

## 4. Diskussion

Die Pathogenese der akuten CVB3-induzierten Myokarditis ist sowohl beim Menschen als auch in den verschiedenen Tiermodellen weitestgehend ungeklärt. Es existieren zwar eine Reihe von Erklärungsansätzen, aber ein wirkungsvolles kausales Behandlungskonzept konnte daraus bislang nicht abgeleitet werden. So wurde in der vorliegenden Arbeit versucht, besonders die Pathomechanismen des extrazellulären Remodeling zu analysieren und den Verlauf der Erkrankung durch Behandlung mit IL-4 zu verbessern.

Im folgenden Kapitel werden die Ergebnisse dieser Arbeit vergleichend mit Ergebnissen anderer Arbeitsgruppen zu diesem Thema diskutiert.

### 4.1 Nachweis der Kollagene Typ I und III

Kardiales Remodeling ist ein wichtiger Kofaktor bei der Entwicklung kardialer Dysfunktion und kann zur Verringerung der kardialen Compliance, zur Erhöhung der Steifheit der Ventrikel und zur linksventrikulären Dilatation führen.

Die strukturellen Veränderungen der kollagenen extrazellulären Matrixkomponenten bei akuter Myokarditis und bei DCM werden in der Literatur kontrovers diskutiert, dabei gilt besonders die verwendete Nachweismethode als entscheidender Faktor für anscheinend divergierende Ergebnisse. Das wichtigste und häufigste Protein der EZM ist Kol I, das *in vivo* dicke, unlösliche und stark quervernetzte Fibrillen ausbildet und somit sehr schwierig zu untersuchen ist.

In dieser Studie zeigte sich für Kol I nur ein minimaler Anstieg der mRNA-Expression bei den CBV3-infizierten Mäusen gegenüber den Kontrolltieren (Nachweis durch RT-PCR und ISH). Der Kol I-Proteinnachweis mittels Western Blot zeigte hingegen einen deutlichen Anstieg des Kol I-Gehalts der virusinfizierten Herzen. Die Diskrepanz dieser Ergebnisse ließ sich jedoch erklären durch die Eigenschaft des Western Blots, nur lösliches Kollagen nachweisen zu können. So indizieren diese beiden Ergebnisse, dass bei CBV3-Infektion die mRNA-Expression von Kol I nicht beeinflusst wird, aber eine posttranslationale Prozessierung stattfindet, die zu einem erhöhten Nachweis von löslichem Kol I im Western Blot führt.

Auch andere Arbeitsgruppen konnten diesen Effekt der posttranslationalen Kollagendegradation in verschiedenen Tiermodellen aufzeigen. Woodiwiss et al.<sup>155</sup> zeigten dies am Rattenmodell mit artifiziell erzeugter, erhöhter kardialer Nachlast mit resultierendem hypertrophischen Herzversagen, und Spinale et al.<sup>156</sup> zeigte eine Verminderung von kollagenen Quervernetzungen am Schweinmodell mit Tachykardie-induzierter Kardiomyopathie. Gunja-Smith et al.<sup>157</sup> zeigten, vergleichend mit Kontrollherzen, am explantierten Menschenherzen mit DCM eine Verdopplung der Kollagenkonzentration, die jedoch mit einem halbierten Gehalt an reifen kollagenen Quervernetzungen einherging. Alle diese Arbeiten beschrieben extrazelluläres Remodeling, das mit einer Abnahme der Quervernetzung und einer Ventrikeldilatation assoziiert war.

Eine Erklärung für die erhöhte Degradation von extrazellulären Matrixkomponenten, verbunden mit einer Abnahme des reifen, quervernetzten Kollagen oder einer Abnahme des Ratios von unlöslichem zu löslichem Kollagen, fanden Gunja-Smith et al.<sup>157</sup> sowie Li YY et al.<sup>158</sup>. Sie wiesen eine deutliche Erhöhung von MMPs bei DCM-Patienten nach. Auch Ducharme et al.<sup>109</sup> zeigten, dass eine Gendelektion von MMP-9 die linksventrikuläre Dilatation nach Myokardinfarkt verhindert.

