktivierten CD4+ T-Helferzellen. Die Apoptose wird unter anderem durch Steigerung derIDO-Expression oder der NO-Produktion induziert<sup>40,43,59</sup>. Ferner, zeigten die CD8+ Zellen eine ebenso erhöhte Apoptoserate, so dass insgesamt eine reduzierte Funktion der CD4+ und der zytotoxischen T-Zellen nachzuweisen war. Dies führte zu einer reduzierten Inflammation und Besserung der LV-Funktion, während die Viruselimination nicht beeinträchtigt wurde.

## **Spezifische Funktion der T-Helferzellen-Untergruppen bei der inflammatorischen Kardiomyopathie**

Neben der Anzahl der Effektor-T-Zellen, spielt auch ihre genaue Funktion große Rolle bei der inflammatorischen Kardiomyopathie; letztere ist von der Aktivierung und dem entzündlichen Milieu abhängig. Die meisten Studien hatten bisher nur die T-Helferzellen im Rahmen der gesamten Gruppe analysiert, indem sie "knockout" Tiere für den Oberflächenmarker CD4+ untersucht hatten<sup>39</sup>. Allerdings sind die T-Helferzellen keine homogene Gruppe, sondern bestehen aus unterschiedlichen Untergruppen mit diversen Funktionen<sup>70</sup>.

Unsere Arbeiten beschäftigten sich mit der Untersuchung der speziellen Effekte und der therapeutischen Manipulation der Untergruppen der T-Helferzellen bei der myokardialen Inflammation. Es konnte gezeigt werden, dass regulatorische T-Zellen signifikante Effekte auf die virale Myokarditis und die myokardiale Inflammation haben<sup>43</sup>. Sowohl die naiven CD4+CD25+Foxp3 Tregs als auch die induzierten CD4+IL-10-produzierenden Tregs wurden durch die Gabe von MSCs systemisch als auch lokal im Herzen hochreguliert. Tregs führen zu einer Suppression der Funktion der Effektor-T-Zellen, können Apoptoseprozesse in anderen Immunzellen induzieren und somit wirken sie immunsuppressiv<sup>9</sup>. In unseren Studien konnten Tregs die myokardiale Inflammation einschränken, das myokardiale Remodelling unterstützen und somit zu einer verbesserten LV-Funktion führen. Interessanterweise, kam, trotz ihrer immunsuppressiven Funktion, zu keiner Steigerung der Virusreplikation im Herzen, sondern zu einer Reduktion, was auf indirekte antivirale Effekte hinweisen könnte. In einer experimentellen Studie im Modell der CVB3-Myokarditis durch Shi *et al.* wurden Tregs prophylaktisch transplantiert und konnten ähnliche Ergebnisse zu den Ergebnissen unserer Studien zeigen<sup>47</sup>.

Desweiteren untersuchten wir die Effekte einer Inhibition des IL-6, welches entscheidend für die Aktivierung der Th17-Zellen sind. Wir konnten zeigen, dass eine IL-6-Rezeptorinhibition eine signifikante Reduktion der Anzahl der Th17-Zellen im Modell der experimentellen CVB3-Myokarditis bewirken konnte<sup>44</sup>. Th17-Zellen mit ihren proinflammatorischen Effekten sind für die Entwicklung diverser inflammatorischer und Autoimmunerkrankungen verantwortlich, wie

die rheumatoide Arthritis und die multiple Sklerose<sup>16,51</sup>. Unsere Daten zeigten eine signifikante Verbesserung der myokardialen Inflammation durch Inhibition des IL-6-Signaltransduktionsweges, welche mit einer Reduktion der Th17-Aktivierung einherging. Die Th17-Zellen führten zu einem ungünstigen Umbau der extrazellulären Matrix durch Aktivierung der kardialen Fibroblasten und erhöhte Expression und Ablagerung von Kollagen I im Herzen. Letzteres führte in Kombination mit der reduzierten Titinphosphorylierung und zu einer erhöhten Steifigkeit des linken Ventrikels und damit zu einer schlechteren LV-Funktion. Hemmung der Th17-Zellen konnte grossen Teil dieser Effekte aufheben. Auf der anderen Seite konnten wir einen signifikanten Effekt der IL-6-Rezeptorinhibition auf die Th1-Reaktion ausschliessen, da sowohl die Expression von T-bet, des Transkriptionsfaktors der Th1-Zellen, als auch des Interferons- $\gamma$  unbeeinflusst blieben. Dies kräftigt die Hypothese über die ungünstigen Effekte der Th17-Zellen weiter.

Unsere Daten über die Rolle von Th17-Zellen in der inflammatorischen Kardiomyopathie konnten in Studien anderer Arbeitsgruppen bestätigt werden. Der IL-23/Th17-Signaltransduktionsweg ist in der viralen Myokarditis aktiviert und ist mit dem Übergang der akuten Inflammation in eine chronische Entzündung und der akuten Myokarditis in DCM assoziiert<sup>15,66</sup>. Yuan *et al.* konnten im murinen Modell der experimentellen CVB3-Myokarditis ebenso beschreiben, dass Th17-Zellen proinflammatorisch wirken und einen negativen Einfluss auf die Prognose haben<sup>68</sup>. Die Autoren konnten durch einen unterschiedlichen Ansatz, durch die Gabe eines anti-IL-17-Antikörpers, eine Hemmung der Th17-Reaktion erreichen und damit den Schweregrad der Myokarditis reduzieren. Es zeigte sich ferner, dass die Th17-Hemmung mit einer erhöhten CD8+ Zellenaktivität assoziiert ist, welche bekannt für die antivirale Effekte ist, ein Phänomen, was mit unseren Ergebnissen gut korreliert<sup>39</sup>.

Zusammenfassend, spielen die CD4+ T-Helferzellen eine zentrale Rolle in der Regulation der Immunantwort seitens der inflammatorischen Kardiomyopathie. Unsere Arbeiten zeigen, dass die Th1-Reaktion protektive Effekte in der initialen akuten Inflammation zur Viruselimination haben. Auf der anderen Seite haben die Th17-Zellen schädliche Effekte; sie verstärken die entzündliche Reaktion und Gewebedestruktion und können zur erhöhten Virusreplikation führen. Ferner, sind sie potenziell mit dem Übergang in eine chronische Inflammation und Viruspersistenz assoziiert, welche zur DCM führen können. Die Tregs sind notwendig, um die entzündliche Reaktion einzuschränken und die myokardiale Wundheilung zu erlauben.

