

Aus dem Institut für Pharmakologie und Klinische Pharmakologie
der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf
Direktor: Univ.-Prof. Dr. Jens W. Fischer

**Einfluss chronisch-entzündlicher Darmerkrankungen
auf das kardiale Remodelling nach kardialer Ischämie
im Mausmodell**

Dissertation

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

vorgelegt von
Tatevik Vahei Avetisyan
2022

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

gez.:

Dekan: Prof. Dr. med. Nikolaj Klöckler

Erstgutachterin: Prof. Dr. med. Maria Grandoch

Zweitgutachter: Prof. Dr. rer. nat. Norbert Gerdes

Meiner Familie

Zusammenfassung

Die Pathogenese der chronisch entzündlichen Darmerkrankungen (CED) beruht auf genetischen, immunologischen und umweltbedingten Faktoren, welche zu einer gestörten Immunantwort gegen physiologische Antigene der Darmflora führen, sodass Inflammationsprozesse resultieren. Verschiedene klinische Studien postulieren eine Korrelation zwischen den schubweise auftretenden CED und einem erhöhten kardiovaskulären Risiko.

Ungeklärt ist bisher, ob es einen Einfluss der Entzündungsaktivität des Darmes auf das kardiale *Remodelling* nach Myokardinfarkt gibt. Zur Untersuchung dieser Fragestellung wurde das Mausmodell einer Dextranatriumsulfat (DSS)-induzierten Colitis genutzt. Männliche C657BL/6 Mäuse erhielten mehrere DSS-Behandlungszyklen; als Kontrollgruppen dienten Tiere ohne DSS-Behandlung. Die Tiere wurden in drei Kohorten aufgeteilt, die sich im Zeitpunkt der kardialen Ischämie/Reperfusion (I/R) während der Colitisphasen unterschieden: Es erfolgte die Induktion der I/R in der Akutphase der Colitis, in der Phase der subakuten Entzündung sowie in der Remissionsphase. Nach histologischer Aufbereitung und Färbung erfolgten zur Auswertung eine Planimetrie der Infarktnarbe, die Bestimmung des mittleren Kollagengehaltes und der linksventrikulären Wanddicke.

Erfolgte die kardiale I/R während der Phasen der Remission und der subakuten Colitis, so zeigten sich kleinere linksventrikuläre Narben und ein geringerer Kollagengehalt bei den mit DSS-behandelten Tieren im Vergleich zu den Kontrolltieren. Morphologisch sahen wir bei den Kontrolltieren tendenziell transmurale Infarkte sowie eine vermehrte linkventrikuläre Wandausdünnung. Diese Beobachtungen ließen sich auch in der Wanddickenbestimmung beobachten. Erfolgte die kardiale I/R hingegen in der Akutphase, so zeigte sich der umgekehrte Trend mit größeren linksventrikulären Infarkt Narben bei den mit DSS-behandelten Tieren im Vergleich zu den Kontrolltieren ohne Colitis.

Anhand der erhobenen Daten lässt sich vermuten, dass die Phase der Inflammation, in welche die kardiale Ischämie fällt, das *Outcome* nach Infarkt und die myokardiale Narbengröße maßgeblich beeinflusst. Hierbei könnten weitere Einflussfaktoren wie eine Aktivierung des Sympathikus oder die Rolle des Mikrobioms als mögliche Modulatoren angenommen werden.

Summary

The pathogenesis of inflammatory bowel disease (IBD) is based on genetic, immunological and environmental factors leading to an unbalanced immunological answer against physiologic antigens of the intestinal commensal flora which may result in a chronic inflammatory process. Several clinical trials were published postulating a correlation between IBD and an increased cardiovascular risk.

Yet unknown is whether there is an impact of the underlying intestinal inflammatory activity on the cardiac remodeling after myocardial infarction. To investigate this question a mouse model of DSS (dextrane sodium sulfate) induced colitis was used. Male C657BL/6 mice were given several treatment cycles with DSS added water. The control group was made up of mice without DSS treatment. The animals were divided into three cohorts depending on the time point of cardiac ischemia/reperfusion (I/R): The cardiac I/R was induced in the phases of acute colitis, subacute colitis and remission. After the histologic processing a planimetric evaluation of the scar area and measurements of mean collagen content and wall thickness followed.

When the cardiac I/R was induced in the phases of remission or subacute colitis, we observed smaller scar sizes and a lower mean collagen content in the group of DSS-treated animals. Morphologically we saw more transmural infarcts and wall thinning in the control group. These observations were confirmed in the measurements of wall thickness. Induction of the cardiac I/R in the phases of acute colitis led to a different trend with greater scar sizes in the group of DSS-treated mice.

According to our data we assume that the cardiac I/R has a differentiate impact on the outcome and scar size depending on the underlying phase of bowel inflammation. Furthermore, other factors like the activation of sympathetic nervous system or the role of the intestinal microbiome may be assumed as modulators.

Abkürzungsverzeichnis

A.	<i>Arteria</i>
ACE	<i>angiotensin-converting-enzyme</i>
ATP	Adenosintriphosphat
BDNF	<i>brain derived neurotrophic factor</i>
CED	Chronisch entzündliche Darmerkrankungen
CU	Colitis ulcerosa
CD	<i>Crohn's disease</i> , Morbus Crohn
DAMP	<i>damage associated molecular pattern</i>
DCM	Dilatative Kardiomyopathie
DM	Diabetes mellitus
DSS	<i>dextrane sulfate sodium</i> , Dextran-Natriumsulfat
FGF	<i>fibroblast growth factor</i> , Fibroblastenwachstumsfaktor
GPCR	<i>G protein-coupled receptor</i> , G Protein-gekoppelter Rezeptor
HR	<i>hazard ratio</i>
IFN- γ	Interferon- γ
IL	Interleukin
IMT	<i>intima media thickness</i> , Intimamediadicke
IKF	interstitielle Kollagenfraktion
I/R	Ischämie/Reperfusion
IRR	<i>incidence rate ratio</i> , Inzidenzratenverhältnis
KI	Konfidenzintervall
ko	knockout
MCP	<i>monocyte chemoattractant protein</i>
MI	Myokardinfarkt
miRNS	micro-Ribonukleinsäure
MMP	Matrix-Metalloproteinasen
NF- κ B	nuclear factor 'kappa-light-chain-enhancer' of activated B-cells
NK-Zellen	natürliche Killerzellen
NOD2	<i>nucleotide-binding-oligomerization domain 2</i>

NSTEMI	<i>Non-ST-elevation myocardial infarction</i> , Non-ST-Hebungsinfarkt
OR	<i>odds ratio</i>
PBS	<i>phosphate buffered saline</i> , Phosphatgepufferte Salzlösung
PCI	<i>percutaneous coronary intervention</i> , perkutane Koronarintervention
PAMP	<i>pathogen associated molecular patterns</i>
PRR	<i>pattern recognition receptors</i>
RAAS	Renin-Angiotensin-Aldosteron-System
ROS	<i>reactive oxygen species</i> , reaktive Sauerstoffspezies
s.c.	subkutan
SCFA	<i>short-chain fatty acids</i> , kurzkettige Fettsäuren
SD	<i>standard deviation</i> , Standardabweichung
STEMI	<i>ST-elevation myocardial infarction</i> , ST-Hebungsinfarkt
SNS	<i>sympathetic nervous system</i> , Sympathikus
TGF- β	<i>transforming growth factor β</i> , transformierender Wachstumsfaktor β
TH	T-Helferzellen
TLR	<i>toll-like</i> Rezeptor
TNF- α	Tumornekrosefaktor α
Treg	regulatorische T-Zellen
u.a.	unter anderem
VEGF	<i>vascular endothelial growth factor</i>
WT	Wildtyp
z.B.	zum Beispiel
ZETT	Zentralen Einrichtung für Tierforschung und Tierschutzaufgaben

Abbildungsverzeichnis

Abb. 1 Einteilung in drei experimentelle Kohorten.....	24
Abb. 2 Schematische Darstellung der Anfertigung der Schnittebenen.....	28
Abb. 3 Manuelle Ausmessung der links- und rechtsventrikulären myokardialen und luminalen Areale zur Infarktnarbenplanimetrie.....	31
Abb. 4 Bestimmung der Wanddicke des linken Ventrikels.....	32
Abb. 5 Bestimmung des mittleren Kollagengehaltes des linken Ventrikels mittels halbautomatisierter Schwellenbereichsanalyse.....	33
Abb. 6 Vergleichbare Gesamtmortalität bei den mit DSS-behandelten Tieren und der Kontrollgruppe.....	35
Abb. 7. Signifikant geringere kumulative Gewichtszunahme in den mit DSS-behandelten Gruppen im Vergleich zur Kontrollgruppe.....	36
Abb. 8 Unterschiedliche Infarktnarbenmorphologie bei den mit DSS-behandelten Tieren und den Kontrolltieren.....	39
Abb. 9 Geringere linksventrikuläre Infarktnarbenanteile bei den mit DSS-behandelten Tieren, wenn die kardiale I/R in der Phase der Remission oder im subakuten Entzündungsstadium erfolgte.....	40
Abb. 10 Signifikant geringere linksventrikuläre Infarktanteile in den Schnittebenen 2-5 bei den mit DSS-behandelten Tieren, wenn die kardiale I/R in der Phase des subakuten Entzündungsstadiums erfolgte.....	42
Abb. 11 Signifikant geringerer mittlerer Kollagengehalt in der mit DSS-behandelten Gruppe, wenn die kardiale I/R in der subakuten Entzündungsphase erfolgte.....	44
Abb. 12 Erhaltene Wanddicke in der mit DSS-behandelten Gruppe für die anterioren und anterolateralen Wandbereiche.....	46

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1 Verwendete Substanzen.....	29
Tabelle 2 Ansetzen der Gomori-Farblösung.....	30

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung	1
1.1. Chronisch entzündliche Darmerkrankungen und das kardiovaskuläre Risiko	1
1.2. CED	1
1.2.1. Definition und Epidemiologie	1
1.2.2. Ätiologie	2
1.2.2.1. Genetische Faktoren	3
1.2.2.2. Mikrobiom	4
1.2.2.3. Intestinale Barriere und Epithelzellen	6
1.2.2.4. Immunologische Aspekte der CED.....	7
1.3. Myokardinfarkt	9
1.3.1. Ätiologie und Epidemiologie des Myokardinfarktes.....	9
1.3.2. Myokardiale Ischämie und postischämisches <i>Remodelling</i>	10
1.3.2.1. Pathophysiologie des Myokardinfarktes	10
1.3.2.2. Definition und Mechanismen des Remodelling	11
1.3.2.3. Molekulare Grundlagen der postischämischen Entzündungsreaktion	15
1.3.2.4. Nachteiliges Remodelling	17
1.4. Stellenwert der Colitis im Rahmen des kardialen post-I/R Remodelling	18
1.5. Zielsetzung der Arbeit	21
2. Material und Methoden	22
2.1. Tierversuche	22
2.1.1. Verwendete Tiere.....	22
2.1.2. DSS Modell und experimentelles Schema.....	22
2.1.3. Kardiale Ischämie/Reperfusion.....	24
2.1.3.1. Ischämie/Reperfusions-Modell	24
2.1.3.2. Ligaturanlage	25
2.1.3.3. Induktion der Ischämie.....	26
2.1.4. Gewichtsmessungen und klinische Kontrollen.....	26
2.1.5. Entnahme und Aufbereitung der Proben	27
2.1.6. Histologie und histochemische Färbung	27
2.1.6.1. Paraffinschnitte der Infarkt Herzen.....	27
2.1.6.2. One-step Trichrom-Färbung nach Gomori	29
2.2. Histologische Auswertung	30
2.2.1. Infarkt narbenplanimetrie.....	30
2.2.2. Wanddickenbestimmung	31
2.2.3. Auswertung des Kollagengehaltes	32
2.3. Ausschlusskriterien	33
2.4. Statistische Auswertung	34
3. Ergebnisse	35
3.1. Mortalität	35
3.2. Gewichtsverlauf	36
3.3. Linksventrikulärer Infarkt	38
3.3.1. Linksventrikuläre Morphologie und Infarkt narbenausdehnung.....	38
3.3.2. Infarkt narbenplanimetrie.....	40
3.3.3. Mittlerer Kollagengehalt.....	44
3.4. Linksventrikuläre Wanddickenbestimmung	45
4. Diskussion	49
4.1. Überblick	49
4.2. Remodelling im Mausmodell	50

4.3. Bedeutung der Ergebnisse im Hinblick auf die bisherige klinische Datenlage	59
4.4. Bedeutung einer systemischen Inflammation im Hinblick auf das kardiale Remodelling	61
4.5. Erklärungsansätze und Ausblick	67
4.5.1. Mikrobiom	67
4.5.2. Neurovegetativer Einfluss	70
4.6. Limitationen	71
4.7. Schlussfolgerungen und Ausblick	74
Literaturverzeichnis	75

1. Einleitung

1.1. *Chronisch entzündliche Darmerkrankungen und das kardiovaskuläre Risiko*

Ein Zusammenhang zwischen den chronisch entzündlichen Darmerkrankungen (CED) und einem erhöhten kardiovaskulären Risiko wurde bereits in diversen klinischen Studien der Vergangenheit postuliert.

Allgemeingültig ist bekannt, dass ein durch chronische Erkrankungen bedingt generalisiert erhöhter Inflammationsstatus zur Entwicklung der Atherosklerose prädisponiert. [1] [2] Beispiele hierfür sind Erkrankungen aus dem rheumatologischen Formenkreis wie die Rheumatoide Arthritis und der Systemische Lupus erythematodes, die nachweislich die atherosklerotische Entwicklung beschleunigen und damit das Auftreten kardiovaskulärer Ereignisse begünstigen. [3]

Bezogen auf das allgemeine kardiovaskuläre Risiko sowie das *Outcome* bei Patienten mit CED, die ein kardiovaskuläres Ereignis erleiden, erscheinen in der Literatur allerdings widersprüchliche Daten. Multiple klinische Studien und Metaanalysen befassten sich bereits mit dieser Thematik, allerdings existieren kaum tierexperimentelle Ansätze zur Erforschung eines pathophysiologischen Zusammenhanges. [1, 4-12] Insbesondere Untersuchungen zum Einfluss der Colitis auf das kardiale postischämische *Remodelling* fehlen bisher.

1.2. *CED*

1.2.1. Definition und Epidemiologie

Die Gruppe der CED wird klinisch in zwei hauptsächliche Entitäten unterteilt – Morbus Crohn (*Crohn's disease*, CD) und Colitis ulcerosa (CU). [13] Ihre Pathogenese geht von einem multikausalen Modell aus, das auf genetischen, immunologischen und umweltbedingten Faktoren beruht. [14] In ihrer

Gesamtheit führen diese zu einer gestörten Immunantwort gegen physiologische Antigene der Darmflora, woraus chronische Entzündungsprozesse resultieren. [14]

Inzidenz und Prävalenz der CED weisen geographische Unterschiede auf, wobei sie in den westlichen Ländern höher sind. Die europaweite Prävalenz der CU wird auf etwa 4,9 - 505 pro 100.000 geschätzt, ihre Inzidenz beträgt 0,6 – 24,3 Fälle pro 100.000 Einwohner. Bei CD sind die Raten mit 0,6–322 auf 100.000 Einwohner für die Prävalenz und 0,3 – 12,7 auf 100.000 Einwohner für die Inzidenz niedriger. [15]

Die allgemein höheren Inzidenzen und Prävalenzen in westlichen Ländern lassen neben einer Bedeutung von genetischen Faktoren auch an Zusammenhänge zwischen möglichen Umweltfaktoren und der Entstehung von CED denken. Für diesen Zusammenhang spricht auch die Beobachtung, dass in Ländern, die einer zunehmenden Verwestlichung unterliegen, steigende Inzidenzen beobachtet werden. [15-18] Der Häufigkeitsgipfel der Inzidenzen der CU liegt im Alter zwischen 20-29 Jahren. Dabei tritt die Erkrankung geschlechtsunspezifisch auf. [15] Familiäre Häufungen lassen sich, häufiger beim M. Crohn, in 5-10% der Fälle beobachten. [15, 19, 20]

Zusammenfassend geben die genannten geographischen Unterschiede, die beschriebenen Tendenzen in der epidemiologischen Entwicklung und die beobachteten familiären und ethnischen Häufungen Hinweise auf die Bedeutung von Umweltfaktoren und gleichermaßen genetischen Faktoren in Bezug auf die Entstehung der CED. [15]

1.2.2. Ätiologie

Die Ätiologie der CED geht von einem multikausalen Modell beruhend auf immunologischen, genetischen und umweltbedingten Faktoren aus. Die intestinale Inflammation wird als Resultat einer inadäquaten Immunantwort angesehen. [15]

Nach Kaser et al. herrscht eine „tridirektionale Beziehung“ [15] zwischen dem Mikrobiom des Darmes, den mukosalen Epithelzellen, sowie den dortigen Immunzellen. [13, 15] Wirken auf dieses subtile Gleichgewicht zwischen den drei Faktoren bestimmte Umweltfaktoren (z.B. Ernährung, Nikotinkonsum) ein

und besteht eine durch genetische Faktoren bedingte Vulnerabilität, so resultiert letztendlich eine Immundysregulation, die in eine Entzündungsreaktion mündet. [15] Zahlreiche Umweltfaktoren sind als Risikofaktoren für die Entwicklung von CED bekannt. Dazu gehören Nikotinkonsum, Ernährung, Stress, geographische Lokalisation sowie psychosoziale Faktoren. [21]

Im Folgenden soll genauer auf die oben genannten Faktoren eingegangen werden.

1.2.2.1. Genetische Faktoren

Es wurden bereits über 150 Genloci identifiziert, die mit einem erhöhten Risiko für das Auftreten von CED assoziiert sind. Dabei gibt es jeweils spezielle Genbereiche, die stärker mit dem Auftreten von CU im Gegensatz zu CD in Zusammenhang gebracht werden.[13, 21]

Es handelt sich dabei größtenteils um Gene, die die immunologischen Antworten der intestinalen Epithel- und Immunzellen auf die bakterielle Mikroflora regulieren. [15] Als Beispiel lassen sich mit besonderer Signifikanz *nucleotide-binding-oligomerization domain 2* (NOD2) – Polymorphismen aufführen. [21] Das NOD2 - Gen kodiert für einen intrazellulären Rezeptor, welcher das Peptidoglykan aus bakteriellen Zellwänden erkennt und daraufhin über eine *nuclear factor 'kappa-light-chain-enhancer' of activated B- cells* (NF- κ B) – vermittelte Transkription die Expression verschiedener proinflammatorischer Zytokine induziert. [14] Etwa 30% der europäischstämmigen CD-Patienten haben NOD2-Polymorphismen, die zur Alteration dieser Signalwege führen. [22] Nicht belegt ist bisher, ob die Veränderung der Signalwege in einer unzureichenden Produktion antimikrobieller Peptide mit anschließender Inflammation durch Invasion pathogener Keime resultiert, oder vielmehr eine verminderte *toll like* Rezeptor (TLR)-Hemmung mit konsekutiv gesteigerter Inflammation die Ursache darstellt. [23]

Als weitere Beispiele sind noch Veränderungen in den Sequenzen verschiedener Autophagie-Gene (z.B. ATG16L1), sowie Gene, die mit der

Funktion der intestinalen Epithelzellen (z.B. ECM1) assoziiert sind, bekannt. [13, 14, 21]

Darüber hinaus gibt es eine Assoziation mit bestimmten HLA/MHC Genen, die bei Krankheitsentitäten, welche eine autoimmunvermittelte Genese (z.B. Diabetes mellitus Typ 1, Asthma bronchiale, Psoriasis) aufzeigen, bedeutend sind. Allerdings spielen Autoimmunprozesse, wie eine Kreuzreaktivität von initial gegen bakterielle Antigene gebildeten Antikörpern gegen körpereigene Strukturen des Darmes, in der Genese der CED nur eine untergeordnete Rolle. [24]

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass die Identifikation unterschiedlicher Genloci das Verständnis der Pathogenese der CED deutlich geprägt hat. In der aktuellen Literatur wird der Zusammenhang als eine genetisch bedingte Suszeptibilität des Individuums für die Entwicklung von CED bezeichnet. Statistische Untersuchungen haben jedoch gezeigt, dass das alleinige Vorhandensein dieser Genbereiche, insbesondere für die CU, lediglich mit einem niedrigen Risiko für die Entwicklung von CED assoziiert ist. [15, 21]

1.2.2.2. Mikrobiom

Eine beträchtliche Rolle in der Pathogenese der CED spielt das Mikrobiom des Darmes, da nach dem heutigen Verständnis die Inflammation als Resultat einer dysregulierten Immunantwort gegen physiologische Antigene der mikrobiellen Darmflora angenommen wird. [15]

Das Mikrobiom des menschlichen Darmes besteht aus etwa 1000 Spezies, darunter Pro- und Eukaryonten. Mit etwa 90% machen grampositive Bacteroidetes Spezies sowie gramnegative Firmicutes den Großteil aus. Die restlichen 10% bestehen aus Proteobakterien (z.B. E.coli-Spezies, Helicobacter), Actinobakterien, sowie in geringerem Ausmaß aus Viren, Protisten und Pilzen. [13, 25]