Gegenregulatorisch zur erhöhten Degradation von Kol I und zur verschlechterten hämodynamischen Funktion (siehe 3.4) wäre ein Anstieg der mRNA-Expression für Kol I zu erwarten, dies geschieht jedoch nicht, da Veränderungen des Expressionsniveaus hauptsächlich durch Zytokine reguliert werden<sup>159</sup>, die in diesem Stadium der Erkrankung wohl nicht ausreichend modulatorisch hochreguliert sind.

Für Kollagen Typ III wurde in dieser Studie keine Analyse des Proteingehalts durchgeführt. Es zeigte sich jedoch auf mRNA-Ebene bei Virusinfektion eine geringfügige Abnahme der mRNA-Expression und unter Behandlung mit IL-4 eine deutliche Zunahme der mRNA-Expression. Diese Ergebnisse lassen sich zwar durch den Einfluss der Zytokine erklären, sie zeigten jedoch keine statistischen Signifikanzen.

## 4.2 Nachweis der Zytokine und deren Einfluss auf die EZM und auf MMPs

Eine besondere Bedeutung beim Remodeling der EZM bei akuter Myokarditis und DCM wird den modulatorischen Effekten des Immunsystems zugesprochen, doch auch hier werden die vermuteten Wirkungen auf die EZM in der Literatur kontrovers diskutiert.

In dieser Studie zeigte sich am 10. Tag der viralen Myokarditis ein deutlicher Anstieg der Expression der proinflammatorischen Zytokine TNF- $\alpha$  und INF- $\gamma$ . Wie bereits unter 1.4.2 beschrieben, führen beide Zytokine zu einer Abnahme der Expression der Kollagene Typ I und Typ III und induzieren die Expression matrixabauender MMPs *in vitro*. Die Ergebnisse dieser Arbeit zeigten jedoch nur eine geringe Abnahme der Expression von Kol III und eine minimale Zunahme der Expression von Kol I. Somit scheinen sich in unserem Mausmodell die Effekte einer induzierten Synthese der Kollagene durch TGF- $\beta_1$ <sup>160</sup> und einer gehemmten Synthese durch TNF- $\alpha$  und INF- $\gamma$  gegenseitig aufzuheben.

Es ließ sich jedoch mittels Western Blot eine deutliche Induktion kardialen Remodelings bei akuter Myokarditis nachweisen, und somit scheinen die Ergebnisse auf eine posttranslationale Beeinflussung der strukturellen Komponenten der EZM zu deuten. Für TNF- $\alpha$  und INF- $\gamma$  konnte ein induzierender Effekt auf MMPs nachgewiesen werden, und somit scheinen sie indirekt myokardiales Kollagenremodeling durch verstärkten Abbau zu induzieren.

Diese Ergebnisse stehen im Einklang mit den Resultaten verschiedener Arbeitsgruppen. So fanden Shioi et al.<sup>29</sup> im Encephalomyokarditis Virus infizierten Mausmodell und Seko et al.<sup>42</sup> im CVB3 infizierten Mausmodell die höchsten Expressionswerte für TNF- $\alpha$  und INF- $\gamma$  am 7. Tag p.i., führten jedoch keinen semiquantitativen Vergleich mit Kontrollgruppen durch und untersuchten die Expression nicht am 10. Tag p.i..

Vergleichende Literaturangaben zur Induktion von MMPs und zur herabgesetzten Expression von Kollagenen durch TNF- $\alpha$  und INF- $\gamma$  wurden bereits unter 1.4.2 vorgestellt. Ein direkter Nachweis einer erhöhten Expression von MMPs und einer verminderten Expression von TIMPs bei experimenteller, viraler Myokarditis wurde bei unserem Mausmodell auch direkt nachgewiesen<sup>160</sup>.

### 4.3 Behandlung mit IL-4

Durch den immunmodulatorischen Effekt der IL-4-Behandlung sollte in dieser Arbeit die  $T_{H2}$ -abhängige Zytokinproduktion induziert werden, um somit therapeutisch den Verlauf der Myokarditis zu verbessern.