## Immunantwort bei der ischämischen Kardiomyopathie

### Effekte der T-Helferzellen auf die myokardiale Inflammation

Ein weiterer Teil unserer Arbeiten konzentrierte sich auf die Untersuchung der Effekte und auf die therapeutische Modulation der CD4<sup>+</sup> T-Helferzellen in der ischämischen Kardiomyopathie. Der akute Myokardinfarkt ist die häufigste Ursache für die Entwicklung einer Herzinsuffizienz<sup>5</sup>. Die CD4<sup>+</sup> T-Helferzellen sind am Wundheilungsprozess zentral involviert, sowie am myokardialen Remodelling nach einem akuten Myokardinfarkt<sup>24</sup>. Wir untersuchten, welche Untergruppen der T-Helferzellen einen positiven Effekt haben könnten und wie sie zu der Entwicklung eines therapeutischen Ansatzes beitragen könnten.

Interleukin-23 stimuliert die Aktivierung der Th17-Zellen und hemmt die Differenzierung der Th1-Zellen. IFN- $\gamma$  wiederum hemmt die Aktivierung der Th17-Zellen und stimuliert die Th1-Reaktion. Das Gleichgewicht zwischen den beiden Gruppen wird durch die Konzentration der proinflammatorischen Zytokine, hauptsächlich des IL-23, IFN- $\gamma$  und IL-12, im entzündlichen Milieu definiert<sup>28</sup>. Die Expression von IL-23 und IL-17 ist im akuten Stadium nach dem Myokardinfarkt (4 Tage) sowohl in der Narbe als auch im restlichen LV hochreguliert<sup>55</sup>. Aufgrund der bekannten proinflammatorischen Effekte der Th17-Zellen in der inflammatorischen Kardiomyopathie, gingen wir von einer schädlichen Wirkung des IL-23/Th17-Signaltransduktionsweges nach einem akuten Myokardinfarkt aus. Interessanterweise, zeigten unsere Experimente eine protektive Rolle des IL-23 und der Th17-Zellen. IL-23 hemmte die Differenzierung der Th1-Zellen und die IFN- $\gamma$ -Expression in den ersten Tagen nach dem Myokardinfarkt. Dies führte zu einer erhöhten Inflammation in der Narbe und Destabilisierung der Infarktzone mit erhöhter LV-Rupturrate als Folge<sup>45</sup>. Es kam zu verstärkter Expression der proinflammatorischen Zytokine TNF- $\alpha$  und IL-1 $\beta$  und Migration von proinflammatorischen Immunzellen ins Myokard. IFN- $\gamma$  stimuliert die Atherogenese, die vaskuläre Inflammation und das adverse vaskuläre Remodelling und ist mit einer schlechteren Prognose in der Atherosklerose assoziiert<sup>21,63</sup>. Passend zu unseren Daten, zeigte eine klinische Studie bei Patienten nach einem akuten Koronarsyndrom eine inverse Beziehung zwischen IL-17—das Effektorzytokin der Th17-Zellen—und der Todes- oder Re-Myokardinfarktrate<sup>49</sup>. Sowohl unsere Daten, als auch die Daten anderer Arbeitsgruppen zeigen eine protektive Rolle für die Th17-Zellen bei der Wundheilung und dem kardialen Remodelling nach einem akuten Myokardinfarkt, im Gegensatz zu ihrer Funktion bei anderen inflammatorischen Erkrankungen. Die Modulation des IFN- $\gamma$ /IL-23-Gleichgewichts könnte zu neuen therapeutischen Ansätzen führen.

Neben den Th17-Zellen konnten wir auch zeigen, dass Tregs ebenso positive Effekte auf die Immunantwort beim Myokardinfarkt zeigen. Wir benutzten ein IL-2-IgG-Fusionsprotein, wel-

ches bekannt für die Hochregulation der Tregs ist und dadurch in unterschiedlichen inflammatorischen Erkrankungen die Immunreaktion hemmen konnte<sup>30</sup>. In unserem Modell führte die Hochregulation der Tregs zu einer deutlichen Besserung des kardialen Remodelling durch reduzierte Kollagenproduktion im nicht-ischämischen Bereich des LV<sup>27</sup>. Dies war mit einer verbesserten LV-Funktion sowohl im akuten als auch im chronischen Stadium der ischämischen Kardiomyopathie assoziiert. Es kann also vermutet werden, dass eine Tregs-Hochregulation im akuten Stadium bereits positive Effekte für die Wundheilung hat, welche entscheidend für die Prognose und den Übergang zur chronischen Herzinsuffizienz sind. Unsere Ergebnisse konnten durch die Arbeit anderer Arbeitsgruppen bestätigt werden. Sowohl durch die Gabe eines Superagonisten (anti-CD28-Antikörper), der die Anzahl der Tregs erhöht als auch durch die direkte Transplantation von naiven Tregs im experimentellen Modell des akuten Myokardinfarktes konnten ähnliche positive Effekte auf die myokardiale Wundheilung beschrieben werden<sup>34,53</sup>. Die Tregs könnten ein weiteres potenzielles therapeutisches Ziel zur Modulation des Remodellings nach einem akuten Myokardinfarkt sein.

### **Effekte der T-Helferzellen auf die Funktion der kardialen Fibroblasten**

Zu den wichtigsten Ergebnissen unserer Studien war der Einfluß der T-Helferzellen auf das kardiale Remodelling. Der Umbau der extrazellulären Matrix ist hauptsächlich eine Funktion der kardialen Fibroblasten. Teil unserer Arbeit konzentrierte daher sich auf die Interaktionen der T-Helferzellen und ihrer Effektorzytokine mit den kardialen Fibroblasten.

Die Analyse der Infarkt Narbe zeigte, dass eine IL-23-Defizienz und eine IFN- $\gamma$ -Überexpression zu einer reduzierten Menge von Myofibroblasten bereits 3 Tage nach dem Myokardinfarkt führte. Dieser Effekt persistierte bis zum chronischen Stadium, 30 Tage nach dem Infarkt. Myofibroblasten sind aktivierte Fibroblasten, welche im Herzen hohe Menge von  $\alpha$ -SMA und Kollagen exprimieren. Die aus der Infarkt Narbe isolierten Fibroblasten zeigten eine höhere  $\alpha$ -SMA- und Kollagen I-Expression bei den IL-23-defizienten Tieren im Vergleich zu den Wildtyp-Tieren. Dieser Effekt war in Übereinstimmung mit der immunhistochemischen Konzentration von Kollagen I und III in der Infarkt Narbe. Myofibroblasten sind wichtig für die Bildung der Infarkt Narbe nach dem Myokardinfarkt und ihre Persistenz in der Infarktregion ist mit einer positiven Prognose und einem verbesserten Remodelling assoziiert<sup>58,64</sup>. Die Stimulation von isolierten kardialen Fibroblasten mit IFN- $\gamma$ , IL-23 oder IL-17, zeigte, dass IFN- $\gamma$  die Differenzierung der kardialen Fibroblasten in Myofibroblasten und ihr Migrationspotenzial in die Narbe hemmt. Interessanterweise, funktionieren die kardialen Fibroblasten dann als "inflammatorische Zellen", in dem sie die Expression von strukturellen Herzproteinen, wie Kollagen, runterregulieren und erhöhte Mengen von Zytokinen, hauptsächlich TNF- $\alpha$  und IL-23, oder Chemokine, wie MCP-1 und MCP-3 (nicht-publizierte Daten), produzieren<sup>61</sup>. Auf der anderen Seite weisen unsere