Die genaue Zusammensetzung ist allerdings interindividuell heterogen und unterliegt zeitlichen dynamischen Schwankungen. Einfluss auf das Mikrobiom nehmen wirtseigene Faktoren (u.a. intestinale Epithel- und Immunzellen, Alter), genetische Faktoren, und diverse Umweltfaktoren (z. B. geografische

Lokalisation, Ernährung, Einnahme von Nahrungsergänzungsmitteln sowie Medikamenten). [15, 26] Aktuelle Ergebnisse aus tierexperimentellen und klinischen Studien weisen auf einen zunehmend dominierenden Einfluss der Ernährung hin. [27, 28]

Aufgrund der Größe und Diversität, der dynamischen Schwankungen und der vielen interindividuellen Unterschiede ist das aktuelle Verständnis des Aufbaus und der Funktionen des intestinalen Mikrobioms komplex und unterliegt ständig neuen, sich wandelnden Forschungserkenntnissen. Die mikrobielle Darmflora trägt mit ihrer Vielfalt an Antigenen zur Entwicklung und Differenzierung sowohl des angeborenen als auch des erworbenen Immunsystems bei. [15] Zudem übernimmt das Mikrobiom Funktionen im Rahmen der Vitaminbiosynthese und des Gallensäurestoffwechsels. [29]

Darüber hinaus ist das Mikrobiom durch Produktion kurzkettiger Fettsäuren (*short-chain fatty acids*, SCFAs) im Rahmen des Ballaststoffwechsels an der Aufrechterhaltung der epithelialen Integrität und Barrierefunktion beteiligt. [29] Die SCFAs haben vielfältige weitere Funktionen. Sie stellen eine Energiequelle dar und steuern als Liganden G-Protein gekoppelter Rezeptoren (*G protein-coupled receptors*, GPCRs) auf zellulärer Ebene Prozesse der Differenzierung, Proliferation und Immunhomöostase. [13, 30]

Störungen des Aufbaus und der Diversität des Mikrobioms können komplexe pathophysiologische Prozesse auslösen. Im heutigen Verständnis der Pathophysiologie vieler Krankheitsentitäten wird der Dysregulation des Mikrobioms eine beträchtliche Rolle zugeschrieben. Diese umfassen u.a. neben Erkrankungen des kardiovaskulären Systems auch metabolische Störungen wie der Diabetes mellitus und die Adipositas, immunologisch-vermittelte Erkrankungen wie die atopische Dermatitis oder das Asthma bronchiale sowie Störungen aus dem Autismus-Spektrum. [26, 31-33]

Es stellt sich resultierend die Frage, ob sich die Mikrobiota von Patienten mit CED von denen bei gesunden Individuen unterscheiden. Die aktuelle Literatur spricht sowohl von einer Dysbiose als auch von einem Diversitätsverlust des intestinalen Mikrobioms bei CED-Patienten. [13, 34] Es zeigen sich geringere Mengen an Bacteroidetes- und Firmicutes-Spezies. [13] Gleichzeitig beobachtet man eine Zunahme von Enterobakterien, die proinflammatorisch wirken (z.B. enteroinvasive *Escherichia coli* bei MC). [15, 21]

1.2.2.3. *Intestinale Barriere und Epithelzellen*

Die Aufrechterhaltung der intestinalen Barriere stellt eine wichtige Voraussetzung für die immunologische Homöostase des Darmes dar.

Die intestinalen Epithelzellen übernehmen dabei mit ihrer Lokalisation im Grenzbereich zwischen der Antigenvielfalt des intestinalen Lumens und Mikrobioms, sowie der Vielzahl an immunologischen Zellen der Submukosa mit dem angrenzenden lymphatischen Gewebe und Kapillarnetz wichtige Funktionen.[35, 36] Dabei stellen sie zugleich die mechanische und immunphysiologische Barriere sicher. [23]

Schlüsselproteine in der Aufrechterhaltung der mechanischen Barriere sind dabei *tight junctions*, *adherens junctions* sowie Desmosomen. [14, 23] Histologisch lassen sich im Rahmen der CED vermehrte interzelluläre Spalten beobachten, die nach aktueller Auffassung in einer Veränderung von Genen, die unterschiedliche *tight junction* Proteine kodieren (z.B. HNF4A), ihre Grundlage haben. [23]

Die Aufrechterhaltung der immunologischen Barriere unterliegt komplexen Mechanismen und Regulationen. Innerhalb des Epithels befinden sich spezialisierte Goblet- und Paneth-Zellen, die durch Sekretion von Muzinen und antimikrobiellen Peptiden die epitheliale Barriere schützen. [14] Studien belegen eine veränderte Muzinschicht und defekte Expression der Peptide bei CED Patienten. [21, 23]

Des Weiteren exprimieren die intestinalen Epithelzellen unterschiedliche Rezeptoren, sodass nach Bindung von mikrobiellen Antigenen über Signalkaskaden die Produktion von Immunmediatoren initiiert werden kann. [37] Dazu gehören zum einen extrazelluläre *pattern recognition receptors* (PRRs) wie z.B. TLRs oder intrazelluläre NOD2-Rezeptoren, die bestimmte *pathogen associated molecular patterns* (PAMPs) erkennen und somit eine schnelle Immunantwort induzieren können. [23] Damit sind intestinale Epithelzellen selbst Bestandteil der Mechanismen der angeborenen Immunantwort des Darmes.

1.2.2.4. Immunologische Aspekte der CED

Aus den vorherigen Abschnitten wurde deutlich, dass die Aufrechterhaltung der Homöostase der intestinalen mukosalen Immunität im Rahmen der Pathogenese der CED eine bedeutende Rolle spielt. [36] Zentraler Schlüsselpunkt im heutigen Verständnis der Erkrankung ist die dysregulierte Immunantwort. [21, 36]

Die Immunität im Bereich des Darmes wird über Mechanismen der angeborenen und adaptiven Mechanismen reguliert, wobei diese sowohl zelluläre als auch humorale Komponenten umfassen. [23] Bei gesunden Individuen herrscht eine mukosale Toleranz, die die Immunantwort gegen das Mikrobiom reguliert. [36] Die Bedeutung der Aufrechterhaltung dieser Homöostase mit einer Toleranz gegen die Vielzahl an Antigenen aus der komensalen Mikroflora einerseits und die Ermöglichung einer schnellen, gezielten Immunantwort gegen pathogene Keime andererseits wird insbesondere im Rahmen der Auseinandersetzung mit der Pathogenese der CED deutlich. [13, 23]

In ihrer Gesamtheit führen unterschiedliche Rezeptorsignalwege über komplex regulierte Signalkaskaden zur Aufrechterhaltung der immunologischen Homöostase. Die zugrundeliegenden Mechanismen sind nicht gänzlich verstanden. U.a. gehören dazu die Herunterregulation der Expression von PRRs sowie die Regulation der Signalkaskaden nach Bindung von Liganden, die allesamt eine immunologische Toleranz ermöglichen. [14]

Zum einen wird im Rahmen der angeborenen Immunität eine Veränderung der mit TLR-Rezeptoren sowie intrazellulären NOD-ähnlichen Rezeptoren und NfκB-vermittelt assoziierten Signalwege angenommen, wobei die genauen Mechanismen bisher nur unvollständig verstanden sind. NfκB reguliert auf nuklearer Ebene die Transkription zahlreicher proinflammatorischer Zytokine wie u.a. Tumornekrosefaktor-α (TNF-α), Interleukin (IL)-6 und IL-10. [15] Neben der Produktion proinflammatorischer Zytokine werden NfκB aber auch zytoprotektive und homöostase-regulierende Funktionen zugeschrieben. Eine Veränderung dieser Signalwege hätte eine Erhöhung der Inflammation zur Folge. [21, 38, 39]

Zugehörig zum adaptiven Immunsystem und maßgeblich an der Pathogenese der CED beteiligt sind CD4-positive T-Helferzellen (TH), die sich abhängig von ihrer Differenzierung und ihrem Zytokinprofil in unterschiedliche Gruppen einteilen lassen. Dazu gehören TH1-Zellen, die vor allem Interferon- γ (IFN γ) produzieren und TH2-Zellen, welche mit naher Verwandtschaft zu den natürlichen Killerzellen (NK-Zellen) vor allem IL-4, -5 und -13 produzieren. Darüber hinaus scheint die Population der TH17-Zellen mit vornehmlicher Produktion von IL-17, IL-21 und IL-22 eine Rolle in der CED Pathogenese zu spielen. [13, 14, 21, 40] Dabei wurden gehäuft durch genetische Analysen Polymorphismen der in der IL-23 und TH17-Achse beteiligten Proteinen bei CED-Patienten nachgewiesen. [21] In dem Zusammenhang wird IL-23 mit seinen vielfältigen Funktionen als Schnittstelle zwischen adaptiver und angeborener Immunität angesehen. [23]

Weiterhin ist bekannt, dass es pathogenetische Unterschiede zwischen den einzelnen Krankheitsentitäten gibt. So zeigen Studien bei CD eine erhöhte Produktion von IL-17 durch TH17 sowie, INF- γ und TNF- α durch TH1. Bei der CU sind dahingegen gehäuft IL-17 sowie Zytokine von TH2 nachweisbar. [21, 23, 39]

Die Population der regulatorischen T-Zellen (Treg) wirkt antiinflammatorisch und hat somit wichtige homöostase-regulierende Funktionen, u.a. durch Produktion der antiinflammatorischen Zytokine wie IL-10 und *transforming growth factor β* (TGF- β). Im Rahmen der Pathogenese der CED wird eine Alteration der Funktionsmechanismen der T-reg Zellen und eine häufige Konversion in proinflammatorische TH17 beobachtet, sodass dies ebenfalls als Aspekt, der zur gehäuften Inflammation führt, angenommen wird. [15]

Ein weiterer wichtiger Aspekt ist die erhöhte Infiltration der Lamina propria durch Immunzellen wie Neutrophile, Makrophagen, dendritische Zellen, aber auch B- und T-Lymphozyten bei CED. Dies resultiert zum einen daraus, dass sowohl unterschiedliche Adhäsionsmoleküle der Endothelzellen durch erhöhte Zytokinspiegel wie IL-1 und TNF- α vermehrt exprimiert werden, und zum anderen auch interstitiell erhöhte Chemokinspiegel vorhanden sind. [14]

1.3. Myokardinfarkt

1.3.1. Ätiologie und Epidemiologie des Myokardinfarktes

Ein Myokardinfarkt (MI) ist definiert als Nekrose von Kardiomyozyten infolge einer Ischämie. [41]

Der klinische Nachweis einer myokardialen Schädigung im Allgemeinen erfolgt bei Troponinspiegeln über der 99. Perzentile des Referenzwertes. Eine entsprechende steigende oder fallende Dynamik der Troponinwerte kennzeichnet dabei ein akutes Geschehen. [41] Klinisch-diagnostisch unterscheidet man zudem abhängig von vorhandenen EKG-Veränderungen den ST-Hebungs-Myokardinfarkt (*ST-elevation myocardial infarction*, STEMI) vom Nicht-ST-Hebungs-Myokardinfarkt (*non-ST-elevation-myocardial-infarction*, NSTEMI). [41, 42]

Klinisches Leitsymptom ist der pektanginöse Schmerz ggf. einhergehend mit einer Ausstrahlung in den linken Arm-/Schulterbereich, den Hals, den Unterkiefer, den Rücken oder den Oberbauch. Atypische Beschwerden werden insbesondere bei Frauen, Diabetikern oder älteren Patienten beobachtet mit beispielsweise epigastralen Beschwerden, pleuritischen Schmerzen oder Palpitationen. Lediglich eine vegetative Symptomatik oder gar symptomfreie Verläufe sind ebenfalls möglich. [41, 42]

Kardiovaskuläre Erkrankungen im Allgemeinen stellen weltweit weiterhin die häufigste Todesursache dar. [43, 44] Allerdings beobachtet man insbesondere in den westlichen Ländern seit 1980 sinkende Inzidenzen der ischämischen Herzerkrankung, wobei man diese Entwicklung insbesondere auf eine verbesserte primäre Prävention und Einstellung von kardiovaskulären Risikofaktoren zurückführt. [45]

Therapeutische Fortschritte in der interventionellen Revaskularisation, aber auch verbesserte medikamentöse Therapiemöglichkeiten, die sowohl die antithrombozytäre Therapie als auch die Therapie der ischämischen Herzerkrankung und die Einstellung von Risikofaktoren betreffen, haben die Prognose nach überlebtem Myokardinfarkt in den westlichen Ländern verbessert.

In diesem Zusammenhang bleibt insbesondere die linksventrikuläre systolische und diastolische Funktion nach überlebtem Myokardinfarkt, die maßgeblich durch physiologische und pathologische *Remodelling* Prozesse beeinflusst wird, ein wichtiger prognosebestimmender Faktor. [46, 47] Grundpfeiler der medikamentösen Nachsorge stellen dabei die Betablockade und antineuroendokrine Behandlung durch Hemmung des Renin-Angiotensin-Aldosteron-Systems (RAAS) durch *angiotensin-converting-enzyme* (ACE)-Hemmer dar und haben in zahlreichen Studien der Vergangenheit eine prognoseverbessernde Wirkung bewiesen. [48]

In den folgenden Abschnitten soll zunächst ausführlicher auf die molekularen, zellulären und immunologischen Mechanismen des *Remodelling* nach myokardialer Ischämie eingegangen werden.

1.3.2. Myokardiale Ischämie und postischämisches *Remodelling*

1.3.2.1. Pathophysiologie des Myokardinfarktes

Auf intrazellulärer und molekularer Ebene kommt es im Rahmen der kardialen Ischämie zu unterschiedlichen Prozessen, die schließlich in einer Koagulationsnekrose des Myokards ihren Endpunkt haben. [44]

Zunächst führt die Ischämie zu einem intrazellulären Sauerstoffmangel, wodurch der aerobe Stoffwechsel nicht mehr aufrechterhalten werden kann. [49] Die Beeinträchtigung der oxidativen Phosphorylierung resultiert in einem Mangel an Adenosintriphosphat (ATP) mit Funktionsverlust der Natriumpumpe und folglich Ionenverschiebungen wie einem intrazellulären Kaliummangel und einem erhöhten Gehalt an Natrium in den Zellen. [44] [49, 50] Ferner kommt es im Rahmen des beginnenden anaeroben Stoffwechsels zur Akkumulation osmotisch wirksamer Stoffe wie Laktat, Glukose-1-Phosphat, Glukose-6-Phosphat und anorganischen Phosphaten. [50] Der darauffolgende Einstrom von Wasser führt zur Zellschwellung und damit zur Schädigung der Kardiomyozyten, wobei sich innerhalb von bereits einer Minute ein Kontraktilitätsverlust des Myokards bemerkbar macht. [44]

Schließlich kommt es zur Ruptur sarkolemmaler Strukturen und Freisetzung von Troponin und Myoglobin, deren serologischer Nachweis zur klinischen Diagnostik einer myokardialen Ischämie genutzt wird. [50]

Die Entwicklung einer Koagulationsnekrose ist schließlich Endpunkt der Ischämie, wobei in wenigen Fällen auch eine Apoptose der Kardiomyozyten beschrieben wird. [44]

Gleichzeitig ist die Koagulationsnekrose aber auch der Ausgangspunkt des kardialen *Remodelling*. Der vorausgegangene Zelltod führt zu einer Entzündungsreaktion, die über immunologische Kaskaden und Reparaturmechanismen zur Entstehung einer myokardialen Narbe führt. [44]

1.3.2.2. Definition und Mechanismen des Remodelling

Nach der Konsensusdefinition bezeichnet das kardiale *Remodelling* all jene Veränderungen auf molekularer, zellulärer und interstitieller Ebene, die nach einer kardialen Schädigung auftreten und klinisch aufgrund von Veränderungen der kardialen Größe, Form und Funktion in Erscheinung treten. [51] Im Prozess des *Remodelling* werden mehrere Phasen unterschieden – die initiale Phase der Inflammation, die Phase der Reparatur/Proliferation und die Phase der Reifung der myokardialen Narbe. [52, 53] Richardson et al. sprechen zudem noch von einer Phase eines längerfristig andauernden chronifizierenden *Remodelling* mit meist nachteiligen Effekten auf die kardiale Funktion. [54]

Die erste Phase der Inflammation folgt direkt im Anschluss an die Ischämie und hat zum Ziel, die infarzierten Zellen sowie den extrazellulären *Debris* zu beseitigen. [53] Die durch die Hypoxie entstandene Nekrose triggert eine Entzündungsreaktion, die zur Einwanderung von Leukozyten, insbesondere Neutrophilen, und u.a. CCR2-vermittelt im Verlauf auch von Makrophagen führt. [52] [55] Daran sind komplexe Mechanismen auf zellulärer, molekularer sowie auch die interzelluläre Matrix betreffender Ebene beteiligt. [56] Experimentelle Ansätze zur Depletion von Neutrophilen, die eine maßgebende Rolle in der ersten Phase des Remodelling spielen, zeigten in Studien eine Reduktion der myokardialen Infarktgröße nach MI. [55]

Zu den Funktionen der Leukozyten gehören die Sekretion von Proteinasen zur Proteolyse des nekrotischen Gewebes sowie reaktiven Sauerstoffspezies (*reactive oxygen species*, ROS). [55] Bei den Proteinasen werden den Matrix-Metalloproteinasen (MMP) 1,2,3 und 12-14 eine zentrale Bedeutung zugeschrieben, die von Leukozyten, Makrophagen und Lymphozyten sezerniert werden. [57] Zum anderen sezernieren die Immunzellen unterschiedliche signalgebenden Zytokine, um Fibroblasten zu rekrutieren und zu aktivieren. [54] Schließlich bildet sich innerhalb der ersten 24 Stunden ein provisorisches Granulationsgewebe, welches hauptsächlich aus Fibrin, Laminin und Glykosaminoglykanen besteht. [54]

Eine besondere Bedeutung kommt den Kardiomyozyten in der Grenzzone zwischen infarziertem und gesundem Gewebe zu. Frühere Daten belegen, dass sie vor allem eine proinflammatorische Funktion übernehmen, indem sie, teilweise Inflammasomen-vermittelt, zur Produktion von IL-1 β oder IL-6 beitragen. [58, 59] Allerdings zeigen neuere Arbeiten, dass die Kardiomyozyten der Grenzzone eine phänotypische Plastizität aufweisen, und getriggert durch Immunmediatoren auch reparative und antiinflammatorische Vorgänge initiieren können. [60]

Eingedämmt wird diese erste inflammatorische Phase des *Remodelling* durch apoptotische Neutrophile, die antiinflammatorische Zytokine (z.B. Annexin oder Lactoferrin), sogenannte „*eat-me*“ Signale, sezernieren, woraufhin es zur Akkumulation von Makrophagen kommt, welche letztlich die apoptotischen Zellen phagozytieren. [52] Darüber hinaus sezernieren Makrophagen neben einem breiten Spektrum von Immunmediatoren zudem den Fibroblastenwachstumsfaktor (*fibroblast growth factor*, FGF) und den transformierenden Wachstumsfaktor- β (*transforming growth factor β* , TGF- β), welche Myofibroblasten zur Kollagenproduktion stimulieren. [52]

Damit wird die zweite Phase des *Remodelling* – die proliferative Phase – eingeleitet, die durch Akkumulation mesenchymaler Zellen und Sekretion extrazellulärer Matrixproteine die Bildung eines provisorischen Narbengewebes bewirkt. [52, 53] Dieser Übergang zwischen inflammatorischer und proliferativer Phase des *Remodelling* ist im Hinblick auf die weitere Prognose durch Einflüsse auf das mechanische *Remodelling*

und die damit einhergehende nachfolgende kardiale Funktion entscheidend, da eine feine zeitliche Abstimmung nach Entstehung des provisorischen Granulationsgewebes zur raschen Fibrose und damit einhergehenden Stabilisierung notwendig ist. [55]

Die Sekretion von *vascular endothelial growth factor* (VEGF) sowie Chemokinen wie CXCL12 fördert die Vaskulogenese zur Versorgung der entstandenen Narbe mit Nährstoffen und Sauerstoff. Es kommt zur Rekrutierung von endothelialen Vorläuferzellen (*endothelial progenitor cells*, EPCs). [55] Diese scheinen eine zentrale Bedeutung einzunehmen, da die Transplantation von EPCs im Tierversuch eine Besserung des *fractional shortening* sowie der koronaren Flussrate (durch eine verstärkte Neovaskularisierung) zeigte. [61]

Mit zunehmender Reifung entstehen Gefäße mit Perizyten-Ummantelung, die ihrerseits antiinflammatorische Zytokine produzieren und die weitere Inflammation im Verlauf inhibieren. [58] U.a. geschieht dies auch direkt durch Stabilisierung der Gefäße und Verhinderung der weiteren Einwanderung von Leukozyten. [53]

Weitere Mechanismen, die zur Inhibition der Inflammation angenommen werden, sind Köder-Rezeptoren (*decoy-receptors*), die zirkulierende proinflammatorische Zytokine und Chemokine ohne Signalvermittlung abfangen, IL-10 vermittelte Signalkaskaden, sowie matricelluläre Proteine in der Infarkt-Grenzzone, die eine Rolle in entzündungshemmenden Kaskaden spielen. [58]

Schlüsselzellen dieser antiinflammatorischen *Remodelling*-Phase sind die Myofibroblasten. Diese akkumulieren im Bereich der Infarktzone durch Proliferation, durch Einwanderung aus anderen myokardialen Bereichen sowie durch Differenzierung aus anderen Zellen wie ansässigen kardialen Fibroblasten, Fibroblasten-Vorläuferzellen aus dem Knochenmark und Endothelzellen. [53, 56] Sie sind zum einen für die Produktion unterschiedlicher Kollagen-Vorstufen zuständig und zum anderen durch das enthaltene intrazelluläre Aktin zu aktiver Kontraktion fähig. [51, 52, 56]

In der schließlich darauffolgenden Phase der Reifung kommt es zur zunehmenden Stabilität und Steifigkeit der interzellulären Matrix.