Ergebnisse unserer Arbeitsgruppe zeigten, dass die IL-4-Behandlung zu einer verstärkten Expression der  $T_{H2}$ -abhängigen Zytokine IL-4 und IL-6 führte, was als Erfolg der Therapie gedeutet werden konnte. Als Marker der  $T_{H1}$ -abhängigen Zytokinproduktion zeigte sich für INF- $\gamma$  eine deutliche Abnahme in den drei infizierten, IL-4-behandelten Versuchsgruppen, mit dem stärksten Ausmaß in der früh behandelten Versuchsgruppe. Dabei ergaben sich jedoch keine signifikanten Reduktionen gegenüber der unbehandelten, infizierten Versuchsgruppe. Weiterhin stieg in der IL-4-behandelten Kontrollgruppe die Expression von INF- $\gamma$  signifikant gegenüber der unbehandelten Kontrollgruppe, so dass ein weiterer Faktor essentiell für die Expression von INF- $\gamma$  zu sein scheint. IL-4 induziert auch die Aktivierung von NK-Zellen und somit die Produktion von INF- $\gamma$  (siehe 1.5). Dies erklärt zwar die unerwartet schwache Reduktion der INF- $\gamma$ -Expression in den IL-4-behandelten, infizierten Versuchsgruppen, jedoch nicht die Zunahme in der IL-4-behandelten Kontrollgruppe, da NK-Zellen im Myokard von Kontrollmäusen nicht in einem relevanten Ausmaß zu erwarten sind. Die Expression von TNF- $\alpha$  sinkt in allen IL-4 behandelten Versuchsgruppen, es ist jedoch ein Zytokin, das sowohl von  $T_{H1}$ - als auch  $T_{H2}$ -Zellen gebildet wird. Zwei Ansätze kommen für diese Reduktion als Erklärung in Betracht. Zum einen ist eine verminderte Produktion des  $T_{H1}$ -abhängigen Zytokin IL-2 zu erwarten, das die  $T_H$ -Zellen Proliferation induziert und somit bei verminderter Expression zu einer allgemeinen Verminderung der Expression von TNF- $\alpha$  führen könnte. Zum anderen hemmt IL-4 direkt die Produktion von TNF- $\alpha$  in Makrophagen und NK-Zellen<sup>135</sup>. In dieser Studie zeigte sich die stärkste Reduktion der TNF- $\alpha$ -Expression in der spät behandelten Versuchsgruppe, und so scheint der direkte inhibitorische Effekt von IL-4 der ausschlaggebende Faktor zu sein, da der  $T_H$ -Zell-modulatorische Effekt in dieser Gruppe am schwächsten ausgeprägt war. Auch die Ergebnisse für TNF- $\alpha$  in den IL-4-behandelten Versuchsgruppen sind nur als deskriptiv zu bewerten, da sich keine statistischen Signifikanzen ergaben.

Auch eine indirekte Beeinflussung der kollagenen Komponenten der EZM durch die IL-4-Behandlung, verbunden mit veränderter Zytokin- und MMP-Expression, war zu erwarten. Aufgrund des hohen Signifikanzniveaus zeigte sich in keinem der durchgeführten Vergleiche eine statistische Relevanz, doch konnten deutliche IL-4-induzierte Expressionsveränderungen beobachtet werden.

Begleitend zu den deutlichsten Modulationen der  $T_H$ -Antwort in den früh und durchgehend behandelten Versuchsgruppen, stieg auch in diesen beiden Versuchsgruppen die Expression von Kol III am stärksten. TNF- $\alpha$  und INF- $\gamma$  gelten als starke Inhibitoren der Kollagensynthese (siehe 1.4.2) und werden unter IL-4-Behandlung vermindert exprimiert (die IL-4-behandelte Kontrollgruppe bildet dabei für die Expression von INF- $\gamma$  eine Ausnahme). Die verminderte Expression dieser beiden Zytokine könnte also im kausalen Zusammenhang mit der erhöhten Expression von Kol III stehen. Einen gegensätzlichen Effekt konnten Sivasubramanian et al.<sup>161</sup> bei kardialer Überexpression von TNF- $\alpha$  in TNF-transgenen Mäusen zeigen, bei denen eine deutliche Abnahme des kardialen Gesamtkollagen beobachtet werden konnte.