Ergebnisse darauf hin, dass weder IL-23 noch IL-17 signifikante Effekte auf die kardialen Fibroblasten zeigen<sup>45</sup>. Die genaue Funktion von IFN- $\gamma$  auf die kardialen Fibroblasten und ihre Relevanz im Rahmen der unterschiedlichen kardialen Erkrankungen ist immer noch unter Debatte, wobei nur wenig valide Daten vorhanden sind<sup>31</sup>. In einem Modell der kardialen Hypertrophie zeigte IFN- $\gamma$  ähnliche Ergebnisse zu unserer Arbeit, in dem es zu einer Exazerbation der kardialen Hypertrophie und Fibrose und somit zu einer Reduktion der LV-Funktion führte<sup>18</sup>. Während weitere Studien in dem Bereich notwendig sind, könnte die Modulation des IFN- $\gamma$ -Signaltransduktionsweges ein versprechender Therapieansatz sein.

# Zusammenfassung

Die chronische Herzinsuffizienz ist eine der häufigsten Erkrankungen und ist mit einer hohen Morbidität und Mortalität assoziiert. Trotz moderner therapeutischer Möglichkeiten, hat sich die Therapie der Herzinsuffizienz in den letzten 30 Jahren wenig verändert und die Prognose dieser Patienten bleibt schlecht. Die medikamentöse Therapie basiert auf die Blockierung des Renin-Angiotensin-Aldosteron-Systems und des  $\beta$ -adrenergen Systems. Es ist notwendig die Pathophysiologie der Herzinsuffizienz weiter zu untersuchen und potenziell modifizierbare Signaltransduktionswege zu entdecken.

Die Rolle der Inflammation bei der Progression der Herzinsuffizienz wird in den letzten Jahren erkannt. Das Immunsystem ist aktiviert bei Patienten mit Herzinsuffizienz und korreliert mit dem Schweregrad der Erkrankung und der Prognose. Experimentelle Herzinsuffizienz-Modelle haben viel versprechende Ergebnisse einer anti-inflammatorischen Therapie geliefert, welche allerdings in klinischen Studien nicht bestätigt werden konnten. Potenzielles Problem dieser Studien ist der Einsatz von Breitband-Immunsuppressiva, wie eine Cortison- oder eine anti-TNF- $\alpha$ -Therapie, welche diverse Effekte auch auf andere Zellarten haben. Die Immunmodulation mittels spezifischer Zytokinhemmung auf strategisch-ausgewählte Komponente des Immunsystems, oder die kombinierte Suppression proinflammatorischer Zellen und die Stimulation anti-inflammatorischer Zellen z.B. durch eine Gabe von mesenchymalen Stromazellen erscheint eine bessere Alternative. Hier bitten sich besonders die T-Helferzellen als Ziel an. T-Helferzellen haben eine zentrale Rolle in der Koordination der Immunabwehr und sind in vielen inflammatorischen Erkrankungen, wie die multiple Sklerose, die entzündlichen Darmerkrankungen, die Psoriasis und viele anderen, involviert. Die moderne immunmodulatorische Therapie richtet sich gegen Zytokine, welche für die Differenzierung der T-Helferzellen verantwortlich sind.

Die hier dargestellten Arbeiten zeigen die pathogenetische Rolle der T-Helferzellen in der Herzinsuffizienz anhand zwei experimenteller Modelle, die virale Myokarditis und die ischämische Kardiomyopathie. Wir konnten zeigen, dass die unterschiedlichen Untergruppen der T-Helferzellen diverse Funktionen ausüben. Die regulatorischen T-Zellen und die Th1-Zellen scheinen eine protektive Rolle in der viralen Myokarditis und der inflammatorischen Kardiomyopathie zu

spielen. Die regulatorischen T-Zellen können die myokardiale Entzündung reduzieren, während die Th1-Zellen antiviral wirken und zur viralen Elimination beitragen. Auf der anderen Seite sind die Th17-Zellen proinflammatorisch und führen zur Exazerbation der myokardialen Inflammation und Schädigung. Behandlung durch die Applikation von MSCs oder Hemmung des IL-6-Signaltransduktionsweges kann die Immunantwort modulieren und die Prognose verbessern.

Im Gegensatz zu der viralen Kardiomyopathie, konnten wir zeigen, dass Th17-Zellen eine protektive Rolle nach einem akuten Myokardinfarkt haben, in dem sie die Differenzierung der Th1-Zellen hemmen. Die Th1-Zellen produzieren in großen Mengen IFN- $\gamma$  in der Infarktnarbe; letzteres potenziert die Entzündung und hemmt durch direkte Wirkung auf die kardialen Fibroblasten ihre Differenzierung in Myofibroblasten. Als Folge, wird weniger Kollagen in der Narbe produziert und es kommt zur Bildung einer instabilen Narbe und zu erhöhter Ruptur-Rate des linken Ventrikels und erhöhter Mortalität. Desweiteren konnten wir zeigen, dass regulatorische T-Zellen protektiv in der ischämischen Kardiomyopathie sind und zu einem verbesserten Remodelling nach einem akuten Myokardinfarkt führen. Eine Modulation des Th1/Th17-Gleichgewichts und der regulatorischen T-Zellen können zu einer potenziellen therapeutischen Strategie zur Verbesserung der Prognose bei der ischämischen Kardiomyopathie beitragen.