Gewährleistet wird dies durch ein *crosslinking* des initial sezernierten Prokollagens sowie die weitere Sekretion von Proteoglykanen. Ferner wird mit zunehmender Reifung der Narbe eine Reduktion der zellulären Komponenten wie Myofibroblasten, Endothelzellen und Stammzellen durch Apoptose erreicht. [56, 58]

Das jedoch nicht einzelne Immunzell-Phänotypen zu Phasen des *Remodelling* strikt zugeordnet werden können, zeigen tierexperimentelle Daten. Im Mausmodell konnten zwei Populationen aus der Milz stammender Monozyten nachgewiesen werden, die eine Rolle im *Remodelling* spielen - inflammatorische und residentielle Monozyten. Erstere übernehmen vor allem Funktionen der Phagozytose. Experimentelle Studien zeigten dabei, dass vor allem eine zeitnahe (meist CCR2 vermittelte) Rekrutierung dieser Subgruppe zur Phagozytose des entstehenden Zell-*Debris* von großer Bedeutung ist, da ansonsten erhöhte Raten von Arrhythmien oder Herzwandrupturen beispielsweise bei experimenteller CCR2-Blockade festgestellt werden konnte. [55] Die zweite Gruppe sind residentielle Monozyten, die vor allem in späteren Phasen des *Remodelling* aktiv werden, und die Akkumulation von Myofibroblasten, die Angiogenese und eine Kollagendeposition begünstigen. [55] Allerdings scheint die einfache Differenzierung in diese zwei Gruppen von Monozyten – proinflammatorisch und antiinflammatorisch – zu vereinfacht zu sein, da vermutlich noch weitere Subpopulationen mit unterschiedlichem Potenzial zur Differenzierung zusätzlich rekrutiert werden. [53] Darüber hinaus weisen residentielle Fibroblasten in der ersten Phase ebenfalls proinflammatorische Eigenschaften, insbesondere durch Inflammasom-vermittelte Signalkaskaden auf. [53] [62] Auch Lymphozyten als Teil der adaptiven Immunantwort spielen eine Rolle im *Remodelling*. Beim akuten Myokardinfarkt zeigt sich ein invertiertes CD4/CD8 Verhältnis mit Erniedrigung der TH4 sowie Anstieg der CD8-Zellen (zytotoxische T-Zellen). [57]

Zusammenfassend kommt es also nach der kardialen Ischämie zu einer Inflammationskaskade, die sowohl rapide, aber auch transient verläuft. [58] Die Inflammation ist unabdingbar, da erst nach Verdau des nekrotischen

Materials Signalwege aktiviert werden können, die zum fibrotischen Umbau führen. Führt man sich diese Mechanismen vor Augen, wird deutlich, welche besondere Regulation dieser Inflammationsprozess bedarf. Eine überschießende Inflammation und der Übertritt der inflammatorischen Reaktion weit über infarzierte myokardiale Bereich hinaus können nachfolgend zu einem nachteiligen *Remodelling* mit kardialen Funktionsverlust führen. [52]

1.3.2.3. Molekulare Grundlagen der postischämischen Entzündungsreaktion

Der massive Zelltod im Rahmen der myokardialen Ischämie führt zur Freisetzung intrazellulärer Bestandteile, die über unterschiedliche Signalwege als pathologisch wahrgenommen werden und folglich Entzündungsmechanismen aktivieren. [44, 58]

Zu zentralen Bestandteilen dieser Pfade gehören TLR, Komplementkaskaden sowie ROS, die allesamt über die Aktivierung des NfκB-Systems eine immunologische Antwort evozieren. NfκB-vermittelt kommt es zur Produktion verschiedener proinflammatorischer Zytokine, unter denen IL-1β, TNF-α und IL-6 als Beispiele zu nennen sind. [44, 53] Experimentelle Ansätze zur Herunterregulation NfκB-vermittelter Signalwege, die über Blockaden von Komplementfaktoren, TLR sowie ROS eine verminderte Neutrophileninfiltration bewirkten, führten zu einer signifikanten Reduktion der Infarktgröße. [55]

Zu den häufigen Liganden der TLR sowie zu den Aktivatoren des Komplementsystems zählen dabei *damage-associated molecular patterns* (DAMPs), endogene Liganden, die aus beschädigten Geweben, wie beispielsweise ischämischem Myokard, freigesetzt werden. [44, 58, 63] Dazu gehören beispielsweise auch Proteine der S100-Familie. [64]

Eine zentrale Bedeutung in der myokardialen Entzündungsreaktion wird dabei dem TLR-4 zugeschrieben und insbesondere seine Funktion als Bindeglied zwischen dem kardiovaskulären System und der Immunantwort hervorgehoben. [63, 65] So zeigt sich *in-vivo* bei TLR-4-*knockout* (ko) Mäusen

sowohl im MI-Modell (durch Ligatur einer Koronararterie) als auch im Sepsis-Modell (durch LPS-Gabe) eine verbesserte kardiale Kontraktilität im Vergleich zu den Wildtyp (WT)-Tieren. [65] Zudem zeigen TLR-4-ko Mäuse ein geringeres Ausmaß an Fibrose und eine geringere Ventrikeldilatation. [66] Die Aktivierung des TLR-4-Signalweges korreliert dabei mit der Infarktstärke. [67] Interessanterweise ist ein Anstieg von TLR-4 kodierender mRNA dabei sowohl in Kardiomyozyten innerhalb des Infarktgebiets als auch im Nicht-Infarkt-Myokard nachweisbar. [68] Ferner postulieren Liu et al. einen Zusammenhang zwischen der TLR-4-vermittelten Inflammation und der ischämischen Herzinsuffizienz im Mausmodell vier Wochen post-MI, wobei diesem eine Hochregulation der TLR-4-Expression und Liganden-Affinität zugrunde liegen. [68] Schließlich konnte auch eine Hemmung der TLR-4 vermittelten Kaskade in Studien die postischämische Inflammation verhindern und damit beispielsweise die Infarktgröße verringern. [63, 68]

Neben proinflammatorischen Zytokinen spielen auch diverse Chemokine (der Subfamilien CC und CXC) eine Rolle in der Phase der Inflammation, da sie proinflammatorische Zellen, vor allem Leukozyten, chemotaktisch rekrutieren. [53] Als Beispiel ist hier das *monocyte chemoattractant protein 1* (MCP-1) zu nennen, welches proinflammatorische Monozyten zur Phagozytose rekrutiert. [53] Parallel dazu scheint es aber auch antiinflammatorische Wirkungen zu haben, u.a. durch Einflussnahme auf die NfκB-vermittelten Signalkaskaden. [69]

Nach der ersten inflammatorischen Phase des *Remodelling* und mit Beginn der proliferativen Phase werden antiinflammatorische Zytokine wie IL-10 sowie TGF-β bedeutender. [55] Hinzu kommen intrazelluläre Signalkaskaden und Mediatoren, die die Ausbildung eines antiinflammatorischen Phänotyps bewirken. Dazu gehört beispielsweise *IL-1 receptor associated kinase 3* (IRAK-3), welches in einer Subgruppe von Makrophagen und Fibroblasten enthalten ist und IL-1 getriggert im Sinne einer negativen Rückkopplung dazu führt, dass diese Zellen weniger proinflammatorische Zytokine ausschütten. [53]

TGF-β kommt eine wichtige Schlüsselfunktion im Übergang von der inflammatorischen zur reparativen Phase zu. [53] Es wird aus dem

geschädigten Myokard und gleichzeitig aus den einwandernden Entzündungszellen und Thrombozyten freigesetzt. [53] TGF- β ist wichtig für die Differenzierung von Fibroblasten zu Myofibroblasten; diese Konversion wird dahingegen durch die proinflammatorischen Mediatoren wie IL-1 β gehemmt. [53] Zum anderen fördert es die Expression von Kollagen und Fibronectin und inhibiert gleichzeitig die weitere Expression von Proteasen in der Phase des reparativen *Remodelling*. [53]

Auch der Prozess der Angiogenese, der vor allem in der zweiten Phase des *Remodelling* stattfindet, wird durch unterschiedliche Immunmediatoren reguliert. Dabei werden angiostatische Faktoren (z.B. CXCL10), deren Hochregulation in der ersten Phase des Remodelling eine Angiogenese hemmt, von angiogenen Faktoren (wie CXCL12, CXCL1, MIF), die in der zweiten Phase des Remodelling exprimiert werden, unterschieden. [55] So wird beispielsweise CXCL10 durch erhöhte Spiegel von TGF- β supprimiert. [55]

Darüber hinaus spielt TGF- β (gemeinsam mit CCL2) eine Rolle in der Differenzierung von Fibroblasten zu Myofibroblasten. [55] Die initiale provisorisch gebildete Narbe, die hauptsächlich aus Fibrin und Fibronectin besteht, wird im Verlauf durch Kollagen ersetzt. Proteine wie Thrombospondin, Osteopontin und Tenascin C spielen hier eine Rolle und fördern die zellulären Interaktionen sowie ein *Crosslinking*. [55]

Zudem ist bekannt, dass Chemokine wie CXCL12 sowie CCL7 auch die Rekrutierung von mesenchymalen Stammzellen, die sich auch in Kardiomyozyten differenzieren können, fördern. [55]

1.3.2.4. *Nachteiliges Remodelling*

Ein adäquates physiologisches Remodelling zielt primär darauf die linksventrikuläre systolische Funktion durch Wiederherstellung der „(Ventrikel) Größe, Form und Integrität“ [52] zu erhalten. Diese „reparative Fibrose“ [52] steht im Gegensatz zur „reaktiven interstitiellen Fibrose“ [52] in der Infarkt- und vor allem Non-Infarkt-Zone, die prolongiert nach der initialen Phase auftreten kann, und über die Aufgabe eines Form- und Funktionserhalts hinausgeht. Die darüber hinaus einsetzenden Prozesse des

nachteiligen linksventrikulären *Remodelling* können in einer linksventrikulären Dilatation und Dysfunktion resultieren und nach klinischen Studienergebnissen für bis zu drei Jahre progredient verlaufen. [51]

Faktoren, die Einfluss auf solch ein nachteiliges Remodelling nehmen, sind dabei die initiale Infarktgröße, Ejektionsfraktion und Infarktlokalisierung und die Tatsache, ob es sich um einen STEMI oder NSTEMI handelt. [52]

Dabei lässt sich klinisch im Bereich des infarzierten Myokards eine Dilatation beobachten, wohingegen nicht-infarzierte Bereiche kompensatorisch hypertrophieren und zunehmend fibrosieren. Verbleibende Kardiomyozyten der Infarktzone hypertrophieren oder elongieren häufig. [51, 58] Weitere Folgen, die klinisch in Erscheinung treten, sind zudem eine Veränderung der elliptischen kardialen Form zur zunehmenden sphärischen Form. [51]

Bisherige klinische Ansätze, die sich auf Ergebnisse aus tierexperimentellen Studien stützten und das Ziel verfolgten, gezielt durch Unterbinden inflammatorischer Kaskaden Einfluss auf das post-MI *Remodelling* zu nehmen, zeigten keine Erfolge. [70] Das ventrikuläre *Remodelling* stellt weiterhin ein therapeutisch nur unzureichend behandelbares Problem dar. Durch seinen großen Einfluss auf die Langzeitfolgen nach MI wie z.B. die Entwicklung einer systolischen und diastolischen Herzinsuffizienz sowie das Auftreten maligner Arrhythmien nimmt es eine zentrale Bedeutung in der Langzeitprognose der Patienten nach überlebtem MI ein. [44, 52]

Ziele in der Zukunft wären angepasste Therapien, um an den molekularen immunologischen Kaskaden, welche die post-MI *Remodelling* betreffen, anzusetzen, um dabei negative Effekte zu minimieren. [44] Die Implementierung antiinflammatorischer Therapien bleibt komplex, da beteiligte Mediatoren zeitgleich sowohl proinflammatorische als auch reparative Prozesse triggern können, sodass weiterführende Erkenntnisse in diesem Gebiet notwendig sind. [71]

1.4. Stellenwert der Colitis im Rahmen des kardialen post-I/R Remodelling

Es existiert eine Vielzahl klinischer Studien, in denen eine Korrelation zwischen den schubweise auftretenden CED und einem erhöhten Risiko einer

koronaren Herzkrankheit postuliert wird. Die systemische Inflammation als zentraler Ausgangspunkt für die Entstehung und das Fortschreiten einer Atherosklerose ist dabei Gegenstand der Forschung der letzten Jahrzehnte. [72] Eine endotheliale Dysfunktion, die vermehrte Thrombozytenaggregation sowie eine im inflammatorischen Milieu begünstigte Plaqueformation werden als mögliche Ursachen proatherogener vaskulärer Prozesse angenommen.

[73]

Ob die systemische Inflammation dabei den Prozess der Atherosklerose direkt – und von den klassischen kardiovaskulären Risikofaktoren unabhängig – beeinflusst, wurde lange kontrovers diskutiert. Tatsächlich zeigten sich nach antiinflammatorischer Therapie mit Canakinumab bei Patienten nach Myokardinfarkt geringere Raten eines erneuten kardiovaskulären Ereignisses ohne Einflussnahme auf die Cholesterinwerte.

[74] Ebenfalls ergab sich in einer retrospektiven Kohortenstudie von Aniwan et al. ein allgemein erhöhtes Risiko für einen Myokardinfarkt bei Patienten mit CED trotz niedriger Prävalenz von klassischen kardiovaskulären Risikofaktoren. So zeigte sich ein Inzidenzratenverhältnis (*incidence rate ratio*, IRR) von 1,99 bei der Kohorte mit bestehenden CED einen MI zu erleiden. [73] Das für die klassischen kardiovaskulären Risikofaktoren Geschlecht, Alter, positive Familienanamnese, arterielle Hypertonie sowie Diabetes mellitus Typ 2 adjustierte *hazard ratio* (HR) betrug 2,82. [73] Im Gegensatz dazu zeigten Osterman et al. in ihrer retrospektiven Studie nach Adjustierung für die einzelnen kardiovaskulären Risikofaktoren lediglich ein HR von 1,11. [75] Auch in den von Sridhar et al. publizierten Daten zeigte sich nach Adjustierung für die klassischen kardiovaskulären Risikofaktoren ein *odds ratio* (OR) von 0,56 für CU bzw. 0,62 für CD. [76]

Ferner bleibt unklar, inwiefern sich die Prognose nach erstmaligem Myokardinfarkt bei Patienten mit CED im Vergleich zur Kontrollgruppe unterscheidet. Kristensen et al. untersuchten retrospektiv dänische *multicenter*-Daten der Jahre 2002 – 2011, wobei sich als Ergebnis neben einer erhöhten allgemeinen Mortalitätsrate nach MI bei Patienten mit CED auch erhöhte Raten für den kombinierten Endpunkt erneuter MI, kardiovaskulärer Tod sowie Schlaganfall zeigten. [7, 77] Entgegengesetzt dazu legten Ehrenpreis et al. in ihrer retrospektiven Studie allerdings eine

geringere Mortalität nach Hospitalisation aufgrund eines MI bei Patienten mit CED dar. [78]

Zusammenfassend ist die aktuelle Datenlage sowohl bezogen auf den Einfluss der CED auf eine Atherosklerose-vermittelte Erhöhung des kardiovaskulären Risikos als auch auf die post-MI Prognose kontrovers und basiert bisher größtenteils auf retrospektiven klinischen Studien.

Es stellt sich resultierend die Frage, inwiefern die bestehende Colitis einen Einfluss auf das post-MI *Remodelling* nimmt und damit prognostische Unterschiede impliziert. Ansätze zur Untersuchung des Einflusses von CED explizit auf das kardiale *Remodelling* nach MI fehlen bisher.

Es existieren allerdings Arbeiten, die den Einfluss der bestehenden chronischen Entzündung auf ein langfristiges – Ischämie-unabhängiges – kardiales *Remodelling* untersuchen. Man nimmt an, dass eine generalisierte Inflammation langfristig durch *Remodelling*-Prozesse zu einer chronischen Herzinsuffizienz führt. [79] In ihrer Übersichtsarbeit postulieren Bunu et al. eine durch die Colitis begünstigte myokardiale Fibrose. Als mögliche Pathomechanismen nehmen die Autoren dabei Nachweise einer vermehrten systemischen Kollagenzirkulation, eine unter der Colitis begünstigte mikrovaskuläre endotheliale Dysfunktion, sowie Veränderungen in der NO-vermittelten Vasodilatation an. [79] Folglich kommt es zu Funktionseinschränkungen, welche sowohl die kardiale diastolische als auch systolische Funktion längerfristig einschränken. [79] In einer weiteren Studie konnte gezeigt werden, dass die Entzündungsaktivität in CED mit Erniedrigungen im linksventrikulären globalen longitudinalen *Strain* sowie in der globalen longitudinalen *Strain* Rate einhergehen. [80]

Ein Nachweis erhöhter Spiegel proinflammatorischer Zytokine und Chemokine nach MI geht häufig mit einem nachteiligen *Remodelling*, einer höheren Reinfarktrate und sowie einer verschlechterten klinischen Prognose einher. [57] Dies legt die Vermutung nahe, dass eine zugrundeliegende intestinale Entzündung Einfluss auf die kardialen post-IR Prozesse einnimmt. Bisherige Literaturdaten zeigen allerdings einen differentiellen Einfluss sowohl von Immunzellen als auch von unterschiedlichen Immunmediatoren auf das post-IR *Remodelling*. [57] Die Komplexität der Prozesse basiert darauf, dass einzelne Zytokine und Immunzellen nicht strikt eine pro- oder

antiinflammatorische Wirkung zeigen. Somit stellt sich die Frage, ob es neben einem rein prognostischen Einfluss der CED auf das kardiovaskuläre Risiko und das kardiale post-IR *Remodelling*, auch einen differentiellen Einfluss der unterschiedlichen Colitis-Stadien, der Entitäten und dem Colitis Aktivitätsgrad der Colitis Schübe gibt.

1.5. Zielsetzung der Arbeit

In Bezug auf die bisherige Datenlage hätte eine bereits vorhandene systemische Entzündung hypothetisch einen überwiegend negativen Effekt auf die inflammatorischen Prozesse des *Remodelling* nach kardialer Ischämie. Da die Inflammation im Rahmen der CED jedoch verschiedene Phasen durchläuft, welche sich in ihrer Stärke massiv unterscheiden und wahrscheinlich auch unterschiedliche Entzündungszellpopulationen involvieren, kann vermutet werden, dass der Einfluss der Entzündung in den verschiedenen Phasen der Erkrankungen durchaus unterschiedlich ausfällt. Mit der vorliegenden Arbeit sollte der Einfluss einer zugrundeliegenden intestinalen Entzündung am Beispiel eines murinen Colitis-Modells auf das *Remodelling* untersucht werden. Dabei wurden drei verschiedene intestinale Inflammationsstadien initiiert:

1. das akute Entzündungsstadium
2. das subakute Entzündungsstadium
3. die Remissionsphase

Ziel war es, den differentiellen Einfluss der einzelnen Inflammationsstadien auf das *Remodelling* nach kardialer I/R herauszuarbeiten.

2. Material und Methoden

2.1. Tierversuche

Die Tierversuche wurden vom Landesamt für Natur, Umwelt und Verbraucherschutz Nordrhein-Westfalen basierend auf §8 des Tierschutzgesetzes am 11.03.2013 genehmigt (Az. 84-02.04.2014.A486).

2.1.1. Verwendete Tiere

Für die Versuche wurden C57BL/6J Mäuse verwendet. Die Tiere wurden über Janvier Labs (Le Genest-Saint-Isle, Frankreich) bezogen und unter standardisierten Bedingungen der Zentralen Einrichtung für Tierforschung und Tierschutzaufgaben (ZETT) der Heinrich-Heine-Universität gehalten. Es handelte sich um männliche Tiere, die zu Versuchsbeginn zwischen vier und fünf Wochen alt waren.