Kontrovers hingegen erscheint die geringfügige Abnahme der Expression von Kol I in den infizierten IL-4-behandelten Versuchsgruppen. Dieser Anstieg ist durch die Veränderungen, der von uns untersuchten Zytokine nicht zu erklären, da jedoch keine Signifikanzen vorliegen und die Veränderungen nur minimal sind, könnte es sich hierbei um einen Artefakt handeln. Zusammenfassend zeigten sich keine signifikanten Veränderungen der mRNA-Expression von Kol I und Kol III unter Behandlung mit IL-4. Eine geringfügige Zunahme der Kol III-Expression erscheint jedoch plausibel.

Unveröffentlichte Daten unserer Arbeitsgruppe zeigen jedoch, dass die IL-4-Behandlung deutliche Einflüsse auf das extrazelluläre Remodeling zu haben scheint. Die verminderte Expression von TNF- $\alpha$  und INF- $\gamma$  scheint zu einer deutlich herabgesetzten Degradation von extrazellulären Matrixkomponenten geführt zu haben. So sank unter IL-4-Behandlung der Gehalt an löslichem Kol I, der mittels Western Blot ermittelt wurde, begleitet von einer signifikant verminderten mRNA-Expression von MMPs<sup>160</sup>.

#### **4.4 Mortalität und Schwere der Erkrankung**

Bei der Virusmyokarditis ist die Schwere der Erkrankung und die Mortalität von mehreren Parametern abhängig, so zeigten sich in verschiedenen Arbeitsgruppen zum Teil erhebliche Unterschiede, hervorgerufen durch den verwendeten Mausstamm, das Alter und das Geschlecht der Versuchstiere sowie durch das verwendete Coxsackievirus<sup>162,163,164,165</sup>. Ein Vergleich absoluter Mortalitätsraten und des relativen Schweregrads der Erkrankung scheint jedoch nicht sinnvoll, da sich die einzelnen Versuchsanordnungen in den Untersuchungen verschiedener Arbeitsgruppen zu stark unterscheiden und einige Autoren keine Angaben zu diesen Parametern machen.

In dieser Arbeit wurde der allgemeine Krankheitszustand aller infizierten Tiere einheitlich als schlecht beurteilt, nur ein Tier verstarb. Dieses Tier der Versuchsgruppe 1.2 starb im Rahmen der Narkoseeinleitung und unterschied sich nicht wesentlich von den übrigen Tieren der Versuchsgruppe 1.2 bei allen weiteren erhobenen Parametern. Es schien wahrscheinlich, dass der Tod des Tieres nicht durch die Myokarditis, sondern durch Fehler bei der Narkoseeinleitung hervorgerufen wurde. Somit konnte anhand der Mortalität und dem Schweregrad der Erkrankung keine Aussage über eine eventuelle Beeinflussung der viralen Myokarditis durch IL-4-Behandlung getroffen werden.

#### **4.5 Maus- und Herzgewicht**

Beim Menschen kommt es bei Herzinsuffizienz im Rahmen einer akuten Myokarditis aufgrund verschiedener Kompensationsmechanismen zur Wasser- und Elektrolytretention mit folgender Zunahme des Körpergewichts. In verschiedenen Mausmodellen mit experimenteller, viraler Myokarditis konnte dieser Effekt weder in der akuten noch in der chronischen Phase der Erkrankung nachvollzogen werden<sup>139,166,167,168</sup>. So zeigte sich auch in dieser Studie eine signifikante Reduktion des Körpergewichts in der CVB3-infizierten Versuchsgruppe. Erklärend dafür erscheint der stark eingeschränkte Bewegungsantrieb verbunden mit deutlich reduzierter Nahrungsaufnahme bei einem klinisch hohen Schweregrad der Erkrankung. Auch beim Menschen kommt es bei schweren Formen der Herzinsuffizienz zu einem Verlust des Körpergewichts, der klinisch als kardiale Kachexie bekannt ist. Bei

derartigen Patienten konnte eine signifikante Erhöhung von TNF- $\alpha$  nachgewiesen werden, die wahrscheinlich den katabolen Effekt vermittelt<sup>169</sup>.