# Literaturverzeichnis

- [1] S. Adamopoulos, J. T. Parissis, and D. T. Kremastinos. A glossary of circulating cytokines in chronic heart failure. *Eur J Heart Fail*, 3(5):517–26, Oct 2001.
- [2] P. Aukrust, T. Ueland, F. Müller, A. K. Andreassen, I. Nordøy, H. Aas, J. Kjekshus, S. Simonsen, S. S. Frøland, and L. Gullestad. Elevated circulating levels of c-c chemokines in patients with congestive heart failure. *Circulation*, 97(12):1136–43, Mar 1998.
- [3] P. Aukrust, T. Ueland, E. Lien, K. Bendtzen, F. Muller, A. K. Andreassen, I. Nordoy, H. Aass, T. Espevik, S. Simonsen, S. S. Froland, and L. Gullestad. Cytokine network in congestive heart failure secondary to ischemic or idiopathic dilated cardiomyopathy. *Am J Cardiol*, 83(3):376–82, 1999. doi: S0002-9149(98)00872-8[pii].
- [4] S. Baldasseroni, C. Opasich, M. Gorini, D. Lucci, N. Marchionni, M. Marini, C. Campana, G. Perini, A. Deorsola, G. Masotti, L. Tavazzi, A. P. Maggioni, and Italian Network on Congestive Heart Failure Investigators. Left bundle-branch block is associated with increased 1-year sudden and total mortality rate in 5517 outpatients with congestive heart failure: a report from the italian network on congestive heart failure. *Am Heart J*, 143(3):398–405, Mar 2002.
- [5] E. Braunwald. Heart failure. *JACC Heart Fail*, 1(1):1–20, 2013. doi: 10.1016/j.jchf.2012.10.002.
- [6] E. Braunwald. The war against heart failure: the lancet lecture. *Lancet*, 2014. doi: 10.1016/S0140-6736(14)61889-4.
- [7] E. Braunwald, C.A. Chidsey, D.C. Harrison, T.E. Gaffney, and R.L. Kahler. Studies on the function of the adrenergic nerve endings in the heart. *Circulation*, 28:958–69, Nov 1963.
- [8] J. Butler, G. C. Fonarow, M. R. Zile, C. S. Lam, L. Roessig, E. B. Schelbert, S. J. Shah, A. Ahmed, R. O. Bonow, J. G. Cleland, R. J. Cody, O. Chioncel, S. P. Collins, P. Dunnmon, G. Filippatos, M. P. Lefkowitz, C. N. Marti, J. J. McMurray, F. Misselwitz, S. Nodari, C. O'Connor, M. A. Pfeffer, B. Pieske, B. Pitt, G. Rosano, H. N. Sabbah, M. Senni, S. D. Solomon, N. Stockbridge, J. R. Teerlink, V. V. Georgiopoulou, and M. Gheorghiade. Deve-

- loping therapies for heart failure with preserved ejection fraction: current state and future directions. *JACC Heart Fail*, 2(2):97–112, 2014. doi: 10.1016/j.jchf.2013.10.006.
- [9] D. J. Campbell and M. A. Koch. Phenotypical and functional specialization of foxp3(+) regulatory t cells. *Nat Rev Immunol*, 11(2):119–30, 2011. doi: nri2916[pii]10.1038/nri2916.
- [10] Y. Chen, B. Escoubet, F. Prunier, J. Amour, W. S. Simonides, B. Vivien, C. Lenoir, M. Heimbürger, C. Choqueux, B. Gellen, B. Riou, J.-B. Michel, W. M. Franz, and J.-J. Mercadier. Constitutive cardiac overexpression of sarcoplasmic/endoplasmic reticulum ca<sup>2+</sup>-atpase delays myocardial failure after myocardial infarction in rats at a cost of increased acute arrhythmias. *Circulation*, 109(15):1898–903, Apr 2004. doi: 10.1161/01.CIR.0000124230.60028.42.
- [11] E. S. Chung, M. Packer, K. H. Lo, A. A. Fasanmade, J. T Willerson, and Anti-TNF Therapy Against Congestive Heart Failure Investigators. Randomized, double-blind, placebo-controlled, pilot trial of infliximab, a chimeric monoclonal antibody to tumor necrosis factor-alpha, in patients with moderate-to-severe heart failure: results of the anti-tnf therapy against congestive heart failure (attach) trial. *Circulation*, 107(25):3133–40, Jul 2003. doi: 10.1161/01.CIR.0000077913.60364.D2.
- [12] A. Deswal, N. J. Petersen, A. M. Feldman, J. B. Young, B. G. White, and D. L. Mann. Cytokines and cytokine receptors in advanced heart failure: an analysis of the cytokine database from the vesnarinone trial (vest). *Circulation*, 103(16):2055–9, Apr 2001.
- [13] U. Eriksson, R. Ricci, L. Hunziker, M. O. Kurrer, G. Y. Oudit, T. H. Watts, I. Sonderegger, K. Bachmaier, M. Kopf, and J. M. Penninger. Dendritic cell-induced autoimmune heart failure requires cooperation between adaptive and innate immunity. *Nat Med*, 9(12):1484–90, Dec 2003. doi: 10.1038/nm960.
- [14] D. Fairweather, Z. Kaya, G. R. Shellam, C. M. Lawson, and N. R. Rose. From infection to autoimmunity. *J Autoimmun*, 16(3):175–186, 2001.
- [15] D. Fairweather, K. A. Stafford, and Y. K. Sung. Update on coxsackievirus b3 myocarditis. *Curr Opin Rheumatol*, 24(4):401–7, 2012. doi: 10.1097/BOR.0b013e328353372d.
- [16] S. L. Gaffen, R. Jain, A. V. Garg, and D. J. Cua. The IL-23-IL-17 immune axis: from mechanisms to therapeutic testing. *Nat Rev Immunol*, 14(9):585–600, Sep 2014. doi: 10.1038/nri3707.
- [17] M. S. Gandhi, G. Kamalov, A. U. Shahbaz, S. K. Bhattacharya, R. A. Ahokas, Y. Sun, I. C. Gerling, and K. T. Weber. Cellular and molecular pathways to myocardial necrosis and replacement fibrosis. *Heart Fail Rev*, 16(1):23–34, Jan 2011. doi: 10.1007/s10741-010-9169-3.

- [18] A. G. Garcia, R. M. Wilson, J. Heo, N. R. Murthy, S. Baid, N. Ouchi, and F. Sam. Interferon-gamma ablation exacerbates myocardial hypertrophy in diastolic heart failure. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 303(5):H587–96, 2012. doi: 10.1152/ajpheart.00298.2012.
- [19] G. R. Giugliano, R. P. Giugliano, C. M. Gibson, and R. E. Kuntz. Meta-analysis of corticosteroid treatment in acute myocardial infarction. *Am J Cardiol*, 91(9):1055–9, May 2003.
- [20] L. Gullestad and P. Aukrust. Review of trials in chronic heart failure showing broad-spectrum anti-inflammatory approaches. *Am J Cardiol*, 95(11A):17C–23C; discussion 38C–40C, Jun 2005. doi: 10.1016/j.amjcard.2005.03.008.
- [21] S. Gupta, A. M. Pablo, Xc Jiang, N. Wang, A. R. Tall, and C. Schindler. Ifn-gamma potentiates atherosclerosis in apoe knock-out mice. *J Clin Invest*, 99(11):2752–61, 1997. doi: 10.1172/JCI119465.
- [22] S. Gupta, D. W. Markham, M. H. Drazner, and P. P. Mammen. Fulminant myocarditis. *Nat Clin Pract Cardiovasc Med*, 5(11):693–706, 2008. doi: ncpcardio1331[pii]10.1038/ncpcardio1331.
- [23] K. K. Ho, J. L. Pinsky, W. B. Kannel, and D. Levy. The epidemiology of heart failure: the framingham study. *J Am Coll Cardiol*, 22(4 Suppl A):6A–13A, Oct 1993.
- [24] U. Hofmann, N. Beyersdorf, J. Weirather, A. Podolskaya, J. Bauersachs, G. Ertl, T. Kerkau, and S. Frantz. Activation of CD4+ T lymphocytes improves wound healing and survival after experimental myocardial infarction in mice. *Circulation*, 125(13):1652–63, 2012. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.111.044164.
- [25] S. Itoh, N. Kimura, R. C. Axtell, J. B. Velotta, Y. Gong, X. Wang, N. Kajiwara, A. Nambu, E. Shimura, H. Adachi, Y. Iwakura, H. Saito, K. Okumura, K. Sudo, L. Steinman, R. C. Robbins, S. Nakae, and M. P. Fischbein. Interleukin-17 accelerates allograft rejection by suppressing regulatory T cell expansion. *Circulation*, 124(11 Suppl):S187–96, 2011. doi: 124/11\_suppl\_1/S187[pii]10.1161/CIRCULATIONAHA.110.014852.
- [26] I. Kindermann, M. Kindermann, R. Kandolf, K. Klingel, B. Bultmann, T. Muller, A. Lindinger, and M. Bohm. Predictors of outcome in patients with suspected myocarditis. *Circulation*, 118(6):639–48, 2008. doi: CIRCULATIONAHA.108.769489[pii]10.1161/CIRCULATIONAHA.108.769489.
- [27] M. Koch, K. Savvatis, M. Scheeler, S. Dhayat, K. Bonaventura, T. Pohl, A. Riad, S. Bulfone-Paus, H. P. Schultheiss, and C. Tschope. Immunosuppression with an interleukin-2 fusion protein leads to improved LV function in experimental ischemic cardiomyopathy. *Int Immunopharmacol*, 10(2):207–12, 2010. doi: S1567-5769(09)00350-6[pii]10.1016/j.intimp.2009.11.001.