2.1.2. DSS Modell und experimentelles Schema

Die Induktion der Colitis bei den Versuchstieren erfolgte mithilfe des Dextrannatriumsulfat (*dextrane sodium sulfate*, DSS)-Modells. DSS wurde in einer Konzentration von 2% dem entkeimten Trinkwasser zugesetzt und alle drei Tage erneuert.

DSS ist ein wasserlösliches, negativ geladenes, sulfatiertes Polysaccharid. Sein molekulares Gewicht beträgt zwischen 36-50 kDa. [39, 81] Es wirkt als direktes Toxin auf die Mukosa des Colons und schädigt dessen epitheliale Barriere, sodass Bakterien in die Lamina propria eindringen und eine Entzündungsreaktion auslösen können. [81] Zudem wirkt DSS als Antikoagulanzen und verstärkt somit intestinale Blutungen. [39] Auf die DSS Gabe folgend zeigen sich bei den Tieren sowohl klinische Symptome als auch Veränderungen auf histopathologischer und molekularer Ebene. Es lassen sich Diarrhoen und Blutbeimengungen im Stuhl beobachten. Pathohistologisch werden eine Entzündungsreaktion und oberflächliche Erosionen auffällig, die sich vor allem auf die Bereiche Colon descendens,

Sigmoid und Rektum erstrecken. Klinisch und makroskopisch ist die Entzündung somit vergleichbar mit dem Bild der CU des Menschen. [82]

Abhängig von der Konzentration des DSS im Trinkwasser, der Dauer der DSS-Trinkwassergabe und der Anzahl und Frequenz an Zyklen mit dazwischenliegenden Pausen werden im Dickdarm akute oder subakute bis chronische Entzündungsstadien initiiert. Eine kontinuierliche Gabe über fünf bis sieben Tage initiiert dabei eine akute Entzündung. Eine Gabe über vier bis fünf Zyklen mit intermittierenden Erholungsphasen über sieben bis 14 Tage führt dahingegen zu einer chronischen Entzündung. [39, 81].

Die DSS-Gabe erfolgte in unserem Projekt in mehreren Zyklen, wobei ein Zyklus aus sechs Tagen kontinuierlicher DSS-Gabe sowie einer nachfolgenden zweiwöchigen Auswaschphase bestand.

Es erfolgte die Einteilung der Tiere in drei Kohorten, die sich im Zeitpunkt der kardialen I/R Induktion unterschieden (s. Abb. 1). Jeder mit DSS-behandelten Gruppe wurde eine Kontrollgruppe, die entkeimtes Trinkwasser ohne DSS erhielt, zugeordnet.

Nach dem ersten Protokoll erfolgte die Induktion der kardialen I/R im akuten Entzündungsstadium (s. Abb. 1A). Die Tiere erhielten vier Zyklen DSS. Die kardiale I/R wurde bereits am letzten Tag des vierten DSS-Gabe Zyklus gesetzt. Drei Wochen nach der Ischämie erfolgte, im Gegensatz zu den beiden anderen Protokollen ohne Gabe eines weiteren DSS-Zyklus, die Entnahme der Herzen.

Die Kohorte, die nach dem zweiten Protokoll behandelt wurde (s. Abb. 1B), erhielt initial ebenfalls vier DSS-Zyklen. Die letzte Auswaschphase wurde auf eine Woche verkürzt, wonach direkt die I/R gesetzt wurde. Der fünfte Zyklus DSS wurde hier nach einer einwöchigen Erholungsphase verabreicht. Nach der auf diesen letzten Zyklus folgenden zweiwöchigen Auswaschphase wurden die Herzen geerntet. Die I/R erfolgte hier mit einem zeitlichen Abstand von nur einer Woche zur vorausgehenden DSS-Gabe und somit in einem subakuten Entzündungsstadium.

Nach dem dritten Behandlungsprotokoll wurde die kardiale I/R im beginnenden Remissionsstadium induziert (s. Abb. 1C). Die Versuchsgruppe erhielt zunächst vier DSS-Zyklen, wobei nach der letzten zweiwöchigen Auswaschphase die kardiale I/R gesetzt wurde. Nach einer Woche Erholung

erhielten die Tiere den fünften DSS-Zyklus. Nach der letzten zweiwöchigen Auswaschphase erfolgte die Ernte.

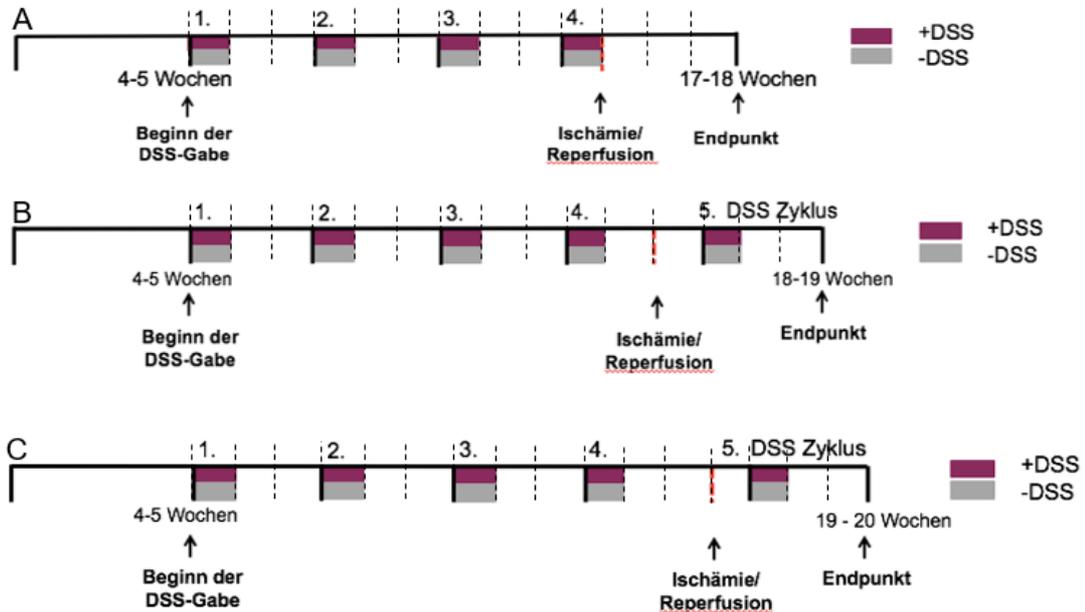


Abb. 1 Einteilung in drei experimentelle Kohorten. A, *Kardiale I/R im akuten Entzündungsstadium*: 4 Zyklen DSS. I/R am letzten Tag der 4. DSS-Gabe. B, *Kardiale I/R im subakuten Entzündungsstadium*. 4 Zyklen DSS. I/R nach 1 Woche Auswaschphase. Anschließend 5. DSS-Zyklus. C, *Kardiale I/R in der Remissionsphase*. 4 Zyklen DSS. I/R nach 2 Wochen Auswaschphase. Anschließend 5. DSS-Zyklus. *Lila* Mit DSS behandelte Gruppe. *Grau* Kontrollgruppe. *Schwarz gestrichelte Linie* Abstände von einer Woche. *Rot gestrichelte Linie* Zeitpunkt der kardialen Ischämie/Reperfusion.

2.1.3. Kardiale Ischämie/Reperfusion

2.1.3.1. Ischämie/Reperusions-Modell

Wir nutzten das Ischämie-Reperusions-Modell, um eine myokardiale Schädigung auszulösen und das darauffolgende *Remodelling* zu untersuchen. Die Tiere erhielten dabei eine kardiale I/R durch die temporäre Ligatur der *Arteria (A.) coronaria sinistra*. Die Ischämie wurde für insgesamt 60 Minuten aufrechterhalten. Daraufhin wurde die Ligatur gelöst und es folgte eine vom Versuchsprotokoll abhängige drei- bis vierwöchige Reperusionsphase bis zur Ernte der Herzen.

Die operativen Schritte der Ligaturanlage sowie Ischämieinduktion wurden dabei entkoppelt. Zunächst wurde während der ersten Operation die Ligatur

angelegt. Erst in einer weiteren Operation drei Tage später wurde die 60 Minuten anhaltende Ischämie gesetzt. Die Trennung beider operativer Schritte war erforderlich, da die Ligaturanlage bereits traumatisch wirkte und somit einen ersten inflammatorischen Reiz darstellte. Um ihren Einfluss auf das spätere post-I/R *Remodelling* möglichst gering zu halten, wurde die eigentliche Ischämie erst mit einem zeitlichen Abstand gesetzt. Die einzelnen Operationen wurden von Frau Dr. Simone Gorressen und Herrn Dominik Semmler durchgeführt.

2.1.3.2. Ligaturanlage

Zunächst erfolgte eine intraperitoneale Narkose mit Ketamin (100mg/kg Körpergewicht, KG) und Xylazin (10mg/kg KG). Daraufhin wurde das Tier intubiert und in Rückenlage auf dem auf 37° Grad Celsius erwärmten Operationstisch fixiert. Zur Aufrechterhaltung der Anästhesie wurden 2‰ Isofluran verwendet. Die Beatmung erfolgte mit um 40% Sauerstoff angereicherter Raumluft.

Nach der Hautdesinfektion erfolgte eine laterale Thorakotomie auf Höhe des 4. Interkostalraumes links. Unter Sicht des Operationsmikroskops stellte der Operateur das Herz dar. Die *A. coronaria sinistra* wurde mit einem 7-0 Prolene Faden (Ethicon) umschlungen, wobei die beiden Enden des Fadens durch einen Polyethylen Schlauch geführt wurden. Daraufhin wurde die Interkostalmuskulatur mit einem 4-0 Seidenfaden (Ethicon) vernäht. Die beiden Enden des Prolene Fadens wurden seitlich des Verschlussknotens nach außen geführt und miteinander verknotet. Der Operateur präparierte mithilfe einer Schere eine Tasche unter die Haut, worin der Faden platziert werden konnte. Danach wurde die Haut mit einem 5-0 Prolene (Ethicon) Faden verschlossen.

Zum Beenden der Narkose wurde das Isofluran ausgeschlichen. Es erfolgte einige Minuten eine Sauerstoff-Beatmung, bis die Reflexe der Maus wieder vorhanden waren. Das Tier wurde noch einige weitere Minuten warmgehalten.

Postoperativ wurden der Maus zur Schmerzstillung alle zwölf Stunden Buprenorphin (0,05-0,1 mg/kg KG) subkutan verabreicht.

2.1.3.3. Induktion der Ischämie

Drei Tage nach der Ligaturanlage wurde in einer zweiten Operation die Ischämie induziert.

Nach Narkoseeinleitung mit Isofluran erfolgten die Hautdesinfektion und die Anlage der Elektroden zur Ableitung des Elektrokardiogramms. Der Operateur eröffnete die Hautnaht. Die in der Hauttasche liegenden Enden des Prolenefadens, mit dem die *A. coronaria sinistra* umschlungen wurde, konnten mobilisiert und herausgezogen werden. Die Enden wurden dabei rechts und links zur Seite geführt und locker an zwei Magnethaltern befestigt. In einem weiteren Schritt wurde ein leichter Zug auf die Fäden ausgeübt, was bewirkte, dass der Polyethylen Schlauch das Koronargefäß abdrückte, womit die Ischämie induziert wurde. Unter EKG-Kontrolle wurde diese insgesamt 60 Minuten aufrechterhalten. Dabei wurde die suffiziente Narkose des Tieres stets kontrolliert.

Nach Ablauf der 60 Minuten wurden die Fäden abgeschnitten und die Ischämie somit beendet. Die anschließende Hautnaht wurde mit einem 5-0 Prolene Faden durchgeführt und die Isoflurannarkose ausgeschlichen.

Zur Schmerzstillung erhielt das Tier bereits 30 Minuten vor der Isofluraneinleitung Buprenorphin (0,05-0,1mg/kg s.c.). Über einen Zeitraum von 24 Stunden wurde diese Medikation fortgesetzt. Ebenfalls erfolgte über diesen Zeitraum eine engmaschige Kontrolle der Tiere, die während der ersten postoperativen Woche auf tägliche Kontrollen ausgeweitet wurde.

2.1.4. Gewichtsmessungen und klinische Kontrollen

Die Gewichtsmessungen und klinischen Kontrollen der Tiere wurden regelmäßig von Frau Dr. Yanina Ostendorf vorgenommen. Diese erfolgten während der DSS-Zyklen an vier Tagen pro Woche.

2.1.5. Entnahme und Aufbereitung der Proben

In Abhängigkeit vom Protokoll wurden die Tiere zu den angezeigten Zeitpunkten mittels einer CO₂-Inhalation getötet, sodass anschließend die Herzen entnommen werden konnten. Die Entnahme der Herzen führten Frau Dr. Yanina Ostendorf und Frau Annika Zimmermann durch.

Die darauffolgenden Schritte der Aufbereitung der Gewebeproben dienten ihrer Fixierung und Entwässerung. Die Fixierung ist notwendig, um die natürliche Zellstruktur der Gewebeproben möglichst zu erhalten und um Prozessen der Denaturierung vorzubeugen [83]. Die Herzen wurden dafür nach der Entnahme 24 Stunden in Formalin gelagert. Daraufhin wurden sie für mindestens eine Stunde in Phosphat-gepufferte Salzlösung (*phosphate buffered saline*, PBS) gelegt, um anschließend über Nacht im *Tissue Tek Vacuum Infiltration Processor* (Sakura Finetek USA, Torrance, USA) aufbereitet zu werden. Im Gerät durchlaufen die Proben automatisiert diverse Schritte der Entwässerung durch eine aufsteigende Ethanol-Reihe und Roticlear® (Roth, Karlsruhe), sowie schließlich der Infiltration mit flüssigem Paraffinwachs.

2.1.6. Histologie und histochemische Färbung

2.1.6.1. Paraffinschnitte der Infarkt Herzen

Die Proben wurden mithilfe einer Paraffinausgießstation (EG1150, Leica Microsystems, Wetzlar) in Paraffin eingebettet. Nachdem die Paraffinblöcke ausreichend gekühlt waren, konnten sie mittels Rotationsmikrotom (RM225, Leica Microsystems, Wetzlar) bei Raumtemperatur 5µm dünn geschnitten werden.

Das Protokoll sah vor, dass mit dem ersten Schnitt an der Herzspitze begonnen wurde und man in Richtung Herzbasis fortfuhr. Man fertigte jeweils konsekutiv 20 Schnitte an, die eine Ebene ergaben. Die darauffolgenden 250µm wurden verworfen. Nach diesem Schema wurde vorangeschritten, bis man zehn Ebenen erhalten hatte. Die letzte Schnittebene befand sich dabei

immer noch im Bereich des ventrikulären Myokards, distal der Klappenebene des Herzens (s. Abb. 2).

Die Schnitte wurden zunächst etwa fünf Minuten in ein 37° Celsius warmes Wasserbad gelegt, damit sich das Gewebe besser entfalten konnte. Daraufhin zog man sie auf Objektträger (SuperFrost®Plus, R. Langenbrick, Emmendingen) auf. Es wurden jeweils zwei Schnitte pro Objektträger aufgezogen, sodass man pro Ebene aus den 20 angefertigten Schnitten zehn Objektträger erhielt. Anschließend ließ man sie über Nacht lufttrocknen. Nach einem Tag hitzefixierte man sie für eine Stunde bei 60° Celsius.

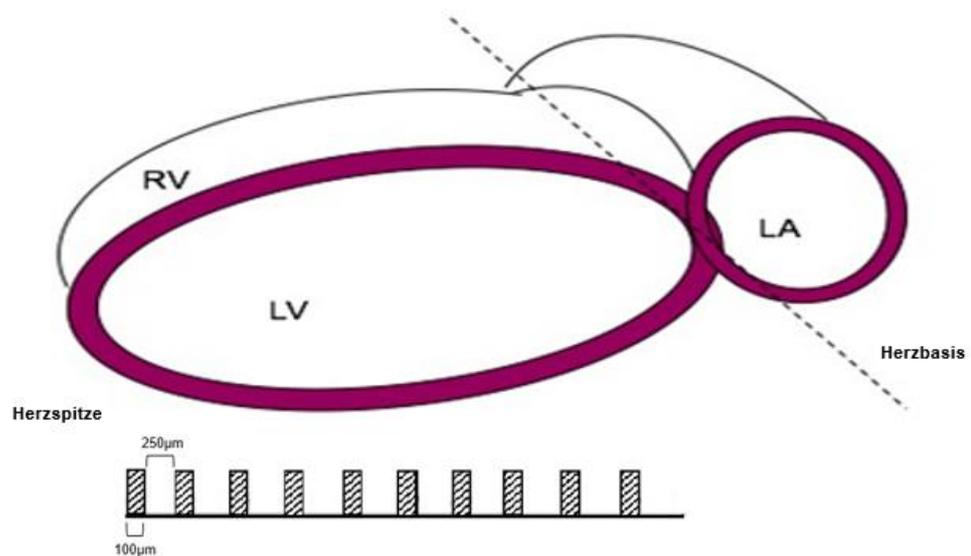


Abb. 2 Schematische Darstellung der Anfertigung der Schnittebenen. Anfertigung von zehn Ebenen (schraffierte Fläche) bestehend aus jeweils 20 Schnitten (à 5µm), beginnend an der Herzspitze und Fortführung in Richtung Herzbasis. Abstände zwischen den Ebenen betragen jeweils 250 µm. LA linkes Atrium, LV linker Ventrikel, RV rechter Ventrikel.

2.1.6.2. One-step Trichrom-Färbung nach Gomori

Tabelle 1 Verwendete Substanzen

	Substanz
Farblösung <i>Gomori</i>	Anilinblau (Sigma Aldrich, St. Louis, USA) <i>alternativ:</i> Methylenblau (Sigma Aldrich, St. Louis, USA)
	Chromotrope 2R (Sigma Aldrich, St. Louis, USA)
	Essigsäure (Roth, Karlsruhe, Deutschland)
	Phosphorwolframsäure (Roth, Karlsruhe, Deutschland)
Weitere Substanzen	Bouin's Solution (Sigma Aldrich, St. Louis, USA)
	Essigsäure (Roth, Karlsruhe, Deutschland)
	Ethanol >99,8% (VWR Chemicals, Radnor, USA)
	Ethanol 96% (VWR Chemicals, Radnor, USA)
	Ethanol 70% (VWR Chemicals, Radnor, USA)
	Weigerts Eisen Hämatoxylin A + B (Sigma Aldrich, St. Louis, USA)
	Roticlear (Roth, Karlsruhe, Deutschland)
Rotimount (Roth, Karlsruhe, Deutschland)	

Wir führten eine *One-step* Trichrom-Färbung nach Gomori durch, um die unterschiedlichen Gewebekomponenten verschiedenfarbig darzustellen. Dabei versteht man unter einer Trichrom-Färbung im Allgemeinen, dass einerseits das Bindegewebe im Gegensatz zum Zytoplasma der Zellen unterschiedlich angefärbt wird, sowie gleichzeitig die Zellkerne mittels Hämatoxylin angefärbt werden [84]. Die Muskelfasern und Erythrozyten wurden rot, das Kollagen blau und die Zellkerne bläulich-schwarz angefärbt.

Die verwendeten Substanzen sind in Tabelle 1 aufgeführt. Zunächst wurden die Gewebeschnitte entparaffiniert. Dazu wurden sie zwei Mal für je 15 Minuten in Roticlear® (Roth, Karlsruhe) getaucht. Darauf schloss sich der Schritt der Rehydrierung an, wozu eine absteigende Alkoholreihe verwendet wurde. Die Proben wurden zwei Mal für fünf Minuten in 98,5% Ethanol (VWR Chemicals, Radnor), und jeweils weitere fünf Minuten in 96% und 70% Ethanol (VWR Chemicals, Radnor) gelegt. Anschließend wurden sie erneut fünf Minuten zum Spülen in destilliertem Wasser belassen.

Zur Fixierung wurden die Schnitte daraufhin 15 Minuten in *Bouin's Solution* (Sigma Aldrich, St. Louis) bei 59° Celsius inkubiert. Die Lösung besteht aus einem Gemisch aus Pikrinsäure, Formaldehyd und Essigsäure, die bei Trichrom Färbungen zur Fixierung weicher Gewebe verwendet wird. [85]

Nach einer kurzen Spülung unter fließendem Wasser konnten die Schnitte weitere fünf Minuten in Weigerts Eisen Hämatoxylin (Sigma Aldrich, St. Louis) inkubiert werden. Bei Hämatoxylin handelt es sich um einen basischen Farbstoff, der Strukturen, die saure Bestandteile enthalten, wie beispielsweise die DNA im Zellkern, dunkelblau anfärbt [83]. Nachfolgend wurden die Schnitte unter fließendem Wasser gespült und daraufhin 25 Minuten in der Gomori-Farblösung bei Raumtemperatur inkubiert. Die Farblösung wurde dabei selbst angesetzt (s. Tabelle 2).