Wenige Autoren beschrieben bislang die Wirkung der akuten Myokarditis auf das Herzgewicht bis zum 10. Tag der Erkrankung. Kanda et al.<sup>170</sup> beschrieben im Mausmodell am 8. Tag nach Infektion mit Enzephalomyokarditis Virus eine minimale Abnahme des Herzgewichts in virussensiblen Mausstämmen gegenüber virusresistenten Stämmen. Mehrere Autoren zeigten jedoch eine deutliche Erhöhung des Herzgewichts bereits drei Wochen nach Infektion<sup>139,166</sup>.

In dieser Studie zeigte sich eine signifikante Reduktion des Herzgewichts am 10. Tag der akuten Myokarditis. Beim Menschen konnte eine Abnahme des Herzgewichts in Folge von Bewegungsarmut und Trainingsmangel nachgewiesen werden. Dieser Erklärungsansatz erscheint jedoch aufgrund der Kürze der Erkrankungsdauer in der vorliegenden Studie kaum relevant. Wir konnten jedoch zeigen, dass die induzierenden Effekte von TNF- $\alpha$  und INF- $\gamma$  auf die matrixabbauenden MMPs nicht von einer gegenregulatorischen Aktivierung einer Kollagenneusynthese begleitet werden. So könnte dies für die Reduktion des Herzgewichts in der akuten Phase der viralen Myokarditis in BALB/c-Mäusen eine mögliche Erklärung sein.

Resultierend aus diesem Erklärungsansatz wäre nun eine deutliche Normalisierung des Maus- und Herzgewichts unter Behandlung mit IL-4 zu erwarten. Es zeigen sich jedoch keine signifikanten Verbesserungen in den behandelten Versuchsgruppen, und so scheinen weitere hier nicht beachtete Faktoren bei der Regulation des Maus- und Herzgewichts bei der akuten, viralen Myokarditis vorrangig zu sein.

#### **4.6 Hämodynamische Funktionsparameter**

Für eine weitergehende Einschätzung der klinischen Situation der untersuchten Versuchsgruppen wurden hämodynamische, kardiale Funktionsparameter erhoben. Da es sich bei der Erhebung der Überlebens- bzw. Mortalitätsrate und der Ermittlung der Maus- und Herzgewichte nur um sehr grobe Parameter zur Einschätzung des Krankheitsverlaufs der Myokarditis handelt und die Einschätzung des Schweregrads der Erkrankung anhand von klinischen Symptomen von der subjektiven Beurteilung des Beobachters abhängig ist, die sich nur schwer mit den Beobachtungen anderer Arbeitsgruppen vergleichen lässt, bietet die

hämodynamische Untersuchung große Vorteile in der Beurteilung der Erkrankung. So lassen sich auch geringfügige Veränderungen der kardialen Funktion, hervorgerufen durch die Infektion oder durch eine erfolgte Behandlung, objektiv beurteilen und quantifizieren.

Bisherige Untersuchungen ergaben, dass das linksventrikuläre Myokard der primäre Manifestationsort einer CVB3-bedingten Myokarditis ist<sup>171</sup>, und die Linksherzinsuffizienz neben malignen Herzrhythmusstörungen die schwerste Folge der akuten Virusmyokarditis ist<sup>172</sup>. Diese Arbeit beschränkte sich somit auf die Untersuchung von hämodynamischer Funktionsparameter des linken Ventrikels, um die Effekte der viralen Infektion und der therapeutischen Intervention in diesem Bereich zu dokumentieren.