- [28] M. Kortylewski, H. Xin, M. Kujawski, H. Lee, Y. Liu, T. Harris, C. Drake, D. Pardoll, and H. Yu. Regulation of the IL-23 and IL-12 balance by Stat3 signaling in the tumor microenvironment. *Cancer Cell*, 15(2):114–23, 2009. doi: S1535-6108(08)00437-6[pii]10.1016/j.ccr.2008.12.018.
- [29] U. Kuhl, M. Noutsias, B. Seeberg, and H. P. Schultheiss. Immunohistological evidence for a chronic intramyocardial inflammatory process in dilated cardiomyopathy. *Heart*, 75(3): 295–300, 1996.
- [30] U. Kunzendorf, T. Pohl, S. Bulfone-Paus, H. Krause, M. Notter, A. Onu, G. Walz, and T. Diamantstein. Suppression of cell-mediated and humoral immune responses by an interleukin-2-immunoglobulin fusion protein in mice. *J Clin Invest*, 97(5):1204–10, Mar 1996. doi: 10.1172/JCI118534.
- [31] S. P. Levick and P. H. Goldspink. Could interferon-gamma be a therapeutic target for treating heart failure? *Heart Fail Rev*, 19(2):227–36, 2014. doi: 10.1007/s10741-013-9393-8.
- [32] R. Lozano, M. Naghavi, K. Foreman, S. Lim, K. Shibuya, V. Aboyans, J. Abraham, T. Adair, R. Aggarwal, S. Y. Ahn, M. Alvarado, H. R. Anderson, L. M. Anderson, K. G. Andrews, C. Atkinson, L. M. Baddour, S. Barker-Collo, D. H. Bartels, M. L. Bell, E. J. Benjamin, D. Bennett, K. Bhalla, B. Bikbov, A. Bin Abdulhak, G. Birbeck, F. Blyth, I. Bolliger, S. Boufous, C. Bucello, M. Burch, P. Burney, J. Carapetis, H. Chen, D. Chou, S. S. Chugh, L. E. Coffeng, S. D. Colan, S. Colquhoun, K. E. Colson, J. Condon, M. D. Connor, L. T. Cooper, M. Corriere, M. Cortinovis, K. C. de Vaccaro, W. Couser, B. C. Cowie, M. H. Criqui, M. Cross, K. C. Dabhadkar, N. Dahodwala, D. De Leo, L. Degenhardt, A. Delossantos, J. Denenberg, D. C. Des Jarlais, S. D. Dharmaratne, E. R. Dorsey, T. Driscoll, H. Duber, B. Ebel, P. J. Erwin, P. Espindola, M. Ezzati, V. Feigin, A. D. Flaxman, M. H. Forouzanfar, F. G. R. Fowkes, R. Franklin, M. Fransen, M. K. Freeman, S. E. Gabriel, E. Gakidou, F. Gaspari, R. F. Gillum, D. Gonzalez-Medina, Y. A. Halasa, D. Haring, J. E. Harrison, R. Havmoeller, R. J. Hay, B. Hoen, P. J. Hotez, D. Hoy, K. H. Jacobsen, S. L. James, R. Jasrasaria, S. Jayaraman, N. Johns, G. Karthikeyan, N. Kassebaum, A. Keren, J.-P. Khoo, L. M. Knowlton, O. Kobusingye, A. Koranteng, R. Krishnamurthi, M. Lipnick, S. E. Lipshultz, S. L. Ohno, J. Mabweijano, M. F. MacIntyre, L. Mallinger, L. March, G. B. Marks, R. Marks, A. Matsumori, R. Matzopoulos, B. M. Mayosi, J. H. McAnulty, M. M. McDermott, J. McGrath, G. A. Mensah, T. R. Merriman, C. Michaud, M. Miller, T. R. Miller, C. Mock, A. O. Mocumbi, A. A. Mokdad, A. Moran, K. Mulholland, M. N. Nair, L. Naldi, K. M. V. Narayan, K. Nasser, P. Norman, M. O'Donnell, S. B. Omer, K. Ortblad, R. Osborne, D. Ozgediz, B. Pahari, J. D. Pandian, A. P. Rivero, R. P. Padilla, F. Perez-Ruiz, N. Perico, D. Phillips, K. Pierce, C. A. Pope, 3rd, E. Porrini, F. Pourmalek, M. Raju, D. Ranganathan, J. T. Rehm, D. B. Rein, G. Remuzzi, F. P. Rivara, T. Roberts, F. R. De León, L. C. Rosen-