Tabelle 2 Ansetzen der Gomori-Farblösung

Substanz	Menge
Anilinblau	0,6 g
alternativ: Methylenblau	0,6 g
Chromotrope 2R	1,2 g
Destilliertes Wasser	200ml
Essigsäure	2 ml
Phosphorwolframsäure	1,6 g

Dabei führten wir die Färbung bei einem Färbedurchgang wahlweise mit Anilinblau durch. Bei Verwendung von Methylenblau zeigte sich jedoch eine bessere Färbeintensität, weshalb wir dieses in das endgültige Färbeprotokoll aufnahmen. Anschließend erfolgte eine Lufttrocknung der Präparate.

2.2. Histologische Auswertung

2.2.1. Infarktnarbenplanimetrie

Für die Infarktnarbenplanimetrie wurden Mosaikaufnahmen der Schnittebenen zwei bis zehn mit 40-facher Vergrößerung mit dem Mikroskop (Keyence BZ-9000, Keyence Deutschland GmbH, Neu-Isenburg, Deutschland) angefertigt. Da sich auf der ersten Schnittebene (linksventrikuläres Myokard der Herzspitze) nur sehr wenig Gewebe befand, wurden die Schnitte erst ab der zweiten Ebene in die Auswertung einbezogen. Die nachfolgende Infarktplanimetrie wurde mithilfe des Programms *DiskusView* (DISKUS mikroskopische Diskussion, Carl. H. Hilgers technisches Büro, Königswinter, Deutschland) durchgeführt. Manuell wurden

die Flächen des linksventrikulären Myokards, des linksventrikulären Lumens, des rechtsventrikulären Myokards und Lumens sowie die linksventrikuläre und – falls vorhanden die Anteile der rechtsventrikulären - Infarkt Narbe mittels *DiskusView* eingezeichnet (s. Abb. 3). Nachfolgend wurden die Daten in Excel zusammengetragen und der relative Anteil der linksventrikulären Narbe pro Ebene sowie pro Herz berechnet. Kollagenanteile im Außenbereich des linksventrikulären Myokards, die am ehesten durch perioperative Verletzungen bedingte Artefakte darstellten, wurden nicht in die Berechnung miteinbezogen.

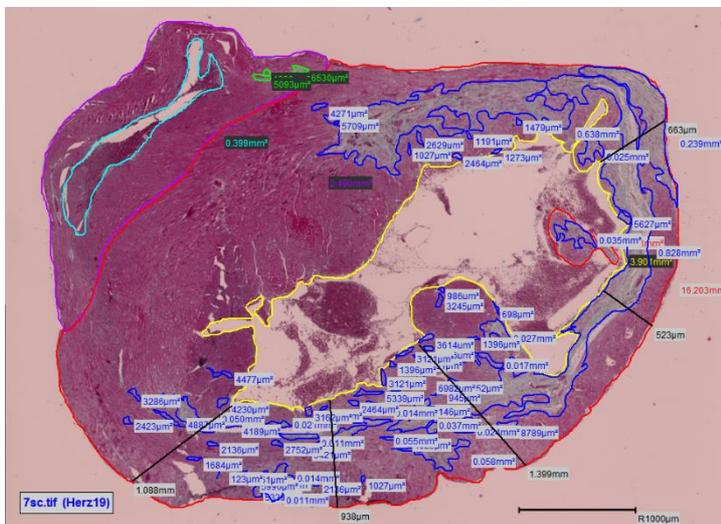


Abb. 3 Manuelle Ausmessung der links- und rechtsventrikulären myokardialen und luminalen Areale zur Infarkt Narbenplanimetrie. Übersichtsaufnahme in 40-facher Vergrößerung. Der Maßstab entspricht 1000µm. *Rot* linksventrikuläre Fläche. *Gelb* linksventrikuläres Lumen. *Lila* rechtsventrikuläre Fläche. *Cyan* rechtsventrikuläres Lumen. *Dunkelblau* linksventrikuläre Infarkt Narbe. *Grün* rechtsventrikuläre Infarkt Narbe. *Schwarz* Wanddicken an fünf linksventrikulären Bereichen. 40x Vergrößerung.

2.2.2. Wanddickenbestimmung

Die Wanddickenbestimmung erfolgte ebenfalls unter Verwendung des Programms *DiskusView*. Der linke Ventrikel wurde visuell in fünf Bereiche eingeteilt, die schematisch in Abb. 4 dargestellt sind. Die Wanddicken in diesen Bereichen wurden manuell ausgemessen und in einer Excel-Tabelle zusammengetragen. Es wurden jeweils die Mittelwerte der einzelnen

Wandbereiche der mit DSS-behandelten Tiere sowie der Kontrolltiere berechnet und miteinander verglichen.

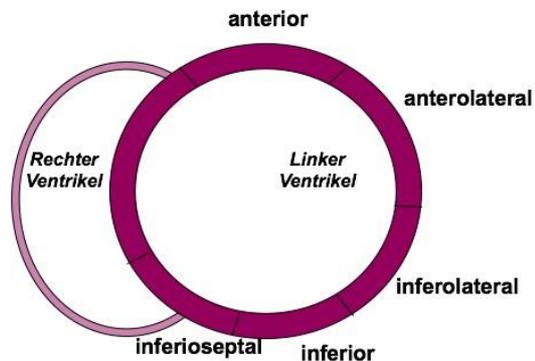


Abb. 4 Bestimmung der Wanddicke des linken Ventrikels. Das linksventrikuläre Myokard wurde in fünf anatomischen Bereichen ausgemessen.

2.2.3. Auswertung des Kollagengehaltes

Zur Auswertung des mittleren Kollagengehaltes erfolgten in vierzigfacher Vergrößerung Aufnahmen (Zeiss Imager 2 Mikroskop, AxioCam HR3 Kamera, Zeiss, Oberkochen, Deutschland) mit dem Programm *AxioVision SE64* (Release 4.9.1.0, Carl Zeiss Microscopy GmbH, Oberkochen, Deutschland). Dabei wurden in den Schnittebenen zwei bis fünf jeweils 15 Aufnahmen (60 Aufnahme pro Herz), die gleichmäßig im Bereich des linken Ventrikels verteilt wurden, gemacht. Es wurden gleichermaßen Bereiche der blauen Infarkt Narbe als auch nicht-infarziertes Myokard erfasst. Der Bereich des interventrikulären Septums wurde ausgespart.

Der mittlere Kollagengehalt wurde mithilfe des Programms *ImageJ* (NIH, Bethesda, USA) quantifiziert. Dabei erfolgte eine halbautomatische Auswertung mittels vorheriger Programmierung eines Makros zur Schwellenbereichsanalyse. Der Schwellenwert (*threshold*) wurde vorher durch Mittelung und Testung an mehreren Aufnahmen verschiedener Ebenen und Herzen angepasst.

Der eingestellte Schwellenbereich für Blau (entsprechend dem Kollagen) wurde zunächst angewandt und davon wurde nachfolgend die Fläche mit dem eingestellten Schwellenbereich für Weiß (Artefakten entsprechend) subtrahiert. Anschließend wurde der prozentuale Anteil am Gesamtausschnitt

berechnet (s. Abb. 5). Aus allen 60 Werten pro Herz wurde ein Mittelwert berechnet. Innerhalb der einzelnen Versuchsprotokolle wurden die Mittelwerte der mit DSS-behandelten Tiere mit denen der Kontrolltiere verglichen.

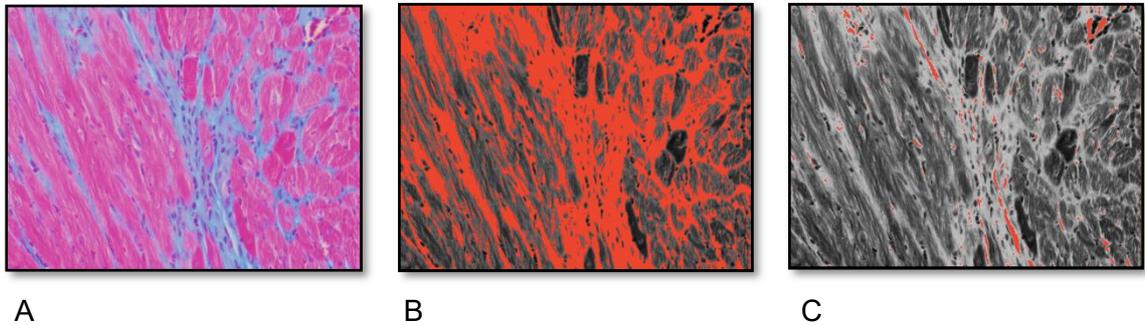


Abb. 5 Bestimmung des mittleren Kollagengehaltes des linken Ventrikels mittels halbautomatisierter Schwellenbereichsanalyse. Exemplarisch 400-fache Aufnahme in der kardialen Gomori-Trichrome Färbung (A) mit eingestellten Schwellenbereichen für Blau (entsprechend dem Kollagen, B) und Weiß (Artefakten entsprechend, C)

2.3. *Ausschlusskriterien*

Bei den Ausschlusskriterien unterschieden wir sowohl funktionelle als auch histologische Kriterien. Die echokardiografischen Untersuchungen (Daten nicht gezeigt) wurden von Frau Dr. Simone Gorressen durchgeführt.

Zu den funktionellen Kriterien gehörten dabei zum einen, dass die Tiere nach Ischämieinduktion elektrokardiografisch keine ST-Hebung zeigten. Des Weiteren wurden Tiere ausgeschlossen, die Auffälligkeiten in der postoperativen Wundheilung zeigten.

Funktionelle Ausschlusskriterien waren zum einen der fehlende echokardiografische Nachweis von linksventrikulären Hypokinesien 24 Stunden nach I/R. Zudem wurden diejenigen Tiere ausgeschlossen, bei denen die Differenz der gemessenen Ejektionsfraktion zwischen Basal-Daten und den Daten 24h nach I/R unter 15% betrug.

Histologische Ausschlusskriterien waren ein in Relation zu den anderen Schnitten entweder außerproportional großes Infarktareal oder eine fehlende linksventrikuläre Infarzierung (linksventrikulärer Infarktanteil <1%). Des Weiteren wurde auf eine Vergleichbarkeit der Schnittebenen des Herzens geachtet. Bei schrägen Anschnitten sowie bei Schnitten, die nicht

vergleichbar waren mit den Schnittebenen anderer Herzen, wurden die Herzen exkludiert.

2.4. Statistische Auswertung

Zur statistischen Auswertung wurde die Software Graph Pad Prism Version 7.0 (GraphPad Software, Inc., La Jolla, CA, USA) verwendet.

Die Daten wurden als Mittelwert \pm Standardabweichung des Mittelwerts (*standard deviation*, SD) dargestellt. Zur Ermittlung von Ausreißern wurde der Grubb's Test angewandt.

Die Signifikanztestung erfolgte bei den Mortalitätskurven ein *log-rank* Test. Zur Auswertung der linksventrikulären Infarktanteile sowie des mittleren Kollagengehaltes wurde ein ungepaarter t-Test verwendet. Die Auswertung der Gewichtsverläufe, der Infarkte pro Ebene sowie der Wanddicken erfolgte mittels *two-way* ANOVA und Sidak-Test. Dabei wurde ein Signifikanzniveau von $p < 0,05$ als statistisch signifikant erachtet.

3. Ergebnisse

3.1. Mortalität

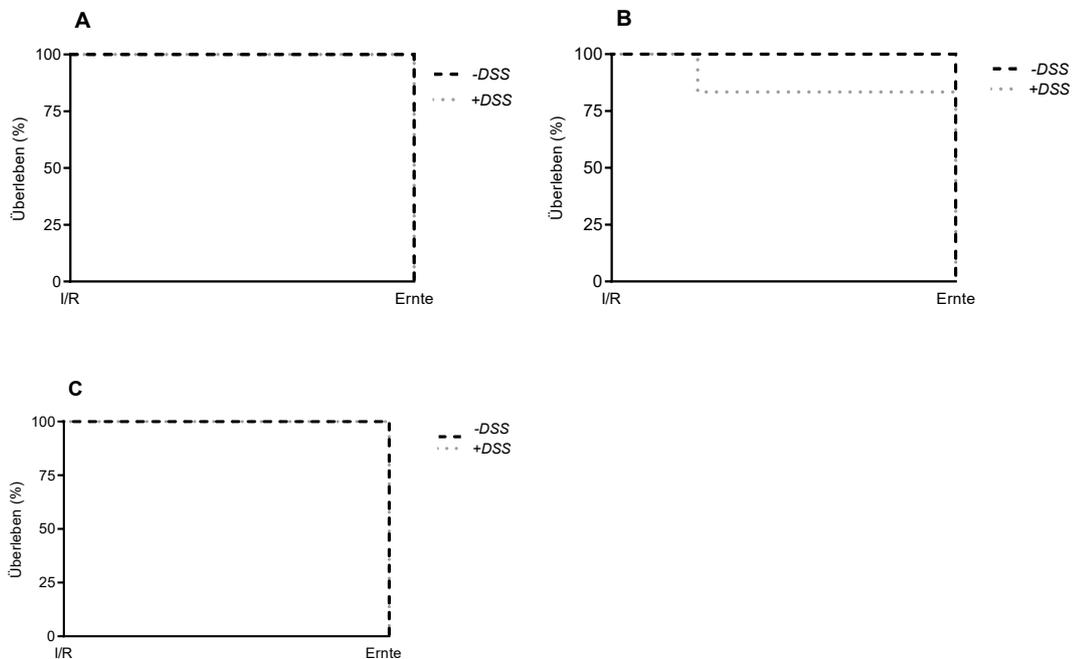


Abb. 6 Vergleichbare Gesamtmortalität bei den mit DSS-behandelten Tieren (+DSS) und der Kontrollgruppe (-DSS). Dargestellt ist das relative Überleben zur Gesamtzahl an Tieren ab dem Tag der kardialen I/R bis zum Zeitpunkt der Ernte. Verglichen werden die mit DSS-behandelten Tiere (+DSS) mit den Kontrolltieren (-DSS) bei Induktion der kardialen I/R während der akuten Colitis (A), im subakuten Entzündungsstadium (B) sowie während der Remission (C). Die Auswertung erfolgte mittels *log-rank* Test. A: n= 16,12; B: n= 11,6; C: n= 6,5.

In Abb. 6 ist die Mortalität der Tiere ab dem Zeitpunkt der kardialen I/R in den einzelnen Versuchsprotokollen dargestellt.

Betrachtet man die Mortalitätskurven der Kontrollgruppen, so zeigt sich eine vergleichbar geringe Mortalität der Tiere in allen Protokollen (A-C). Nach Induktion der kardialen I/R ergab sich für die Gruppen der mit DSS-behandelten Tiere lediglich im zweiten Versuchsprotokoll eine etwas erhöhte Mortalität. Hier verstarb ein Tier nach induzierter kardialer I/R.

3.2. Gewichtsverlauf

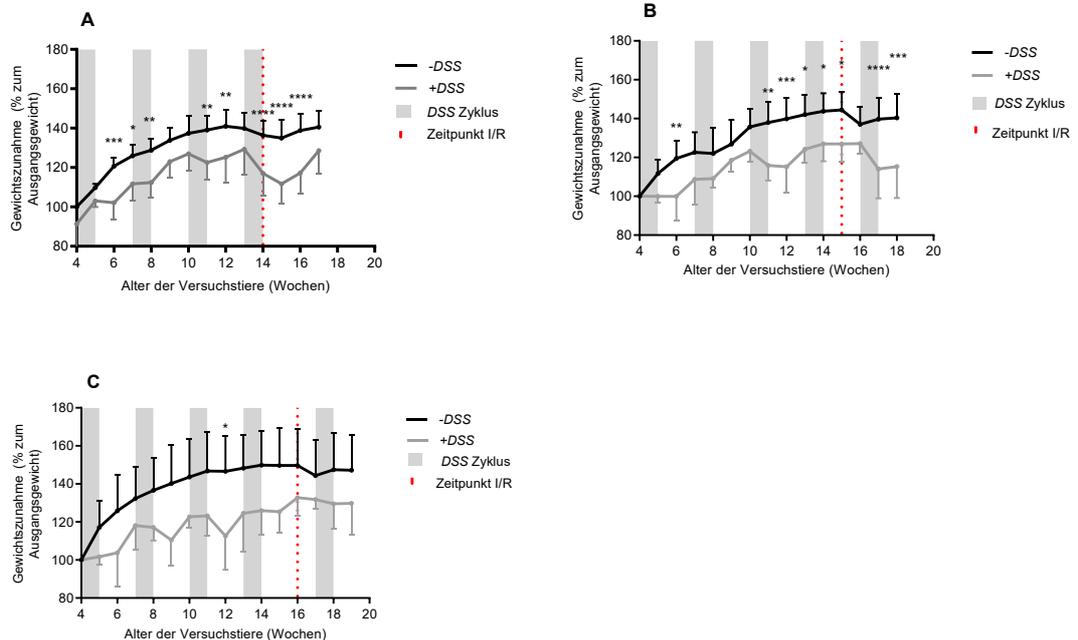


Abb. 7. Signifikant geringere kumulative Gewichtszunahme in den mit DSS-behandelten Gruppen (+DSS) im Vergleich zur Kontrollgruppe (-DSS). Darstellung der Gewichtsverläufe der Tiere im Zeitverlauf während der einzelnen DSS-Zyklen sowie nach erfolgter kardialer I/R. Gezeigt ist das Gewicht der Tiere relativ zum Ausgangsgewicht im Alter von vier Wochen für die einzelnen Protokolle mit Induktion der kardialen I/R in der Phase der akuten Colitis (A), der subakuten Entzündungsphase (B) sowie der Remission (C). Die grau markierten Bereiche entsprechen den einzelnen DSS-Behandlungszyklen; die rot gepunktete Linie entspricht dem Zeitpunkt der I/R. Die Auswertung erfolgte mittels *two-way* ANOVA sowie Sidak-Test, Mittelwert \pm SD; A: n= 11,9; B: n= 9,5; C: n= 6,4, * p <0,05, ** p <0,01, *** p <0,001, **** p <0,0001.

Dargestellt in Abb. 7 ist die prozentuale Gewichtszunahme bzw. –abnahme der Tiere über die Zeit in Wochen für die drei einzelnen Versuchsprotokolle in Relation zum mittleren Ausgangsgewicht im Alter von vier Wochen. Zum einen diente die Aufzeichnung des Gewichtsverlaufes der Abschätzung der klinischen Ausprägung der Colitis nach den einzelnen DSS-Gaben. Zum anderen sollte der gesamtklinische Einfluss der kardialen I/R objektiviert werden.

Es zeigten sich in den mit DSS-behandelten Gruppen in allen Versuchsprotokollen Gewichtsabnahmen nach den einzelnen DSS-Gaben mit einer erneuten Zunahme während der Auswaschphasen, sodass die absolute Gewichtszunahme bis zum Zeitpunkt der kardialen I/R geringer war als in den Kontrollgruppen.

Konkret zeigten die mit DSS-behandelten Tiere aus dem ersten Versuchsprotokoll (I/R im akuten Entzündungsstadium, A) bis zur kardialen I/R im Alter von 14 Wochen eine signifikant geringere Gewichtszunahme um kumulativ 17,1% im Vergleich zu durchschnittlich 36,3% in der Kontrollgruppe ($p < 0,0001$).

Bei den nach dem zweiten Protokoll behandelten Mäusen (B, I/R im subakuten Entzündungsstadium) wurde in der mit DSS-behandelten Gruppe eine kumulative Gewichtszunahme von 26,9% bis zum Zeitpunkt der I/R (nach 15 Wochen) dokumentiert, in der Kontrollgruppe betrug diese 44,5% ($p = 0,0261$).

Bei Induktion der kardialen I/R in der Phase der Remission (C) wurde eine Gewichtszunahme um durchschnittlich 32,8% in der mit DSS-behandelten Gruppe im Gegensatz zu 49,7% in der Kontrollgruppe bis zum Zeitpunkt der I/R im Alter von 16 Wochen beobachtet. Der Unterschied zwischen den beiden Gruppen war zu diesem Zeitpunkt nicht signifikant ($p = 0,8351$). Allerdings hatte sich in diesem Versuchsprotokoll während der Auswaschphase nach dem dritten DSS-Zyklus bereits eine signifikante unterschiedliche Gewichtszunahme zwischen der mit DSS-behandelten Gruppe (12,6%) und Kontrollgruppe (46,6%, $p = 0,0213$) gezeigt.

Nach dem Zeitpunkt der kardialen I/R zeigten sich bei den Kontrolltieren Gewichtsabnahmen von durchschnittlich 1,4% (A), 7,45% (B) und 5,31% (C). Die Gewichtsabnahmen bzw. -zunahmen zeigten sich dabei nicht statistisch signifikant zum Ausgangswert zum Zeitpunkt der I/R (p -Werte zwischen 0,3846 - $> 0,9999$). Die Gewichtsabnahme lässt sich zum einen auf die Operation zur Ligaturanlage und zum anderen auf die I/R zurückführen.

