

## 5. Zusammenfassung

Die virale Myokarditis ist eine Erkrankung mit hoch variablem klinischem Verlauf. Nach einer initialen Entzündungsphase kommt es bei einem großen Teil der Patienten zu einer milden Verlaufsform mit geringer Symptomatik. Bei einem Teil der Patienten mit zunächst fulminantem Verlauf und kardialer Dilatation kommt es im Anschluss zu einer kompletten Genesung mit Normalisierung der Herzfunktion. Andererseits führt die Entzündungsreaktion bei einem kleineren Teil der Patienten zu einer gravierenden Herzschiädigung mit konsekutiver Herzinsuffizienz.

So kann eine akute Coxsackievirus-B3-induzierte Myokarditis zu einer ausgeprägten kardialen Infiltration durch Entzündungszellen, vermehrter Expression proinflammatorischer Zytokine und einer gesteigerten Aktivität matrixdegradierender Enzyme im Myokard führen. Sowohl viruszytopathische Effekte als auch die infektionsbedingte Immunreaktion werden als kausale Faktoren für das im Anschluss beobachtbare kardiale *remodeling* und die kardiomyozytäre Nekrose angesehen.

Die Protease Urokinase-Typ Plasminogenaktivator (uPA) ist bei einer Reihe ätiologisch unterschiedlicher Herzerkrankungen am kardialen *remodeling* und der kardialen Inflammation beteiligt. uPA kann verschiedene Matrixmetalloproteinasen aktivieren und begünstigt durch perizelluläre Proteolyse die myokardiale Infiltration durch Immunzellen. Eine erhöhte MMP-Aktivität und ein entzündliches Infiltrat aus Immunzellen sind entscheidend in die Pathogenese der viralen Myokarditis involviert.

In der vorliegenden Studie wurde bei Wildtypmäusen und uPA-deletierten Mäusen (uPA<sup>-/-</sup>) des Stammes C57BL/6 durch CVB3-Infektion eine akute virale Myokarditis induziert. Daneben dienten scheininfizierte Wildtyp-Mäuse und uPA<sup>-/-</sup>-Mäuse als Kontrollgruppen. Die Gruppengröße betrug jeweils n = 6. Das Myokard der Tiere wurde am 7. Tag *p.i.* entnommen und mittels molekularbiologischer Techniken, histochemischer und immunhistochemischer Färbemethoden untersucht.

Mittels semiquantitativer RT-PCR erfolgte die Untersuchung der Genexpression wichtiger Proteasen, Zytokine und Matrixbestandteile. Die Expressions-*level* wurden am *housekeeping gene* 18S-RNA relativiert und die Gruppen untereinander verglichen.

Erfasst wurden die Transkripte der Proteasen uPA, tPA, MMP-2, MMP-3, MMP-8, MMP-9, MMP-12, MMP-13, MT-1-MMP, EMMPRIN sowie deren Inhibitoren TIMP-1, TIMP-2, TIMP-3, TIMP-4 und PAI-1.

Weiterhin wurden die Zytokine IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-10, IL-15, TNF- $\alpha$ , TGF- $\beta$ , INF- $\gamma$  sowie die Matrixbestandteile Kollagen I, Kollagen III, Laminin und Fibronectin untersucht.

Mittels Gelatinezymographie wurde die Aktivität der Gelatinasen MMP-2 und MMP-9 bestimmt.

Die Charakterisierung der kardialen Infiltration durch Immunzellen erfolgte anhand immunhistochemischer Färbungen von CD-4<sup>+</sup>-, CD-8<sup>+</sup>-, CD-11b<sup>+</sup>-Zellen und neutrophilen Granulozyten. Kardiales Kollagen wurde histochemisch mit *Sirius red* gefärbt.

Die Ergebnisse zeigten eine deutliche Expressionssteigerung von uPA und allen erfassten MMPs bei CVB3-Infektion. Daneben zeigte sich bei Infektion eine signifikante Aktivitätszunahme für MMP-2 und MMP-9. Durch uPA-Deletion wurden bei CVB3-Infektion die Expressions-*level* von MMP-8 und MMP-9 signifikant gesenkt und die MMP-9-Aktivität signifikant gemindert.

Alle erfassten proinflammatorischen Zytokine waren bei Infektion signifikant induziert. Die uPA-Deletion bewirkte bei Infektion eine signifikante *downregulation* der Expression von IL-1 $\beta$  und IL-6.

Die Untersuchung verschiedener ECM-Bestandteile zeigte bei Infektion eine signifikante Expressionssteigerung für Kollagen I, Kollagen III und Fibronectin.

Die Auswertung der immunhistochemischen Färbung zeigte bei Infektion eine erhebliche Infiltration durch CD-4<sup>+</sup>-, CD-8<sup>+</sup>-, CD-11b<sup>+</sup>-Zellen und neutrophile Granulozyten.

Eine uPA-Deletion verringerte bei Infektion die Infiltration des Myokards durch alle erfassten Entzündungszelltypen signifikant.

Insgesamt führte die uPA-Deletion zu einer effektiven Verringerung der destruktiven kardialen Entzündungsreaktion während einer akuten viralen CVB3-Myokarditis.

In der Spätphase der Infektion konnte in der Arbeit von Heymans et al. gezeigt werden, dass eine uPA-Deletion vor kardialer Schädigung, Dilatation und Herzinsuffizienz schützt (Heymans et al., 2006).

Die Ergebnisse der Studie lassen eine experimentelle, selektive Proteaseinhibition zur Reduktion des kardialen *remodeling* und der kardialen Inflammation sowie konsekutivem Schutz vor kardialer Fehlfunktion als Gegenstand weiterer Forschungsbemühungen für sinnvoll erscheinen.