Intrakardiale Druckmessungen zeigen eine große Empfindlichkeit gegenüber methodischen Fehlern, so ist die gleichbleibende Lokalisation und die stabile Lage des Messkatheters entscheidend. Daher sollte innerhalb einer Versuchsreihe immer die gleiche Person diese Messungen durchführen, um individuelle Schwankungen in der Messung zu eliminieren. So wurde die Erhebung der linksventrikulären Funktionsparameter von der erfahrenen Arbeitsgruppe von Dr. med. Carsten Tschöpe (Institut für Kardiologie und Pulmologie, Universitätsklinikum Benjamin Franklin, Freie Universität Berlin) durchgeführt, um eine möglichst exakte und realitätsgetreue Messung zu erhalten.

Die in dieser Arbeit ermittelten vier hämodynamischen Parameter bestimmen im Wesentlichen die Leistungsfähigkeit des linken Ventrikels<sup>173</sup> und stehen in enger Beziehung zum Schweregrad der myokardialen Schädigung<sup>174</sup>.

Der linksventrikuläre systolische Druck (LVsP) als Maß für die maximale Wandspannung in der Systole ist weitgehend abhängig von der Nachlast des linken Ventrikels, die wiederum durch die Höhe des Aortendrucks bedingt ist. Der Aortendruck steigt kompensatorisch durch Sympathikusaktivierung im Rahmen einer beginnenden Herzinsuffizienz durch Zunahme des peripheren Gefäßwiderstandes. Auch die Vorlast des Herzens steigt durch die sympathikotone Stimulation der kardialen  $\beta$ -Rezeptoren, und es kommt zur beschleunigten und vermehrten Füllung des Ventrikels zum Ausgleich der sinkenden Herzkraft bei Herzinsuffizienz. Versagen diese kompensatorischen Mechanismen aufgrund der progredient verlaufenden Erkrankung mit zunehmender Herzinsuffizienz, kommt es zur Abnahme der LVsP.

Die myokarditisassoziierten Läsionen des Herzmuskels mit lokalisiert oder diffus verteilten Myozytolysen, Störungen von Zellinteraktionen und Veränderungen der ECM führen aufgrund des Verlustes an funktionalen, kontraktilelementen zu einer Reduktion der



Ventrikelkontraktilität. Die Ermittlung eines geeigneten Parameters für die Kontraktilität ist jedoch schwierig, so hat auch der in dieser Arbeit verwendete Index der maximalen Druckanstiegsgeschwindigkeit im linken Ventrikel ( $dP/dt \max$ ) gewisse Einschränkungen. Zum einen ist der Parameter abhängig von der Herzfrequenz, so dass eine Verringerung dieses Wertes auch durch die Verringerung der Herzfrequenz bedingt sein kann. Zum anderen ergeben sich deutliche interindividuelle Schwankungen, so dass sich dieser Parameter primär zur Verlaufsbeobachtung in einem Organismus eignet. In dieser Arbeit wurden Gruppenvergleiche von genetisch identischen Tieren durchgeführt und keine individuellen Absolutwerte verglichen, somit scheint der Parameter ausreichend zur Abschätzung der Kontraktilität<sup>175</sup>.

Zur Beurteilung der linksventrikulären Relaxationgeschwindigkeit wurde  $dP/dt \min$  ermittelt. Dieser Parameter ist ebenso wie  $dP/dt \max$  abhängig von der Nachlast und der Herzfrequenz und ergänzt die Beurteilung der Ventrikelfunktion. Besonders bei hohen Herzfrequenzen, die mit einer überproportionalen Verkürzung der Diastolenzeit einhergehen, wirkt die Relaxationsgeschwindigkeit indirekt auf die Füllung des Ventrikels über die Beeinflussung der Dauer der Füllungsphase und ist somit von entscheidender Bedeutung für die Herzleistung<sup>176</sup>.