Auffällig ist, dass bei den mit DSS-behandelten Tieren, bei welchen die Induktion der I/R im Stadium der Remission (C) sowie im subakuten Entzündungsstadium (B) erfolgte, geringere Raten einer Gewichtsabnahme im Vergleich zu den Kontrolltieren dokumentiert wurden. Erfolgte die kardiale I/R nach dem dritten Protokoll in der Phase der Remission (C), so zeigte sich bei den mit DSS-behandelten Tieren eine Gewichtsabnahme von 1% (nicht signifikant, $p > 0,9999$). Bei Induktion der kardialen I/R im subakuten

Entzündungsstadium (B) zeigte sich das Gewicht nahezu konstant (+0,16%, $p>0,9999$).

Im ersten Versuchsprotokoll (I/R in der Phase der akuten Colitis, A) zeigte sich eine im Vergleich zu der Kontrollgruppe signifikant stärkere Gewichtsabnahme von 5,36% ($p<0,0001$) bei den mit DSS-behandelten Tieren. Die einzelnen Raten des Gewichtsverlaufes zeigten dabei keinen signifikanten Unterschied zum Ausgangswert vor I/R, allerdings bereits einen ersten Trend zu einer geringeren Gewichtsabnahme nach I/R bei den mit DSS-behandelten Tieren, wenn die I/R in der Phase der Remission oder im subakuten Entzündungsstadium erfolgte. Beachtet werden müsste zusätzlich ein mögliches *Confounding* durch die vorausgegangene OP zur Ligaturanlage.

Diese Beobachtung kann zweierlei interpretiert werden. Zum einen ließe sich daraus ein erster protektiver Effekt der Remissionsphase und des subakuten Entzündungsstadiums auf den klinischen Verlauf nach kardialer I/R Antwort herleiten. Zum anderen wäre aber auch ein *Confounding* durch die entstehende Herzinsuffizienz mit möglicher kardialer Dekompensation und vermehrter Flüssigkeitseinlagerung, die letztlich zur Gewichtszunahme führt, denkbar.

3.3. Linksventrikulärer Infarkt

3.3.1. Linksventrikuläre Morphologie und Infarktnarbenausdehnung

Durch Anwendung der Trichrom-Färbung nach Gomori wurden die einzelnen Gewebekomponenten verschiedenfarbig dargestellt. Dadurch zeigten sich optische Auffälligkeiten, die Rückschlüsse auf das unterschiedliche *Remodelling* zuließen.

In Abb. 8 sind exemplarisch Präparate von einem Herzen eines mit DSS-behandelten Tieres aus der zweiten Kohorte (I/R in der Phase der subakuten Entzündung) sowie einem Herzen aus der Kontrollgruppe gegenübergestellt. Zum einen fällt auf, dass das linksventrikuläre Myokard bei ersterem kräftiger ausgeprägt ist. Eine linksventrikuläre Dilatation mit konsekutiver Ausdünnung

der Ventrikelwand lässt sich nicht beobachten. Insbesondere im Vergleich zum Herzen aus der Kontrollgruppe wird diese Beobachtung untermauert. Der Ventrikel des Herzens aus der Kontrollgruppe zeigt sich ausgedünnt und das Ventrikellumen konsekutiv dilatiert.

Darüber hinaus ließen sich auch Auffälligkeiten in der Infarktarnenausdehnung feststellen. Bei den mit DSS-behandelten Tieren blieben die Infarkte intramural begrenzt, wohingegen sich in der Kontrollgruppe häufiger eine transmurale Ausdehnung zeigte.

Die beobachtete Transmuralität der Infarkte, die Ausdünnung des linksventrikulären Myokards und die schließlich daraus resultierende Ventrikeldilatation sind somit bereits optisch erste Hinweise eines nachteiligen *Remodelling* in der Kontrollgruppe.

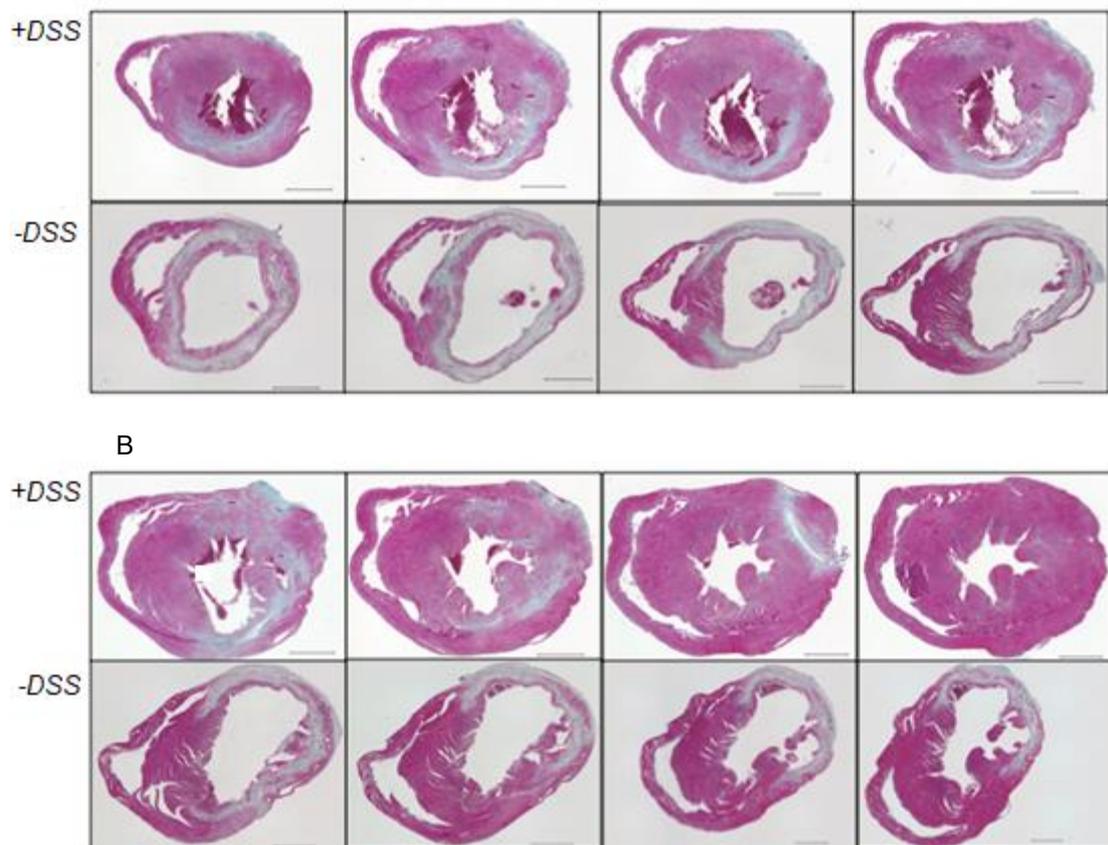


Abb. 8 Unterschiedliche Infarktarnenmorphologie bei den mit DSS-behandelten Tieren (+DSS) und den Kontrolltieren (-DSS). Die Abbildung zeigt exemplarisch Mosaikaufnahmen in 40facher Vergrößerung eines mit DSS-behandelten Herzens aus der zweiten Kohorte (I/R im subakuten Entzündungsstadium) und eines Herzens der Kontrollgruppe der Schnittebenen 3-5 (A) und 7-10 (B) in der kardialen Gomori-Trichrome-Färbung. Der Maßstab entspricht 1000µm.

3.3.2. Infarkt Narbenplanimetrie

Die Größe der linksventrikulären Narbe stellt ein sowohl klinisch als auch prognostisch wichtiges *Remodelling* Kriterium dar. Das linksventrikuläre Narbenareal wurde planimetrisch über neun histologische Ebenen pro Herz erfasst und als prozentualer linksventrikulärer Infarkt Narbenanteil innerhalb der einzelnen Protokolle zwischen den mit DSS-behandelten Tieren und den Kontrolltieren verglichen (s. Abb. 9).

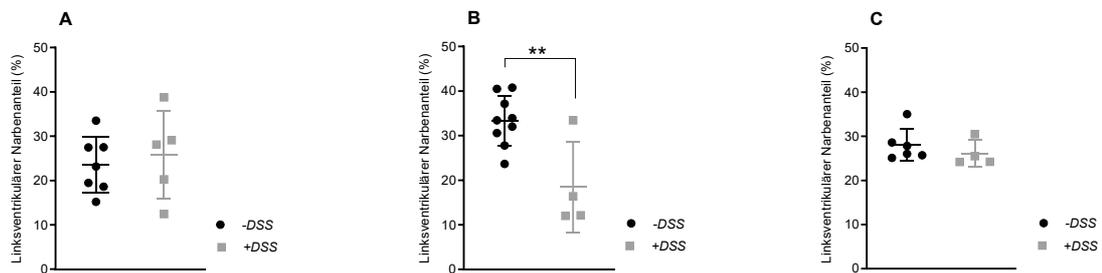


Abb. 9 Geringere linksventrikuläre Infarkt Narbenanteile bei den mit DSS-behandelten Tieren (+DSS), wenn die kardiale I/R in der Phase der Remission (C) oder im subakuten Entzündungsstadium (B) erfolgte. Darstellung der prozentualen linksventrikulären Infarkt Narbengröße in der mit DSS-behandelten Gruppe (+DSS) im Vergleich zur Kontrollgruppe (-DSS) in den jeweiligen Versuchsprotokollen mit Induktion der kardialen I/R in der Phase der akuten Colitis (A), im subakuten Entzündungsstadium (B) sowie in der Phase der Remission (C). Die Auswertung erfolgte mittels ungepaartem t-Test, Mittelwert \pm SD. A: n= 7, 5; B: n=9,4, C: n=6,4 ** $p<0,01$.

Im ersten Versuchsprotokoll (A) (kardiale I/R in der Phase der akuten Colitis) zeigte sich der Trend zu einem diskret höheren Infarkt Narbenanteil in der mit DSS-behandelten Gruppe. Der mittlere linksventrikuläre Narbenanteil betrug 25,7% (SD=9,92, n=5) und in der Kontrollgruppe 23,6% (SD=6,34, n=7). Der Unterschied war nicht signifikant ($p=0,65$).

Im zweiten Protokoll (B) war der Zeitpunkt der kardialen I/R Induktion nach einer einwöchigen Auswaschphase nach dem vierten DSS-Zyklus und somit im Stadium der subakuten Entzündungsphase. In der mit DSS-behandelten Gruppe zeigte sich ein signifikant geringerer linksventrikulärer Narbenanteil ($p=0,0055$) als in der Kontrollgruppe. Konkret betrug dieser bei den mit DSS-behandelten Tieren 18,5% (SD=10,17, n=4). Dahingegen konnte in der Kontrollgruppe ein größerer mittlerer Infarkt Narbenanteil von 33,31% (SD=5,648, n=9) planimetrisch erfasst werden. Auffällig ist allerdings in der

mit DSS-behandelten Gruppe die Streuung der Ergebnisse innerhalb der Gruppe mit einem minimalen Infarktanteil von lediglich 12,01% sowie einem maximalen Infarktanteil von 33,4%. Dieser maximale Wert wurde bei einem Herzen aus der Gruppe der nachgezogenen Tiere dokumentiert.

Im dritten Versuchsprotokoll (A) erfolgte die Induktion der kardialen I/R nach einer zweiwöchigen Auswaschphase, also in der Phase der Remission. Der linksventrikuläre Infarktanteile betrug im Mittel 26,1% in der mit DSS-behandelten Gruppe (SD=2,997, n=4). In der Kontrollgruppe dahingegen war der linksventrikuläre Infarktanteile mit durchschnittlich 28,72% (SD=3,98, n=6) größer. Die Differenz betrug somit 2,617 %, wobei sich kein statistisch signifikanter Unterschied ergab ($p=0,2980$).

Die Induktion der Ischämie erfolgte durch eine vorübergehende proximale Ligatur der linken Koronararterie (s. Material und Methoden). Zur Charakterisierung möglicher Unterschiede in der Lokalisation und Ausdehnung der Infarktanteile ist in Abb. 10 der Infarktanteile pro histologischer Schnittebene dargestellt.

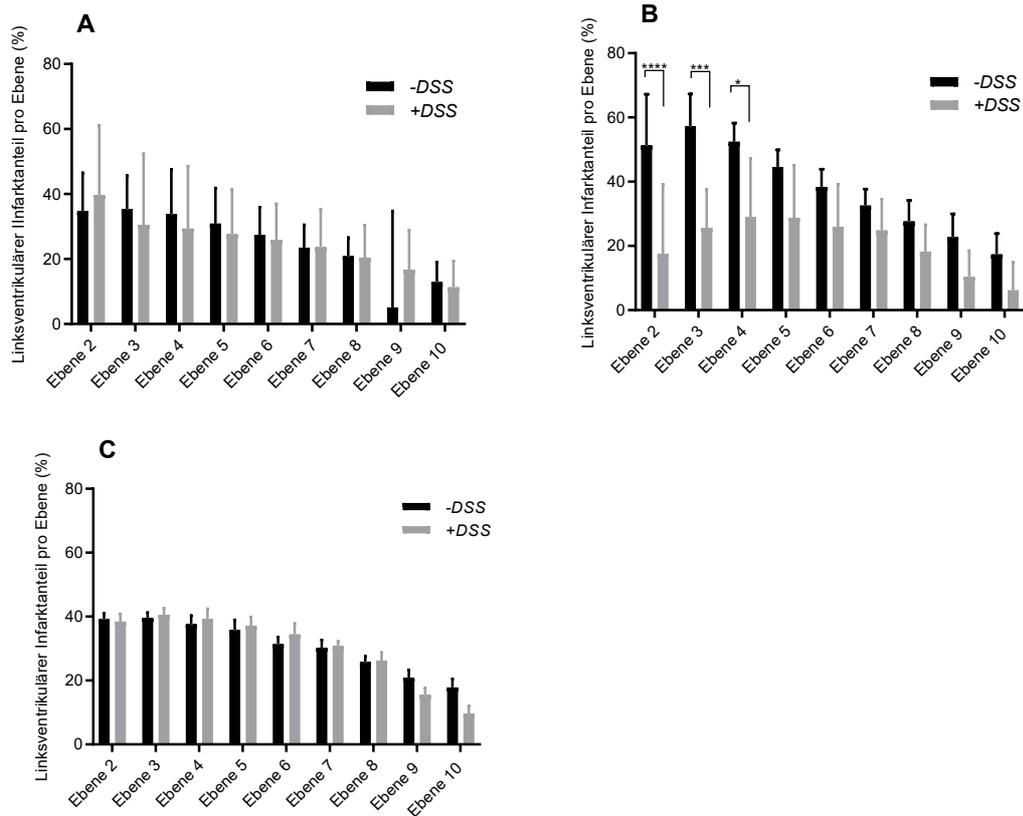


Abb. 10 Signifikant geringere linksventrikuläre Infarktanteile in den Schnittebenen 2-5 bei den mit DSS-behandelten Tieren (+DSS), wenn die kardiale I/R in der Phase des subakuten Entzündungsstadiums (B) erfolgte. Darstellung des linksventrikulären Infarktanteils pro histologischer Schnittebene (in Prozent zur linksventrikulären Gesamtfläche pro Ebene) für die mit DSS-behandelten Tiere (+DSS) und die Kontrolltiere (-DSS) in den jeweiligen Versuchsprotokollen mit Induktion der kardialen I/R in der Phase der akuten intestinalen Entzündung (A), im subakuten Entzündungsstadiums (B) sowie in der Phase der Remission (C). Die Auswertung erfolgte mittels *two-way* ANOVA sowie Sidak-Test, Mittelwert \pm SD. A: n= 7,5; B: n=9,4; C: n=6,4, * p <0,05, *** p <0,001, **** p <0,0001.

Tendenziell zeigen sich höhere Infarktnarbenanteile in den herzsitznahen Ebenen (Ebene 2-5) distal der Ligatur der Arterie, wohingegen sich in den proximalen Schnittebenen geringere Narbenanteile zeigen (s. Abb. 10).

Betrachtet man die Narben pro Ebene nach Induktion der kardialen I/R in der Phase der Remission (C), so zeigen sich ähnliche Infarktnarbenanteile in den Schnittebenen 2-8 in beiden Gruppen. Diese betragen durchschnittlich 25,77% -39,18% bei den Kontrolltieren (-DSS) und 26,23% - 40,58% bei den mit DSS-behandelten Tieren (+DSS). Der Trend zu einem allgemein geringeren linksventrikulären Narbenanteil nach kardialer I/R in der Phase der Remission bei den mit DSS-behandelten Tieren (s. Abb. 9), lässt sich somit vor allem auf die geringeren Narbengröße der herzbasisnahen Schnittebenen 9-10

zurückführen. Hier zeigte sich in der mit DSS-behandelten Gruppe eine durchschnittliche Narbengröße von 15,5% (Ebene 9) und 9,7% (Ebene 10).

Das umgekehrte Bild dazu zeigte sich bei Induktion der kardialen I/R in der Akutphase der Colitis (A). Hier hatte sich bezüglich der gesamten linksventrikulären Narbengröße der Trend zu höheren Anteilen bei den mit DSS-behandelten Tieren gezeigt (s. Abb. 9). Betrachtet man die einzelnen Ebenen, so wird deutlich, dass der Trend vor allem durch Differenzen in den herzbasisnahen Ebenen (Ebene 9) beeinflusst wird, da sich hier höhere Narbenanteile in der mit DSS-behandelten Gruppe (+DSS) zeigen (Ebene 9: 16,68%). Die Unterschiede in den einzelnen Ebenen waren nicht statistisch signifikant (adjustierte p -Werte $> 0,9999$)

Erfolgte die kardiale I/R in der Phase des subakuten Entzündungsstadiums (B), so konnten in der mit DSS-behandelten Gruppe (+DSS) in allen Schnittebenen geringere Infarktnarbenanteile (durchschnittlich zwischen 6,15% - 29,0%) im Vergleich zu der Kontrollgruppe (-DSS) (Infarktnarbenanteile pro Ebene zwischen 17,37% - 57,22%) dokumentiert werden. In den Ebenen 2 – 4 zeigte sich dabei die Differenz signifikant (Ebene 2 $p < 0,0001$, Ebene 3: $p < 0,001$, Ebene 4: $p < 0,05$). Die Ergebnisse decken sich somit auch mit dem Resultat des gesamten linksventrikulären Infarktnarbenanteils (s. Abb. 9), der sich in dieser Gruppe bei den mit DSS-behandelten Tieren als signifikant niedriger darstellte.

Zusammenfassend zeigt sich also der Trend zu kleineren Narbengrößen bei den mit DSS-behandelten Tieren im Vergleich zu den Kontrolltieren, wenn die kardiale I/R in den Phasen der Remission sowie des subakuten Entzündungsstadiums induziert wird. Erfolgt die kardiale I/R dahingegen während der akuten Entzündung, so zeigt sich der gegensätzliche Effekt mit dem Trend zu einem höheren Infarktnarbenanteil in der Gruppe der mit DSS-behandelten Tiere. Betrachtet man die Narben in den einzelnen histologischen Schnittebenen, so wird deutlich, dass die zuvor genannten Trends und Unterschiede bezogen auf den gesamten linksventrikulären Infarktnarbenanteil auch durch unterschiedliche Narbengrößen in den herzbasisnahen Schnittebenen (Ebene 8 - 10) bedingt werden. In der zweiten Versuchsgruppe (I/R in der Phase der subakuten Entzündung) bei der sich in der Gruppe, der mit DSS-behandelten Tiere ein signifikant geringerer

Infarkt-narbenanteil zeigte, ist zudem auffällig, dass sich vor allem in den herzsitzennahen Ebenen signifikant geringere Narbengrößen dokumentieren ließen.

3.3.3. Mittlerer Kollagengehalt

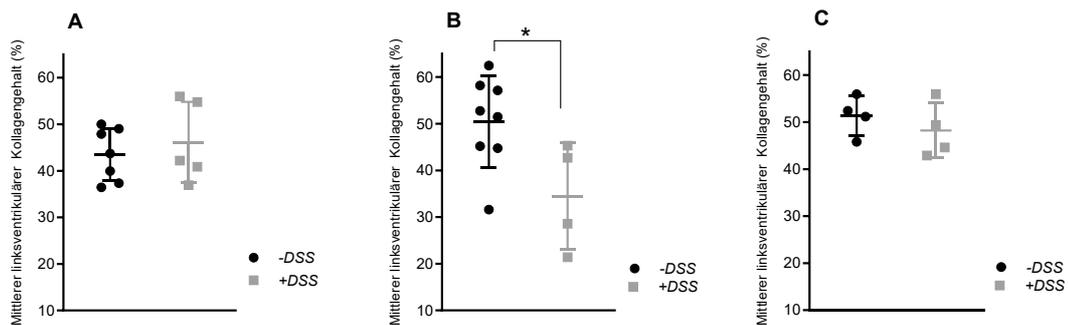


Abb. 11 Signifikant geringerer mittlerer Kollagengehalt in der mit DSS-behandelten Gruppe (+DSS), wenn die kardiale I/R in der subakuten Entzündungsphase (B) erfolgte. Darstellung des mittleren Kollagengehaltes (in Prozent zur gesamten linksventrikulären Fläche) für die mit DSS-behandelte Gruppe (+DSS) und die Kontrollgruppe (-DSS) bei Induktion der kardialen I/R in der Phase der akuten Entzündung (A), des subakuten Entzündungsstadiums (B) sowie der Remission (C). Die Auswertung erfolgte mittels ungepaartem t-Test, Mittelwert \pm SD. A: n= 7, 5; B: n=8,4; C: n=4,4; * $p < 0,05$.