- feld, L. Rushton, R. L. Sacco, J. A. Salomon, U. Sampson, E. Sanman, D. C. Schwebel, M. Segui-Gomez, D. S. Shepard, D. Singh, J. Singleton, K. Sliwa, E. Smith, A. Steer, J. A. Taylor, B. Thomas, I. M. Tleyjeh, J. A. Towbin, T. Truelsen, E. A. Undurraga, N. Venkatasubramanian, L. Vijayakumar, T. Vos, G. R. Wagner, M. Wang, W. Wang, K. Watt, M. A. Weinstock, R. Weintraub, J. D. Wilkinson, A. D. Woolf, S. Wulf, P.-H. Yeh, P. Yip, A. Zabetian, Z.-J. Zheng, A. D. Lopez, C. J. L. Murray, M. A. AlMazroa, and Z. A. Memish. Global and regional mortality from 235 causes of death for 20 age groups in 1990 and 2010: a systematic analysis for the global burden of disease study 2010. *Lancet*, 380(9859): 2095–128, Dec 2012. doi: 10.1016/S0140-6736(12)61728-0.
- [33] Douglas L Mann, John J V McMurray, Milton Packer, Karl Swedberg, Jeffrey S Borer, Wilson S Colucci, Jacques Djian, Helmut Drexler, Arthur Feldman, Lars Kober, Henry Krum, Peter Liu, Markku Nieminen, Luigi Tavazzi, Dirk Jan van Veldhuisen, Anders Waldenstrom, Marshelle Warren, Arne Westheim, Faiez Zannad, and Thomas Fleming. Targeted anticytokine therapy in patients with chronic heart failure: results of the randomized etanercept worldwide evaluation (renewal). *Circulation*, 109(13):1594–602, Apr 2004. doi: 10.1161/01.CIR.0000124490.27666.B2.
- [34] K. Matsumoto, M. Ogawa, J. Suzuki, Y. Hirata, R. Nagai, and M. Isobe. Regulatory t lymphocytes attenuate myocardial infarction-induced ventricular remodeling in mice. *Int Heart J*, 52(6):382–7, 2011.
- [35] B. S. McKenzie, R. A. Kastelein, and D. J. Cua. Understanding the il-23-il-17 immune pathway. *Trends Immunol*, 27(1):17–23, 2006. doi: 10.1016/j.it.2005.10.003.
- [36] John J V McMurray, Stamatis Adamopoulos, Stefan D Anker, Angelo Auricchio, Michael Böhm, Kenneth Dickstein, Volkmar Falk, Gerasimos Filippatos, Cândida Fonseca, Miguel Angel Gomez-Sanchez, Tiny Jaarsma, Lars Køber, Gregory Y H Lip, Aldo Pietro Maggioni, Alexander Parkhomenko, Burkert M Pieske, Bogdan A Popescu, Per K Rønnevik, Frans H Rutten, Juerg Schwitler, Petar Seferovic, Janina Stepinska, Pedro T Trindade, Adriaan A Voors, Faiez Zannad, Andreas Zeiher, Task Force for the Diagnosis and Treatment of Acute and Chronic Heart Failure 2012 of the European Society of Cardiology, Jeroen J Bax, Helmut Baumgartner, Claudio Ceconi, Veronica Dean, Christi Deaton, Robert Fagard, Christian Funck-Brentano, David Hasdai, Arno Hoes, Paulus Kirchhof, Juhani Knuuti, Philippe Kolh, Theresa McDonagh, Cyril Moulin, Bogdan A Popescu, Zeljko Reiner, Udo Sechtem, Per Anton Sirnes, Michal Tendera, Adam Torbicki, Alec Vahanian, Stephan Windecker, Theresa McDonagh, Udo Sechtem, Luis Almenar Bonet, Panayiotis Avraamides, Hisham A Ben Lamin, Michele Brignole, Antonio Coca, Peter Cowburn, Henry Dargie, Perry Elliott, Frank Arnold Flachskampf, Guido Francesco Guida, Suzanna Hardman, Bernard lung, Bela Merkely, Christian Mueller, John N Nanas, Olav Wendelboe

- Nielsen, Stein Orn, John T Parissis, Piotr Ponikowski, and ESC Committee for Practice Guidelines. Esc guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure 2012: The task force for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure 2012 of the european society of cardiology. developed in collaboration with the heart failure association (hfa) of the esc. *Eur J Heart Fail*, 14(8):803–69, Aug 2012. doi: 10.1093/eurjhf/hfs105.
- [37] Dariush Mozaffarian, Emelia J Benjamin, Alan S Go, Donna K Arnett, Michael J Blaha, Mary Cushman, Sarah de Ferranti, Jean-Pierre Després, Heather J Fullerton, Virginia J Howard, Mark D Huffman, Suzanne E Judd, Brett M Kissela, Daniel T Lackland, Judith H Lichtman, Lynda D Lisabeth, Simin Liu, Rachel H Mackey, David B Matchar, Darren K McGuire, Emile R Mohler, 3rd, Claudia S Moy, Paul Muntner, Michael E Mussolino, Khurram Nasir, Robert W Neumar, Graham Nichol, Latha Palaniappan, Dilip K Pandey, Mathew J Reeves, Carlos J Rodriguez, Paul D Sorlie, Joel Stein, Amytis Towfighi, Tanya N Turan, Salim S Virani, Joshua Z Willey, Daniel Woo, Robert W Yeh, and Melanie B Turner. Heart disease and stroke statistics-2015 update: A report from the american heart association. *Circulation*, Dec 2014. doi: 10.1161/CIR.0000000000000152.
- [38] A. J. Nauta and W. E. Fibbe. Immunomodulatory properties of mesenchymal stromal cells. *Blood*, 110(10):3499–506, 2007. doi: blood-2007-02-069716[pii]10.1182/blood-2007-02-069716.
- [39] M A Opavsky, J Penninger, K Aitken, W H Wen, F Dawood, T Mak, and P Liu. Susceptibility to myocarditis is dependent on the response of alphabeta t lymphocytes to coxsackieviral infection. *Circ Res*, 85(6):551–558, 1999.
- [40] G. Ren, L. Zhang, X. Zhao, G. Xu, Y. Zhang, A. I. Roberts, R. C. Zhao, and Y. Shi. Mesenchymal stem cell-mediated immunosuppression occurs via concerted action of chemokines and nitric oxide. *Cell Stem Cell*, 2(2):141–50, 2008. doi: S1934-5909(07)00314-1[pii] 10.1016/j.stem.2007.11.014.
- [41] A. Riad, S. Jager, M. Sobirey, F. Escher, A. Yaulema-Riss, D. Westermann, A. Karatas, M. M. Heimesaat, S. Bereswill, D. Dragun, M. Pauschinger, H. P. Schultheiss, and C. Tschope. Toll-like receptor-4 modulates survival by induction of left ventricular remodeling after myocardial infarction in mice. *J Immunol*, 180(10):6954–61, 2008. doi: 180/10/6954[pii].
- [42] Véronique L Roger. Epidemiology of heart failure. *Circ Res*, 113(6):646–59, Aug 2013. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.113.300268.
- [43] K. Savvatis, S. van Linthout, K. Miteva, K. Pappritz, D. Westermann, J. C. Schefold, G. Fusch, A. Weithauser, U. Rauch, P. M. Becher, K. Klingel, J. Ringe, A. Kurtz, H. P.