Die Herzfrequenz ist ein weiterer wichtiger Parameter zur Charakterisierung der Herzfunktion. Sie wird durch das sympathische und parasympathische Nervensystem reguliert und erfordert ein intaktes Reizleitungssystem. Terasaki et al.<sup>136, 137</sup> konnten jedoch in elektrophysiologischen Studien einen Befall des kardialen Reizleitungssystems durch Coxsackieviren nachweisen.

Herzum et al.<sup>31</sup> konnten signifikante Veränderungen dieser Parameter ab dem 7. Tag p.i. in CVB3-infizierten DBA/2-Mäusen zeigen. Die in dieser Arbeit erhobenen Werte am 10. Tag p.i. zeigen eine weitgehende Übereinstimmung mit den von Herzum et al. ermittelten Veränderungen. Es kam durch die Infektion mit Coxsackieviren zu einer erheblichen Einschränkung der kardialen Leistungsfähigkeit, die sich auch subjektiv im klinischen Zustand der infizierten Versuchstiere äußerte. So sank der linksventrikuläre systolische Druck und damit die Nachlast in allen virusinfizierten Gruppen signifikant ab, was entsprechend dem schlechten klinischen Zustand und den eingangs beschriebenen Zusammenhängen als linksventrikuläres Pumpversagen mit einer erheblichen Abnahme des zirkulierenden

peripheren Volumens gedeutet werden kann. Auch der Kontraktilitätsparameter  $dP/dt \max$  war bei Infektion deutlich reduziert, korrelierend mit Beobachtungen in anderen Studien, die eine Abnahme der Ventrikelkontraktilität mit histologisch nachweisbaren, virusinduzierten Zerstörungen von Herzmuskelzellen in Verbindung setzten<sup>28</sup>. So konnten auch Herzum et al. eine signifikante Korrelation zwischen der Reduktion des  $dP/dt \max$  und dem Höhepunkt der kardialen Entzündung am 10. Tag p.i. zeigen. Wie erwartet gleichsinnig verhält sich der Relaxationsparameter  $dP/dt \min$ . Erklärbar ist dies durch die erhebliche Abnahme der Nachlast, was auch beim Menschen mit aktiver Myokarditis nachgewiesen werden konnte<sup>177</sup>. Für beide Parameter ist kritisch anzumerken, daß ihre Abnahme mit einer erheblichen Reduktion der Herzfrequenz einhergeht. Für die Kontraktilitäts- bzw. Relaxationswerte bedeutet dies eine gewisse Einschränkung der Aussagekraft, da zumindest ein Teil der Verringerung auf eine sinkende Herzfrequenz zurückzuführen ist. (So zeigte sich in der durchgehend IL-4-behandelten, infizierten Versuchsgruppe eine unerwartete Verschlechterung dieser beiden Parameter, begleitend mit der sehr starken Reduktion der Herzfrequenz.)

Auch die Herzfrequenz nahm in den virusinfizierten Gruppen ab. Bei der Herzinsuffizienz würde man jedoch einen kompensatorischen Anstieg der Schlagfrequenz erwarten. Die Abnahme der Herzfrequenz ist durch die oben beschriebene Möglichkeit der Schädigung des Reizleitungssystems durch Cocksackieviren zu erklären<sup>136,137</sup>. Dies würde unter anderem die Folge haben, dass die Herzfrequenz nicht regulierend bei einer Herzinsuffizienz erhöht werden könnte und es schneller zur Dekompensation kommt.

Insgesamt zeigt sich eine deutliche Verschlechterung der kardialen Funktion bei viraler Myokarditis. Erklärend dafür erscheint die Induktion der matrixabbauenden MMPs durch TNF- $\alpha$  und INF- $\gamma$  und die damit verbundene postrtranslationale Degradation von Kol I und Kol III mit vermehrtem Nachweis von löslichem Kol I im Western Blot.

Durch die IL-4-Behandlung konnten die hämodynamischen Parameter in den früh und spät behandelten, infizierten Versuchsgruppen und besonders bei Behandlung in den ersten fünf Tagen nach Infektion deutlich verbessert werden, in denen auch der größte modulatorische Einfluss auf die  $T_H$ -Antwort zu erwarten war. Die deutlich verminderte Expression von TNF- $\alpha$  und INF- $\gamma$  und die damit verbundene Reduktion der matrixdegradierenden MMPs könnten somit ausschlaggebend für die bessere kardiale Funktion sein.