Neben der planimetrischen Messung der linksventrikulären Narbe erfolgte auch die Bestimmung des mittleren Kollagengehaltes im gesamten linksventrikulären Myokard. Zur Quantifizierung des mittleren Kollagengehaltes wurde mittels *Image J* eine Schwellenwertanalyse durchgeführt. Das Ziel war eine Abschätzung des Infarkt-fernen *Remodelling*. Die Ergebnisse zeigten ähnliche Trends wie bereits die planimetrischen Daten zur Bestimmung des linksventrikulären Infarkt-narbenanteils. Vergleicht man den mittleren Kollagengehalt der Gruppen bei Induktion der kardialen I/R in der Phase der akuten Entzündung (A), so zeigen sich ähnliche Anteile mit einem Trend zu gering erhöhten Werten bei den mit DSS-behandelten Tieren. Hier zeigte sich konkret ein Kollagengehalt von durchschnittlich 46,15% (SD=8,66%, n=7). Dieser betrug in der Kontrollgruppe (-DSS) 43,49% (SD=5.66%, n=5). Der Unterschied war nicht signifikant ($p=0,337$).

Wurde die kardiale I/R in der Phase des subakuten Entzündungsstadiums induziert (B), ergab sich ein signifikant geringerer mittlerer Kollagengehalt in

der mit DSS-behandelten Gruppe ($p=0,0301$). Bei den mit DSS-behandelten Tieren ließ sich ein mittlerer Kollagengehalt von 34,5% (SD=11,42%, $n=4$) dokumentieren. In der Kontrollgruppe war dieser dahingegen mit 50,44% (SD=9,8%, $n=8$) höher.

Bei den nach dem dritten Protokoll behandelten Mäusen (kardiale I/R in der Phase der Remission, C) zeigt sich der Trend zu einem geringeren mittleren Kollagengehalt in der mit DSS-behandelten Gruppe. Der mittlere Kollagengehalt betrug hier 48,2% (SD=5,833%, $n=4$) im Vergleich zu 51,32% in der Kontrollgruppe (SD=4,199%, $n=4$). Der Unterschied zwischen beiden Gruppen war nicht signifikant ($p=0,4185$).

Die Resultate der Analyse des mittleren Kollagengehaltes, welche sich auch auf die infarktarnabfernen linksventrikulären Areale (ausgenommen des interventrikulären Septums) bezogen, zeigen somit den Trend zu ähnlichen Ergebnissen, wie bereits die Infarktarnabplanimetrie ergab. Daraus ließe sich folgern, dass der beobachtete protektive Effekt des chronischen Entzündungsstadiums sowie subakuten Entzündungsstadiums auf das kardiale post-I/R *Remodelling* nicht nur die infarzierten myokardialen Areale betrifft, sondern darüber hinaus womöglich auch Einfluss auf das sogenannte infarktarnabferne *Remodelling* nimmt.

3.4. Linksventrikuläre Wanddickenbestimmung

Die linksventrikuläre Dilatation als Folge der myokardialen Ischämie stellt ein weiteres *Remodelling*-Kriterium dar.

Zur Untersuchung des Einflusses der unterschiedlichen Colitis-Stadien auf die linksventrikulären Wanddicke nach kardialer I/R erfolgte eine histologische Wanddickenbestimmung. Dazu wurde das linksventrikuläre Myokard schematisch in fünf anatomische Bereiche unterteilt (s. „Material und Methoden“), deren durchschnittliche Wanddicken zwischen der Gruppe der mit DSS-behandelten Tiere und der Kontrollgruppe (s. Abb. 12) verglichen wurden.

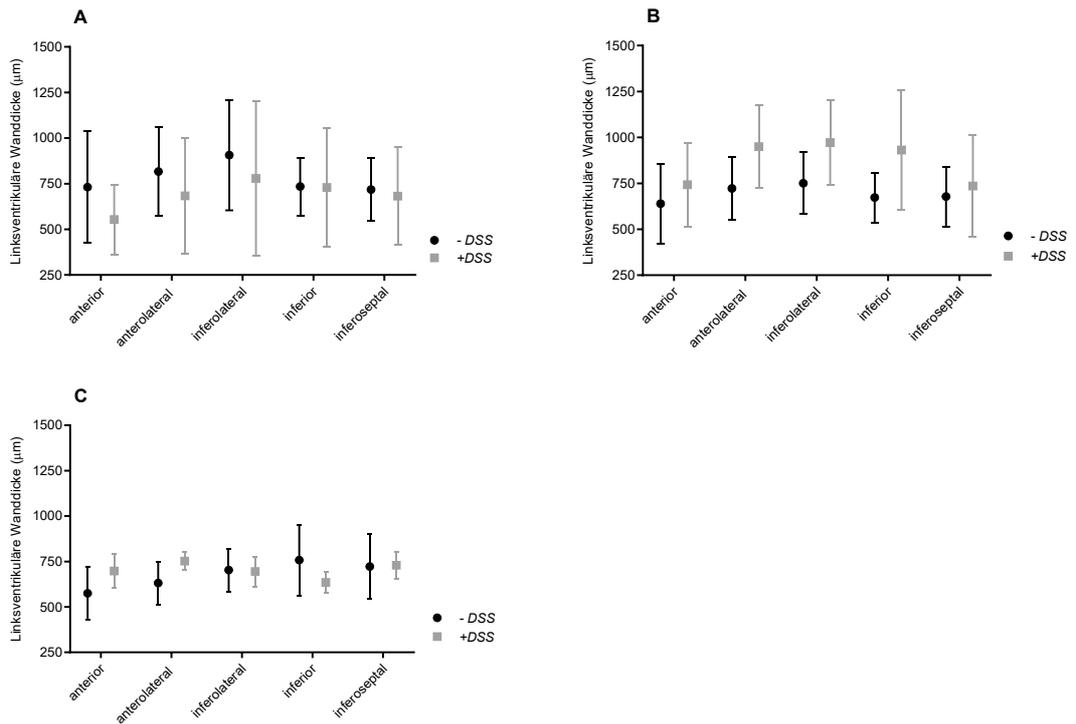


Abb. 12 Erhaltene Wanddicke in der mit DSS-behandelten Gruppe (+DSS) für die anterioren und anterolateralen Wandbereiche. Bestimmung der Wanddicke in fünf anatomischen Bereichen des linken Ventrikels für die mit DSS-behandelte Gruppe (+DSS) und die Kontrollgruppe (-DSS) bei Induktion der kardialen I/R in der Phase der akuten intestinalen Entzündung (A), des subakuten Entzündungsstadiums (B) sowie der Remission (C). Die Auswertung erfolgte mittels *two-way* ANOVA und Sidak-Test, Mittelwert \pm SD. A: n= 7,5; B: n=8,4; C: n=6,4.

Von besonderem Interesse erscheinen die Bereiche anterior und anterolateral, da sie dem primären Versorgungsgebiet der linken Koronararterie entsprechen, welche zur Induktion der Ischämie ligiert wurde. Der bereits morphologisch beschriebene Trend einer stärkeren linksventrikulären Dilatation in der Kontrollgruppe (s. Abb. 8) spiegelte sich auch in den Messdaten wider, zeigt allerdings eine Abhängigkeit davon, ob die I/R in der akuten Entzündungsphase erfolgte oder in der Phase der subakuten Colitis bzw. Remission.

Erfolgte die kardiale I/R in der Phase der Remission (C), so zeigten sich bei Betrachtung der anterioren und anterolateralen Wandabschnitte der Trend zu geringeren Wanddicken und somit einer stärkeren Dilatation in der Kontrollgruppe im Vergleich zur mit DSS-behandelten Gruppe. Im anterioren Bereich betrug diese bei den Kontrolltieren durchschnittlich 574,6 μm und im anterolateralen Bereich 631,59 μm im Vergleich zu 698 μm (bzw. 752,72 μm

bei den mit DSS-behandelten Tieren). Die Unterschiede waren statistisch nicht signifikant ($p=0,5538$ und $p=0,5723$). In den übrigen linksventrikulären Bereichen (inferolateral, inferior und inferoseptal) zeigte sich der Trend zu höheren Wanddicken in der Kontrollgruppe. Dabei fiel auf, dass dieser Trend insbesondere in den infarktfernen Arealen (inferior und inferoseptal), die bei Annahme einer normalen Koronarphysiologie nicht mehr zum Versorgungsgebiet der linken Koronararterie gehören, stärker ausgeprägt war. Im inferioren Bereich wurde bei den Kontrolltieren eine Wanddicke von durchschnittlich $757,5\mu\text{m}$ dokumentiert, wohingegen diese in der mit DSS-behandelten Gruppe lediglich $635,3\mu\text{m}$ betrug. Im inferolateralen Bereich dahingegen, welche je nach koronarem Versorgungsmuster auch durch die linke Koronararterie gespeist werden kann, war dieser Unterschied mit einer Wanddicke von $703,23\mu\text{m}$ (Kontrollgruppe) und $694,69\mu\text{m}$ (DSS-behandelte Gruppe) nicht so stark ausgeprägt. Die Daten zeigten im *two-way ANOVA* keine Signifikanz (adjustierte p -Werte $0,5637 - >0,9999$).

Erfolgte die kardiale I/R in der subakuten Entzündungsphase (B), so wurden über alle Wandabschnitte hinweg höhere Wanddicken in der mit DSS-behandelten Gruppe dokumentiert. Exemplarisch zeigte sich im anterolateralen Bereich bei den Kontrolltieren eine Wanddicke von durchschnittlich $722,3\mu\text{m}$ und bei den mit DSS-behandelten Tieren eine erhaltene Wanddicke von $950,1\mu\text{m}$. Der Unterschied war ebenfalls nicht signifikant ($p=0,3130$).

Bei Induktion der I/R in der Phase der akuten Colitis (A) zeigte sich der Trend zu höheren Wanddicken in der Kontrollgruppe in allen linksventrikulären Bereichen, wobei die Unterschiede hier nicht signifikant waren. Im anterolateralen Bereich wurde eine Wanddicke von durchschnittlich $683,4\mu\text{m}$ und im anterioren Bereich von durchschnittlich $553,9\mu\text{m}$ in der mit DSS-behandelten Gruppe dokumentiert. Diese betragen in der Kontrollgruppe durchschnittlich $816,4\mu\text{m}$ bzw. $730,8\mu\text{m}$.

Zusammenfassend lassen sich somit folgende Aussagen festhalten:

Unter der Annahme, dass eine postischämische Ausdünnung der linksventrikulären Wand primär die anterioren und anterolateralen Wandbereiche als Versorgungsgebiete der linken Koronararterien betrifft,

lässt sich erneut ein protektiver Effekt des zugrundeliegenden beginnenden Remissionsstadiums (C) bzw. subakuten (B) Entzündungsstadiums der Kolitis auf das kardiale post-I/R *Remodelling* suggerieren. Der bereits rein morphologische Eindruck einer stärkeren Dilatation des Ventrikels in der Kontrollgruppe (s. Abb. 8) lässt sich als Trend auch in den Daten wiederfinden, wobei sich keine statistische Signifikanz zeigte.

Erfolgte die kardiale I/R in der Phase der Remission (C), so zeigen sich zudem wie oben beschrieben höhere Wanddicken in den inferioren und inferolateralen Bereich in der Kontrollgruppe im Vergleich zu den mit DSS-behandelten Tieren, sodass man hier im Rahmen des *Remodelling* eine verstärkte kompensatorische linksventrikuläre Hypertrophie der infarkt-narbenfernen Areale annehmen könnte. Diese Annahme lässt sich allerdings anhand der beobachteten Trends in B und C nicht stützen, da hier die Daten entweder höhere Wanddicken für die mit DSS-behandelte Gruppe über alle Wandbereiche hinweg (B) oder für die Kontrollgruppe (C) zeigen.

4. Diskussion

4.1. Überblick

Wie bereits in der Einleitung erläutert, stützen sich die bisherigen Forschungserkenntnisse bezüglich eines Zusammenhangs zwischen CED und dem Myokardinfarkt auf klinisch-epidemiologischen Daten größtenteils retrospektiver Studien und Metaanalysen, in denen Inzidenzen von kardiovaskulären Ereignissen bei Patienten mit CED untersucht wurden. Dabei zeigt sich die Datenlage kontrovers bezüglich eines erhöhten kardiovaskulären Risikos und einer womöglich schlechteren Prognose nach kardiovaskulärem Ereignis bei Patienten mit CED.

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit lassen sich, in dem begrenzten Rahmen, in dem sich ein tierexperimentelles Projekt mit retrospektiven Daten klinischer Studien vergleichen lässt, eher in Zusammenklang bringen mit Studiendaten, die keinen Unterschied im Auftreten und dem Outcome bei Patienten mit CED im Vergleich zur Kontrollgruppe zeigen. Darüber hinaus zeichnet sich bei uns sogar - abhängig vom zugrundeliegenden Inflammationsstadium - ein protektiver Effekt auf das *Remodelling* ab. In den meisten klinischen Studien fehlt allerdings die Unterscheidung sowohl der Krankheitsaktivität als auch der aktuellen Krankheitsphase zum Zeitpunkt des Myokardinfarkts. [73]

Zusammenfassend lassen sich folgende Aussagen festhalten: Zum einen lässt sich die globale Hypothese, dass die induzierte Colitis als zusätzlicher inflammatorischer Stressor die kardiale post-I/R Antwort aggraviert mittels unserer Daten nicht stützen. Anhand der beschriebenen Ergebnisse wird deutlich, dass nun vielmehr neben der eigentlichen Feststellung eines protektiven oder aggravierenden Effektes der Colitis auf das *Remodelling*, ein Augenmerk auf die differenzierte Betrachtung der einzelnen Entzündungsstadien gelegt werden sollte. Der in den Krankheitsphasen jeweils vorliegende unterschiedliche Immunstatus hat offenbar einen differentiellen Einfluss auf das *Outcome* nach MI.

Zu den möglichen Ursachen dafür lassen sich mehrere hypothetische Denkansätze aufstellen. Vorstellbar wäre beispielsweise ein Einfluss der vorbestehenden generalisierten Inflammation bei Tieren mit bestehender chronischer Colitis und beginnender Remission mit womöglich bereits initiierten antiinflammatorischen Signalkaskaden im Sinne einer „*trained immunity*“. [86] Des Weiteren wären die Rolle eines veränderten Mikrobioms oder auch ein durch die bestehende Inflammation modulierter neurovegetativer Einfluss als mögliche Modulatoren denkbar.

4.2. Remodelling im Mausmodell

Zur Charakterisierung des *Remodelling* untersuchten wir die oben genannten histologischen Kriterien der linksventrikulären Narbengröße und der sagittalen Infarkt Narbenausdehnung, des mittleren linksventrikulären Kollagengehaltes sowie der linksventrikulären Wandausdünnung und konsekutiven Ventrikeldilatation. Im Folgenden sollen die einzelnen Aspekte sowie die hypothetischen Unterschiede in der Dauer der inflammatorischen und reparativen *Remodelling* Phase diskutiert werden.

Zeitliche Verläufe von inflammatorischer und reparativer Remodelling-Phase
Yang et al. skizzierten in einer Übersichtsarbeit die einzelnen Phasen des post-MI *Remodelling* nach I/R bei C57BL/6J Mäusen und gingen dabei auf histologische, immunhistochemische und echokardiografische Parameter ein. [87] So zeigte sich immunhistochemisch zu Beginn eine Infiltration mit Neutrophilen mit einem Maximum am zweiten Tag und danach die beginnende Einwanderung von Makrophagen mit der höchsten Dichte am vierten Tag. Dies markierte auch den allmählichen Beginn der reparativen Phase des *Remodelling*, da ab Tag vier sowohl die ersten Fibroblasten als auch in der *Gomori-Trichrome*-Färbung die ersten Kollagenfasern mikroskopisch nachgewiesen wurden. Die endgültige Narbengröße wurde etwa drei Wochen post-MI erreicht und nahm nur minimal, nicht signifikant, bis zur vierten Woche weiter zu. [87]

In der vorliegenden Arbeit erfolgte die Ernte der Herzen auch -abhängig vom Protokoll – frühestens zum Zeitpunkt drei Wochen post-MI, sodass davon

auszugehen ist, dass die myokardiale Narbe im linken Ventrikel ihre nahezu endgültige Größe zu diesem Zeitpunkt bereits erreicht hatte. Der Direktvergleich der Infarktgrößen zeigte bei uns einen kleineren linksventrikulären Infarktanteile bei den mit DSS-behandelten Gruppen, wenn die kardiale I/R in den Phasen der Remission und des subakuten Entzündungsstadiums erfolgte. Fand die kardiale I/R dahingegen in der Phase der akuten Colitis statt, so zeichnete sich der Trend zu höheren Infarktanteilen bei den mit DSS-behandelten Tieren ab.

Führt man sich den zeitlichen Verlauf der einzelnen *Remodelling* Phasen und insbesondere die Bedeutung des Übergangs von Inflammations- in Fibrosephase vor Augen, so wäre darüber hinaus interessant zu erfahren, ob sich womöglich die Dauer der einzelnen Phasen abhängig vom inflammatorischen Stadium der Colitis unterscheidet. Man geht davon aus, dass in Anbetracht der komplexen immunologischen Kaskaden mit der Vielzahl an den daran beteiligten zellulären und molekularen Komponenten, die genetisch, epigenetisch und durch Umweltfaktoren beeinflusst werden, die Intensität und Dauer der einzelnen Phasen alterieren kann. [88] Folglich könnte auch der Zeitpunkt, an dem die myokardiale Narbe ihre endgültige Größe erreicht, bedingt durch die unterschiedlichen Inflammationsstadien verschieden sein in den einzelnen Versuchsprotokollen. Eine direkte Vergleichbarkeit der einzelnen Subgruppen und darüber hinaus die Annahme eines protektiven Effektes wären demzufolge nur unter der Voraussetzung eines ähnlichen zeitlichen Ablaufes gegeben. Ansonsten wäre theoretisch ein durch das über das infarzierte Areal hinausgehende *Remodelling* über den Zeitpunkt von drei Wochen hinaus bei den mit DSS-behandelten Tieren denkbar, welches eventuell durch die alleinige Untersuchung von Herzen drei Wochen post-MI unbeachtet bliebe.

Christia et al. zeigen in ihrer Arbeit, dass sich die hauptsächlich midmyokardial lokalisierte Narbe nach kardialer I/R im zeitlichen Verlauf von drei bis 28 Tagen im Mausmodell aufgrund von Kontraktionen verkleinert. [89] Zum zeitlichen Verlauf und womöglich bestehenden Unterschieden lassen sich daher in der vorliegenden Arbeit, aufgrund der alleinigen Betrachtung zu lediglich einem Zeitpunkt, keine weiteren Aussagen treffen.

Im hier angewandten Modell der kardialen I/R kommt es, im Vergleich zur dauerhaften Ligatur einer Koronararterie, zu einer schnellen Infiltration des nekrotischen Myokards mit Immunzellen, die einer starken zeitlichen Dynamik unterliegt. [90] Nach Yan et al. wird dabei ein schnelleres Greifen von Mechanismen der adaptiven Immunantwort ermöglicht, die in diesem Modell eine womöglich größere Rolle spielen. [90] Somit scheint ein vermuteter immunologischer Einfluss und deren zeitlicher Ablauf bei vorliegender kardialer I/R insbesondere in diesem Modell von großer Bedeutung.

Eine große prognostische Bedeutung scheint eine zeitliche Eindämmung der inflammatorischen ersten Phase des *Remodelling* zu spielen. [53] Diese könnte hypothetisch bei zugrundeliegender akuter Colitis und bereits hochregulierten proinflammatorischen Kaskaden und systemisch erhöhten Zytokinspiegeln verstärkt verlaufen und womöglich das adverse *Remodelling* in der mit DSS-behandelten Gruppe im Vergleich zur Kontrollgruppe im Versuchsprotokoll der akuten Colitis fördern. Studien belegen vor allem die Bedeutung in einer zeitlich raschen Herunterregulation der IL-6 Antwort zur Eindämmung der inflammatorischen Phase des *Remodelling*. [53] So zeigte sich im Tierversuch bei Mäusen mit einer Mutation im Glykoprotein-130-Rezeptor (einem der wichtigsten IL-6 Rezeptoren), die post-MI zur fehlenden zeitabhängigen Herunterregulation von IL-6 abhängigen proinflammatorischen Kaskaden führte, ein adverses *Remodelling* mit erhöhten Raten an linksventrikulären Wandrupturen. [91] Unter der Annahme von dauerhaft erhöhten systemischen Spiegeln von IL-6 im Rahmen der akuten Colitis könnte u.a. das beobachtete adverse *Remodelling* in der mit DSS-behandelten Gruppe im Protokoll der akuten Colitis dadurch beeinflusst sein.