- Schultheiss, and C. Tschöpe. Mesenchymal stromal cells but not cardiac fibroblasts exert beneficial systemic immunomodulatory effects in experimental myocarditis. *PLoS One*, 7(7):e41047, 2012. doi: 10.1371/journal.pone.0041047.
- [44] K. Savvatis, I. Müller, M. Frohlich, K. Pappritz, C. Zietsch, N. Hamdani, K. Grote, B. Schieffer, K. Klingel, S. Van Linthout, W. A. Linke, H. P. Schultheiss, and C. Tschöpe. Interleukin-6 receptor inhibition modulates the immune reaction and restores titin phosphorylation in experimental myocarditis. *Basic Res Cardiol*, 109(6):449–462, 2014. doi: 10.1007/s00395-014-0449-2.
- [45] K. Savvatis, K. Pappritz, P. M. Becher, D. Lindner, C. Zietsch, H. D. Volk, D. Westermann, H. P. Schultheiss, and C. Tschöpe. Interleukin-23 deficiency leads to impaired wound healing and adverse prognosis after myocardial infarction. *Circ Heart Fail*, 7(1):161–171, 2014. doi: 10.1161/CIRCHEARTFAILURE.113.000604.
- [46] Jian Shan, Matthew J Betzenhauser, Alexander Kushnir, Steven Reiken, Albano C Meli, Anetta Wronska, Miroslav Dura, Bi-Xing Chen, and Andrew R Marks. Role of chronic ryanodine receptor phosphorylation in heart failure and  $\beta$ -adrenergic receptor blockade in mice. *J Clin Invest*, 120(12):4375–87, Dec 2010. doi: 10.1172/JCI37649.
- [47] Y. Shi, M. Fukuoka, G. Li, Y. Liu, M. Chen, M. Konviser, X. Chen, M. A. Opavsky, and P. P. Liu. Regulatory t cells protect mice against coxsackievirus-induced myocarditis through the transforming growth factor beta-coxsackie-adenovirus receptor pathway. *Circulation*, 121(24):2624–34, 2010. doi: CIRCULATIONAHA.109.893248[pil]10.1161/CIRCULATIONAHA.109.893248.
- [48] T Shioi, A Matsumori, Y Kihara, M Inoko, K Ono, Y Iwanaga, T Yamada, A Iwasaki, K Matsushima, and S Sasayama. Increased expression of interleukin-1 beta and monocyte chemoattractant and activating factor/monocyte chemoattractant protein-1 in the hypertrophied and failing heart with pressure overload. *Circ Res*, 81(5):664–71, Nov 1997.
- [49] T. Simon, S. Taleb, N. Danchin, L. Laurans, B. Rousseau, S. Cattan, J. M. Montely, O. Dubourg, A. Tedgui, S. Kotti, and Z. Mallat. Circulating levels of interleukin-17 and cardiovascular outcomes in patients with acute myocardial infarction. *Eur Heart J*, 34(8):570–7, 2013. doi: 10.1093/eurheartj/ehs263.
- [50] P K Singal, N Khaper, V Palace, and D Kumar. The role of oxidative stress in the genesis of heart disease. *Cardiovasc Res*, 40(3):426–32, Dec 1998.
- [51] C. E. Sutton, S. J. Lalor, C. M. Sweeney, C. F. Brereton, E. C. Lavelle, and K. H. Mills. Interleukin-1 and il-23 induce innate il-17 production from gammadelta t cells, amplifying th17 responses and autoimmunity. *Immunity*, 31(2):331–41, 2009. doi: 10.1016/j.immuni.

- 2009.08.001.
- [52] C. Tang, S. Chen, H. Qian, and W. Huang. Interleukin-23: as a drug target for autoimmune inflammatory diseases. *Immunology*, 135(2):112–24, 2012. doi: 10.1111/j.1365-2567.2011.03522.x.
- [53] T. T. Tang, J. Yuan, Z. F. Zhu, W. C. Zhang, H. Xiao, N. Xia, X. X. Yan, S. F. Nie, J. Liu, S. F. Zhou, J. J. Li, R. Yao, M. Y. Liao, X. Tu, Y. H. Liao, and X. Cheng. Regulatory t cells ameliorate cardiac remodeling after myocardial infarction. *Basic Res Cardiol*, 107(1):1–17, 2012. doi: 10.1007/s00395-011-0232-6.
- [54] M Testa, M Yeh, P Lee, R Fanelli, F Loperfido, J W Berman, and T H LeJemtel. Circulating levels of cytokines and their endogenous modulators in patients with mild to severe congestive heart failure due to coronary artery disease or hypertension. *J Am Coll Cardiol*, 28(4):964–71, Oct 1996.
- [55] L. Timmers, J. P. Sluijter, J. K. van Keulen, I. E. Hofer, M. G. Nederhoff, M. J. Goumans, P. A. Doevendans, C. J. van Echteld, J. A. Joles, P. H. Quax, J. J. Piek, G. Pasterkamp, and D. P. de Kleijn. Toll-like receptor 4 mediates maladaptive left ventricular remodeling and impairs cardiac function after myocardial infarction. *Circ Res*, 102(2):257–64, 2008. doi: CIRCRESAHA.107.158220[pii]10.1161/CIRCRESAHA.107.158220.
- [56] C. Toma, M. F. Pittenger, K. S. Cahill, B. J. Byrne, and P. D. Kessler. Human mesenchymal stem cells differentiate to a cardiomyocyte phenotype in the adult murine heart. *Circulation*, 105(1):93–8, 2002.
- [57] G Torre-Amione, S Kapadia, C Benedict, H Oral, J B Young, and D L Mann. Proinflammatory cytokine levels in patients with depressed left ventricular ejection fraction: a report from the studies of left ventricular dysfunction (SOLVD). *J Am Coll Cardiol*, 27(5):1201–6, Apr 1996. doi: 10.1016/0735-1097(95)00589-7.
- [58] S. W. van den Borne, J. Diez, W. M. Blankesteyn, J. Verjans, L. Hofstra, and J. Narula. Myocardial remodeling after infarction: the role of myofibroblasts. *Nat Rev Cardiol*, 7(1): 30–7, 2010. doi: nrcardio.2009.199[pii]10.1038/nrcardio.2009.199.
- [59] S. Van Linthout, K. Savvatis, K. Miteva, J. Peng, J. Ringe, K. Warstat, C. Schmidt-Lucke, M. Sittlinger, H. P. Schultheiss, and C. Tschope. Mesenchymal stem cells improve murine acute coxsackievirus b3-induced myocarditis. *Eur Heart J*, 32(17):2168–78, 2011. doi: 10.1093/eurheartj/ehq467.
- [60] Rebecca Vigen, Thomas M Maddox, and Larry A Allen. Aging of the united states population: impact on heart failure. *Curr Heart Fail Rep*, 9(4):369–74, Dec 2012. doi: 10.1007/s11897-012-0114-8.