Bisher liegen jedoch keine vergleichbaren Daten zur hämodynamischen Situation unter IL-4-Behandlung im Rahmen der akuten Virusmyokarditis vor. Watanabe et al.<sup>139</sup> erreichten durch die erhöhte Expression von Interleukin-10, das von IL-4 induzierten T<sub>H2</sub>-Zellen verstärkt gebildet wird und die T<sub>H1</sub>-Antwort unterdrückt, eine Verbesserung der Hämodynamik am 21. Tag der Myokarditis. Auch Nishio et al.<sup>178</sup> fanden, dass eine Interleukin-10-Behandlung die Mortalitätsrate bei virusinduzierter Myokarditis bis zum 14. Tag deutlich senkte. Beide Studien führten jedoch keine Untersuchung über die Langzeitwirkung ihrer Behandlungen durch. So ist die T<sub>H1</sub>-Antwort elementar wichtig für die zelluläre Elimination des Virus. So zeigten Soares et al.<sup>179</sup> in IL-4-defizienten Mäusen mit Trypanosomen-induzierter Myokarditis zwar eine verstärkte Inflammation des Myokards, die jedoch von einer erhöhten Erregerelimination und gesenkter Mortalität begleitet war.

Somit ergeben sich auch für die Ergebnisse der vorliegenden Studie einige Limitationen. Der Einfluss einzelner Zytokine ist *in vivo* durch das komplexe Zusammenspiel mit anderen Zytokinen kaum beurteilbar. Die in dieser Arbeit erhobenen hämodynamischen Daten zeigten jedoch, daß die IL-4-Behandlung in den ersten 5 Tagen der Infektion zu einer deutlichen und signifikanten Verbesserung der Herzfunktion am 10. Tag p.i. führt. Dabei zeigte sich, dass die reduzierte Expression von TNF- $\alpha$  und INF- $\gamma$  zu einer Verbesserung des extrazellulären Remodeling und zur verbesserten kardialen Funktion führte. Zwei weitere Studien zeigen jedoch, dass auch die Viruselimination von entscheidender Bedeutung für den Verlauf der Myokarditis ist. So zeigten Kubota et al.<sup>180</sup> in nicht infizierten TNF-transgenen Mäusen die Entwicklung einer fulminanten dilatativen Kardiomyopathie, die nur durch die vermehrte kardiale Expression von TNF- $\alpha$  hervorgerufen wurde. Hingegen zeigten Wada et al.<sup>181</sup> an TNF-defizienten Mausstämmen mit viral induzierter Myokarditis einen deutlich verschlechterten Krankheitsverlauf mit deutlich erhöhten Virustitern.

Da in dieser Arbeit nur der Zustand der Tiere am 10. Tag der Infektion untersucht wurde und dabei keine Virustiteranalyse durchgeführt wurde, kann keine Aussage darüber getroffen werden, ob eine IL-4-Behandlung sich positiv auf den Verlauf der Myokarditis auswirkt. TNF- $\alpha$  und INF- $\gamma$  scheinen essentielle Zytokine für die Viruselimination bei vielen Erkrankungsbildern zu sein, und somit scheint es möglich, dass durch die IL-4-Behandlung eine Chronifizierung der Myokarditis erreicht werden könnte.

Es konnten jedoch neue Einsichten in die immunpathologischen Prozesse der viralen Myokarditis gewonnen werden. Das Konzept, nachdem TNF- $\alpha$  und INF- $\gamma$  zu einer MMP-Induktion und somit zu einer gesteigerten Degradation der kollagenen Matrixkomponenten führt, scheint dabei von zentraler Bedeutung. Somit scheint die Behandlung der Myokarditis mit MMP-Inhibitoren, und nicht die Immunmodulation, der Ansatz für zukünftige therapeutische Interventionen.