- [61] D. Westermann, D. Lindner, M. Kasner, C. Zietsch, K. Savvatis, F. Escher, J. von Schlippenbach, C. Skurk, P. Steendijk, A. Riad, W. Poller, H. P. Schultheiss, and C. Tschope. Cardiac inflammation contributes to changes in the extracellular matrix in patients with heart failure and normal ejection fraction. *Circ Heart Fail*, 4(1):44–52, 2011. doi: 10.1161/CIRCHEARTFAILURE.109.931451.
- [62] D. Westermann, K. Savvatis, D. Lindner, C. Zietsch, P. M. Becher, E. Hammer, M. M. Heimesaat, S. Bereswill, U. Volker, F. Escher, A. Riad, J. Plendl, K. Klingel, W. Poller, H. P. Schultheiss, and C. Tschope. Reduced degradation of the chemokine mcp-3 by matrix metalloproteinase-2 exacerbates myocardial inflammation in experimental viral cardiomyopathy. *Circulation*, 124(19):2082–93, 2011. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.111.035964.
- [63] S. C. Whitman, P. Ravisankar, H. Elam, and A. Daugherty. Exogenous interferon-gamma enhances atherosclerosis in apolipoprotein e<sup>-/-</sup> mice. *Am J Pathol*, 157(6):1819–24, 2000.
- [64] I. E. Willems, M. G. Havenith, J. G. De Mey, and M. J. Daemen. The alpha-smooth muscle actin-positive cells in healing human myocardial scars. *Am J Pathol*, 145(4):868–75, 1994.
- [65] T. Yajima and K. U. Knowlton. Viral myocarditis: from the perspective of the virus. *Circulation*, 119(19):2615–24, 2009. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.108.766022.
- [66] F. Yang, W. F. Wu, Y. L. Yan, Y. Pang, Q. Kong, and Y. L. Huang. Expression of il-23/th17 pathway in a murine model of coxsackie virus b3-induced viral myocarditis. *Virol J*, 8:301, 2011. doi: 10.1186/1743-422X-8-301.
- [67] Arne Yndestad, Jan Kristian Damas, Erik Oie, Thor Ueland, Lars Gullestad, and Pal Aukrust. Systemic inflammation in heart failure—the whys and wherefores. *Heart Fail Rev*, 11(1):83–92, 2006.
- [68] J. Yuan, M. Yu, Q. W. Lin, A. L. Cao, X. Yu, J. H. Dong, J. P. Wang, J. H. Zhang, M. Wang, H. P. Guo, X. Cheng, and Y. H. Liao. Th17 cells contribute to viral replication in coxsackievirus b3-induced acute viral myocarditis. *J Immunol*, 185(7):4004–10, 2010. doi: 10.4049/jimmunol.1001718.
- [69] Salim Yusuf, Sumathy Rangarajan, Koon Teo, Shofiqul Islam, Wei Li, Lisheng Liu, Jian Bo, Qinglin Lou, Fanghong Lu, Tianlu Liu, Liu Yu, Shiyong Zhang, Prem Mony, Sumathi Swaminathan, Viswanathan Mohan, Rajeev Gupta, Rajesh Kumar, Krishnapillai Vijayakumar, Scott Lear, Sonia Anand, Andreas Wielgosz, Rafael Diaz, Alvaro Avezum, Patricio Lopez-Jaramillo, Fernando Lanus, Khalid Yusoff, Noorhassim Ismail, Romaina Iqbal, Omar Rahman, Annika Rosengren, Afzalhussein Yusufali, Roya Kelishadi, Annamarie Kruger, Thandi Puoane, Andrzej Szuba, Jephath Chifamba, Aytekin Oguz, Matthew McQueen, Martin

McKee, Gilles Dagenais, and PURE Investigators. Cardiovascular risk and events in 17 low-, middle-, and high-income countries. *N Engl J Med*, 371(9):818–27, Aug 2014. doi: 10.1056/NEJMoa1311890.

[70] J. Zhu and W. E. Paul. Cd4 t cells: fates, functions, and faults. *Blood*, 112(5):1557–69, 2008. doi: 112/5/1557[pii]10.1182/blood-2008-05-078154.

# Danksagung

Ich möchte mich ganz herzlich bei Herrn Professor Dr. med. Carsten Tschöpe bedanken. In seiner Arbeitsgruppe begann mein wissenschaftlicher Werdegang. Er betreute mich seit der Zeit meiner Promotion bis jetzt, war immer mein Mentor und ermöglichte meine eigenständige wissenschaftliche Entwicklung durch seine ständige Unterstützung.

Besonderer Dank gilt für Herrn Professor Dr. med. Hans - Dieter Volk, der für mich immer seinen Rat und seine wissenschaftliche Hilfe bereit hatte und während meiner Zeit als Clinical Scientist im Berlin-Brandenburg Centrum für Regenerative Therapien wertvoller Mentor war.

Weiterhin danke ich Herrn Professor Dr. med. Heinz - Peter Schultheiss für seine Unterstützung während meiner wissenschaftlichen und klinischen Laufbahn in seiner Klinik und Herrn Professor Dr. med. Burkert Pieske für seine wertvolle Unterstützung während meines Habilitationsverfahrens.

Außerdem möchte ich mich ganz herzlich bei den Mitgliedern meiner Arbeitsgruppe, besonders Frau Dr. Kathleen Pappritz und Frau Kerstin Puhl, bedanken, mit denen ich all diese Jahre zusammen gearbeitet habe. Ohne ihre Hilfe wäre diese Arbeit nicht möglich gewesen.

Von ganzem Herzen danke ich meiner Familie für ihre ständige Unterstützung und Betreuung, die mich als Person geformt haben. Herausragend danken möchte ich auch meiner Ehefrau Frau Professor Dr. med. Christina Fotopoulou, die mich in den letzten 10 Jahren über meine gesamte klinische und wissenschaftliche Entwicklung begleitet hat und mir immer verständnisvoll und hilfsbereit bei all den Schwierigkeiten und Freuden beigestanden hat.

# Erklärung

§ 4 Abs.3 (k) der HabOMed der Charité

Hiermit erkläre ich, dass

- weder früher noch gleichzeitig ein Habilitationsverfahren durchgeführt oder angemeldet wurde
- die vorgelegte Habilitationsschrift ohne fremde Hilfe verfasst, die beschriebenen Ergebnisse selbst gewonnen sowie die verwendeten Hilfsmittel, die Zusammenarbeit mit anderen Wissenschaftlern/Wissenschaftlerinnen und mit technischen Hilfskräften sowie die verwendete Literatur vollständig in der Habilitationsschrift angegeben wurden,
- mir die geltende Habilitationsordnung bekannt ist.

Ich erkläre ferner, dass mir die Satzung der Charité – Universitätsmedizin Berlin zur Sicherung Guter Wissenschaftlicher Praxis bekannt ist und ich mich zur Einhaltung dieser Satzung verpflichte.

Berlin, den 20. Januar 2015

Datum

Unterschrift