Narbengröße

Die linksventrikuläre Narbengröße gilt allgemein als prognostisch wichtiger Faktor, der Einfluss auf das Langzeit-*Remodelling* nach überlebtem MI nimmt, und damit auch die Entstehung einer ischämischen Herzinsuffizienz beeinflusst. [88]

So wurde in einer klinischen Studie die linksventrikuläre Infarktgröße mittels Durchführung einer kardialen Magnetresonanztomografie zu den Zeitpunkten

eine Woche sowie vier Monate nach STEMI untersucht. Es zeigte sich eine Korrelation zwischen der initialen Infarktgröße mit dem Anstieg der enddiastolischen und endsystolischen linksventrikulären Volumina im Verlauf. [88] Dabei unterscheiden die Studienautoren zwei Mechanismen der linksventrikulären Dilatation: Zum einen gehört dazu eine kompensatorische, physiologische linksventrikuläre Dilatation, die sich im Rahmen des Frank-Starling-Mechanismus erklären lässt. Erhöhte intraventrikuläre Volumina erhöhen dabei die Vorlast und so kann die Pumpfunktion trotz Kontraktilitätsverlustes aufgrund der Narbenbildung zu einem gewissen Grad kompensiert werden. [88] Zum anderen, und vom besonderen klinischen Interesse, ist das pathologische *Remodelling*, welches getriggert wird durch bestehende inflammatorische Prozesse. [88]

In der vorliegenden Arbeit zeigte sich der Trend zu geringeren Narbengrößen bei den mit DSS-behandelte Tieren, wenn die kardiale I/R in den Phasen der Remission sowie der subakuten Entzündungsphase erfolgte, sodass man hypothetisch folgern muss, dass diese Inflammationsstadien womöglich protektiv auf die Narbenbildung wirkten. Welche Mechanismen dafür erklärend sein könnten, müsste in weiteren Untersuchungen evaluiert werden. Es existiert eine Vielzahl an experimentellen Ansätzen zur Einflussnahme auf unterschiedlichen Phasen des *Remodelling* mit dem Ziel der Reduktion der Narbengröße. [92]

Ein möglicher Aspekt, der dabei von Bedeutung sein könnte, wäre beispielsweise die Zusammensetzung der myokardialen Narbe. So zeigten sich in einer tierexperimentellen Studie, bei der Mäuse nach Ligatur einer Koronararterie Knochenmarkszellen infundiert bekamen, eine kleinere Narbe im Vergleich zu den Kontrolltieren. [93] Es resultierte eine Makrophagen-dominierte Inflammation, die durch vermehrte Rekrutierung von Myofibroblasten zu einer kleineren Narbe führte, welche die Autoren vor allem auf eine stärkere Kontraktion der myokardialen Narbengröße zurückführten. [93] Gleichzeitig existieren Daten, die belegen, dass ein erhöhter Kollagenanteil in der Narbe auch die kontraktile Funktion im Myokard unterstützt und somit womöglich auch prognostische und funktionelle Vorteile impliziert. [55] Mögliche Unterschiede in der Zusammensetzung der myokardialen Narben zwischen DSS-behandelten Gruppen und

Kontrollgruppen wären ebenfalls denkbar und müssten in weiteren Untersuchungen eruiert werden.

Linksventrikulärer mittlerer Kollagengehalt

Bei Induktion einer kardialen I/R in den Phasen der Remission und der subakuten Colitis zeigte sich ähnlich zu dem beobachteten Trend der linksventrikulären Infarktgröße ein geringerer mittlerer Kollagengehalt in den mit DSS-behandelten Gruppen im Vergleich zu den Kontrollgruppen. Erfolgte die I/R dahingegen während der Akutphase der Entzündung, so war der mittlere linksventrikuläre Kollagengehalt bei den mit DSS-behandelten Tieren höher. Eine vermehrte interstitielle Kollagendeposition wirkt sich langfristig negativ durch Auswirkungen auf die diastolische kardiale Funktion aus. [87] Yang et al. legten in ihrer Untersuchung des *Remodelling* nach I/R im Mausmodell ein Augenmerk auch auf das nicht-infarzierte Gewebe des linksventrikulären Myokards. Dabei erfolgten Untersuchungen der interstitiellen Kollagenfraktion (IKF) mittels Fluoreszenzmikroskopie und nachfolgender automatisierter Planimetrie und Densitometrie. [87] Die IKF nahm dabei kontinuierlich bis hin zu vier Monaten zu, vor allem rapide nach zwei Wochen.

Dass das Ausmaß an interstitieller Kollagendeposition auch durch immunologische Kaskaden des *Remodelling* reguliert wird, zeigen unterschiedliche Studien. So zeigte sich beispielsweise im Mausmodell bei Neutralisation des *chemokine monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1)*, welchem eine Rolle im fibrotischen *Remodelling* des Myokards zugeschrieben wird, durch Gabe von Antikörpern, neben einer verringerten interstitiellen Fibrose, eine Besserung der ventrikulären Dysfunktion und regionalen Hypokontraktilität im Vergleich zur Kontrollgruppe. Als Mechanismus wurde dabei vielmehr eine verringerte Makrophagen-Rekrutierung als ein direkter Effekt auf Fibroblasten angenommen. [94]

In Bezug auf die vorliegende Arbeit lässt sich auch folgern, dass womöglich die unterschiedlichen zugrundeliegenden Inflammationsstadien die kardiale Fibrose post-MI beeinflussen. So belegen Daten, dass TH2-Zell Zytokine eine dominante Rolle in der Fibrose einnehmen, wohingegen TH1-Zell Zytokine im Rahmen einer Entzündung eher antiinflammatorische Eigenschaften

aufweisen. [95, 96] Nach aktuellem Kenntnisstand ist die DSS-Colitis bei C57BL/6 vornehmlich von einer TH1-Antwort geprägt, wodurch sich mögliche antifibrotische Effekte hypothetisch erklären ließen. [97] Allerdings gibt es Arbeiten, die die unterschiedlich exprimierten Zytokinspiegel in der Phase der akuten und chronischen DSS-Colitis bei C57BL/6 Mäusen beobachteten. So beschreiben Alex et al. einen Switch in von einer vornehmlich TH1-Zell vermittelten Antwort in der akuten Phase der Colitis zu einer überwiegenden Th2-Zell Antwort in der Phase der chronischen Entzündung. [98] In unserer Arbeit zeigte sich bei Induktion der kardialen I/R in der Phase der akuten Entzündung zwar der Trend zu einem höheren mittleren Kollagengehalt in der mit DSS-behandelten Gruppe. Die relativen Anteile waren vergleichbar mit den mit DSS-behandelten Tieren, bei denen die kardiale I/R in der Phase der Remission erfolgte, sodass diese Diskrepanzen nicht alleinig mit unterschiedlichen Zytokinspiegeln aufgrund einer vorwiegend TH1/TH2 vermittelten Immunantwort zu erklären wären.

Saggitale Infarktausdehnung

Bei Betrachtung der linksventrikulären Infarktanteile in den einzelnen Schnittebenen zeigte sich über alle Protokolle hinweg der Trend zu den höchsten Narbenanteilen in den apexnahen, ligaturfernen Schnittebenen und die geringsten Narbenanteile im Bereich der basisnahen, ligaturnahen Bereiche. Dies lässt sich damit erklären, dass nach Beendigung der Ischämie zunächst die ligaturnahen Anteile reperfundiert werden. Die zuvor dort gebildeten Mikrothromben werden nach distal (apikale myokardiale Bereiche) gespült, wo es dann zu Mikrookklusionen kommt. [99]

Bei den mit DSS-behandelten Tieren, bei denen die I/R in der Phase des subakuten Entzündungsstadiums erfolgte, konnte ein signifikant geringerer Narbenanteil in diesen ligaturfernen Ebenen beobachtet werden, sodass dieser Anteil womöglich auch den allgemein kleineren linksventrikuläre Narbenanteil in dieser Gruppe bedingt.

Postischämisch spielen sich myokardial, und insbesondere im koronaren Gefäßsystem, komplexe durch die entstehende Hypoxie getriggerte Inflammationsprozesse ab. [100] Ischämie-getriggert kommt es u.a. zur Plättchenaktivierung und –adhäsion. [100] Hypothetisch könnte eine

Modulation dieser Thrombozyten-Antwort durch die bestehende Colitis womöglich den beobachteten Unterschied bedingen.

Im Allgemeinen wird aktivierten Thrombozyten im Rahmen der Pathophysiologie von CED sowohl bezüglich proinflammatorischer Eigenschaften, aber auch bezüglich thrombotischer Prozesse eine zunehmende Bedeutung zugeschrieben. [101] Yan et al. beobachteten auch in der DSS-Colitis auftretende Veränderungen der Thrombozytenfunktion. [102] So beschrieben sie zum einen eine periphere Thrombozytose sowie eine – womöglich IL-6 getriggerte - Erhöhung unreifer Thrombozyten und zirkulierender aktivierter Thrombozyten, die Aggregate mit Neutrophilen, Monozyten und Leukozyten bilden. [102] Diese Beobachtungen lassen allerdings einen kardioprotektiven Effekt mit schließlich geringerer post-I/R Schädigung eher unwahrscheinlich erscheinen, da man annimmt, dass eine Erhöhung an aktivierten zirkulierenden Thrombozyten die kardiale post-I/R Schädigung verstärken müsste.

Über bestehende pathophysiologische Zusammenhänge lassen sich nur Hypothesen aufstellen. Eine mögliche Hypothese wäre dabei zum Beispiel ein zugrundeliegender Effekt der „ischämischen Präkonditionierung“, bei der sich kurze Episoden subklinischer Ischämien (auch entfernter Organsysteme) protektiv auf die kardiale I/R wirken. [103] So wurde bereits in verschiedenen tierexperimentellen Studien nach ischämischer Präkonditionierung durch transiente mesenteriale Ischämieinduktion eine Verringerung der myokardialen Infarktgröße beschrieben. [104] Ursächlich werden dabei u.a. eine systemische Modulation von Immunzellen sowohl auf transkriptionaler als auch auf post-translationaler Ebene vermutet. [104] Darüber hinaus scheint es unterschiedliche Thrombozyten-abhängige Mechanismen zu geben, bei dem die aktivierten Thrombozyten im Falle einer vorausgegangenen ischämischen Präkonditionierung protektiv wirken. [105] Konkret wurde dabei ein Einfluss der Sekretion von Serotonin durch aktivierte Thrombozyten, welches immunmodulierend und protektiv im beschriebenen Beispiel auf die I/R der Leber wirkte, beschrieben. [105] Ischämie ist, im menschlichen Erklärungsmodell der CED, ein zentraler Bestandteil derer Pathophysiologie – im DSS-Mausmodell ist der Einfluss einer zugrundeliegenden Ischämie noch unklar, wobei ein vergleichbarer Einfluss

vermutet wird. [102] Inwiefern diese zugrundeliegende Ischämie eine Art ischämische Präkonditionierung widerspiegelt und damit einen möglichen protektiven Effekt auf die kardiale I/R bedingt, müsste weiter untersucht werden.

Ventrikeldilatation und kompensatorische Hypertrophie

In den mit DSS-behandelten Gruppen zeigten sich morphologisch tendenziell intramurale Infarkte. Auch in Messungen zeigte sich die Wanddicke erhalten mit einer geringeren Dilatation des linken Ventrikels im Vergleich zu den Kontrollgruppen. In der Wanddickenbestimmung konnte ebenfalls für die linksventrikulären Bereiche anterior und anterolateral (dem Versorgungsgebiet der temporär ligierten linken Koronararterie entsprechend) bei Induktion der kardialen I/R in der Remissionsphase und im subakuten Entzündungsstadiums der Trend zu einer erhaltenen Wanddicke im Vergleich zu den Kontrollgruppen beobachtet werden. Unter funktionellen und morphologischen Gesichtspunkten wäre eine deutliche Dilatation und Wandverdünnung, dem morphologischen Bild einer ischämisch getriggerten dilatativen Kardiomyopathie ähnelnd, ein klares prognostisch relevantes negatives *Remodelling* Kriterium.

Ein möglicher Mechanismus der zunehmenden Ventrikelwandausdünnung mit konsekutiver Dilatation könnte eine Kontraktion der reifenden Kollagenarbe mit einhergehendem Volumenverlust an linksventrikulärem Myokard sein, der histologisch an post-I/R Mäuseherzen im zeitlichen Verlauf von drei Wochen beobachtet wurde. [89] Damit stellt sich die weiterführende Frage, ob es womöglich Unterschiede im molekularen Aufbau und Struktur der Kollagenarbe und allgemein des Stellenwertes der myokardialen Fibrose zwischen den mit DSS-behandelten Tieren und den Kontrolltieren gibt.

Westman et al. betonen in ihrem Review, dass die Infarktfläche keinen alleinigen Einflussfaktor auf die endgültige linksventrikuläre Dilatation darstellt. [88] Klinische Daten zeigten bei einer kleinen Gruppe von Patienten, die MRT-morphologisch eine geringe Infarktfläche aufwiesen (dort definiert als weniger als 18,5% der linksventrikulären Infarktfläche) im Verlauf von Monaten eine ausgeprägtes nachteiliges *Remodelling* im Sinne einer linksventrikulären Dilatation (definiert als Anstieg des linksventrikulären

enddiastolischen Volumens um mehr als 10ml/m²) entwickelten. So scheinen womöglich individuelle Unterschiede in der post-MI Inflammation eine Rolle zu spielen. [88] Tierexperimentell zeigte sich bei Ratten eine Korrelation zwischen der Höhe an myokardial exprimierten Spiegeln proinflammatorischer Zytokine wie IL-6, TNF- α , IL-1 β und dem linksventrikulären enddiastolischen Durchmesser, was erneut die Bedeutung einer systemischen Inflammation, über ihren direkten Einfluss auf die Infarktgröße hinaus, zeigt. [88]

Neben dem Volumenverlust der infarzierten Myokardbereiche wird gleichzeitig häufig eine kompensatorische Hypertrophie in infarkt-narbenfernen Arealen, insbesondere im Bereich des Ventrikelseptums, festgestellt. [89] Unsere Daten zeigten in den Kontrollgruppen aus dem dritten Versuchsprotokoll (I/R bei den mit DSS-behandelten Tieren in der Phase der Remission), die in den Bereichen anterior und anterolateral eine Verdünnung der linksventrikulären Wand aufwiesen, den Trend zu einer kompensatorischen Hypertrophie in den infarkt-narbenfernen myokardialen Arealen. Allerdings ließ sich dieser Trend in den anderen Versuchsprotokollen nicht beobachten. Darüber hinaus entstand sowohl visuell als auch in den Messungen der Eindruck einer vermehrten Hypertrophie bei den mit DSS-behandelten Tieren. Weiterführende Messungen, die Bestimmung der Septumdicke (die in der vorliegenden Arbeit nicht erfolgte), sowie eine Korrelation mit echokardiografischen Daten wäre notwendig, um eine Aussage über eine mögliche relevante Hypertrophie zu treffen.

Eine weitere Variable wäre beispielsweise die Myozytenquerschnittsfläche in den infarkt-narbenfernen Arealen, die in der vorliegenden Arbeit nicht untersucht wurde. In der Arbeit von Yang et al. nahm diese bis zu einem Zeitpunkt von vier Monaten kontinuierlich kompensatorisch zu. [87] Interessanterweise zeigten die Ergebnisse von Yang et al. eine nicht signifikante Abnahme der relativen linksventrikulären Infarktgröße vom ersten bis zum sechsten Monat hin. Dies führen die Studienautoren auf die Vergrößerung der linksventrikulären Fläche durch die kompensatorische Hypertrophie der nicht-infarzierten Areale zurück. Bezogen auf unsere Ergebnisse müsste man somit in Frage stellen, ob der Effekt des kleineren

linksventrikulären Narbenanteils bei Induktion der kardialen I/R in der Phase der Remission und der subakuten Entzündung tatsächlich ein geringeres Ausmaß an post-MI *Remodelling* widerspiegelt. Denkbar wäre zum Beispiel auch eine womöglich vermehrte Hypertrophie im nicht-infarzierten Myokard in den mit DSS-behandelten Gruppen. Damit wäre der berechnete Anteil am verbliebenen linksventrikulären Myokard in den Kontrollgruppen mit vermehrter Dilatation folglich größer.

Insbesondere erscheinen in diesem Zusammenhang experimentelle Daten interessant, die belegen, dass nach mehreren DSS-Zyklen bei Mäusen echokardiografisch erhöhte linksventrikuläre Wanddicken nachgewiesen wurden. [106] Als Ursache suggerieren die Autoren veränderte miRNS (micro Ribonukleinsäure) -Expressionsprofile, die zu einer *Downregulation* von *brain derived neurotrophic factor* (BDNF) führen, dem kardioprotektive Eigenschaften zugeschrieben werden. [106]

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass es weiterer Untersuchungen bedarf, um die Hypothese eines möglichen protektiven Effektes zu stützen. Zum einen sollte der zeitliche Ablauf der einzelnen *Remodelling* Phasen bedacht werden. Dazu wären einerseits planimetrische Untersuchungen und die Bestimmung des Kollagengehaltes an unterschiedlichen Zeitpunkten nach I/R notwendig. Zum anderen sollten auch die Untersuchungen um die Betrachtung der infarktfernen Areale des linksventrikulären Myokards erweitert werden, um mögliche Effekte einer Myozyten-Hypertrophie sowie infarktnarbenfernen Fibrose zu evaluieren. Ferner wäre eine genauere Charakterisierung der inflammatorischen Antwort auf molekularer und zellulärer Ebene notwendig.

4.3. Bedeutung der Ergebnisse im Hinblick auf die bisherige klinische Datenlage

Kristensen et al. befassten sich in einer retrospektiven Analyse von dänischen multicenter-Daten von 2002 – 2011 mit dem kardiovaskulären Risiko von CED-Patienten. [7] Als Ergebnis zeigten sich erhöhte Raten für den kombinierten Endpunkt erneuter MI, kardiovaskulärer Tod sowie Schlaganfall.

Hervorzuheben ist zudem eine erhöhte kurzfristige Mortalität bei CED Patienten im aktiven oder chronischen Entzündungsstadium, wohingegen Patienten mit CED im Remissionsstadium keinen signifikanten Unterschied zur Vergleichsgruppe aufwiesen. Anhand dieser klinischen Daten lässt sich bereits eine mögliche Relevanz einer differenzierten Betrachtung der Prognose bei Vorliegen unterschiedlicher Entzündungsstadien erahnen. Daraus könnten sich verschiedene Risikofaktoren und -stratifizierungen ergeben. [57]

Entgegengesetzt dazu zeigten Ehrenpreis et al. in ihrer retrospektiven Studie eine geringere Mortalität nach Hospitalisation aufgrund eines MI bei Patienten mit CED. [78] Die Autoren der Studie suggerieren als möglichen Grund für die geringere Mortalität eine veränderte weniger hochregulierte immunologische Antwort auf den stattgehabten Myokardinfarkt. [77] Dabei wird Bezug auf eine weitere retrospektive Studie von Zakrotsky et al. genommen. Darin wurde gezeigt, dass die Wahrscheinlichkeit einen akuten Myokardinfarkt oder eine instabile Angina pectoris zu entwickeln, bei Patienten mit CED, die mit Steroiden behandelt wurden, niedriger war als bei Patienten ohne vorausgehende Steroidtherapie. [107] In Bezug darauf wird die antiinflammatorische Therapie somit als Schlüsselpunkt gesehen, weshalb sich die immunologische post-MI Antwort bei CED Patienten von der Kontrollgruppe unterscheidet. Gleichzeitig gibt es jedoch auch Studien, die ein erhöhtes kardiovaskuläres Risiko unter Steroidtherapie beweisen, sodass ein alleiniges Zurückführen der Beobachtung auf die Effekte einer medikamentösen Therapie womöglich zu vereinfacht wäre. [1]

Bei den mit DSS-behandelten Tieren zeigte sich im Hinblick auf das *Remodelling* ein prognostischer Vorteil, wenn sie sich zum Zeitpunkt der kardialen I/R im Stadium der subakuten oder chronischen Colitis befanden. Somit unterstreichen die Resultate der vorliegenden Arbeit mehr die Hypothese für das Vorhandensein der von Ehrenpreis et al. bezeichneten „intrinsic Faktoren“, denen ein protektiver Effekt beigemessen werden kann, unabhängig vom Vorhandensein einer antiinflammatorischen externen Therapie. [78]

Dieser Zusammenhang wird in der Literatur allgemein als „Paradoxon“ bezeichnet, dass vorhandene Komorbiditäten das *Outcome* nach einem

Myokardinfarkt verbessern. [76, 78] Ähnlich wird dies bereits bei Bigeh et al. beschrieben. Dabei stellen die Autoren die These auf, dass bei Patienten mit CED bereits ein „basaler proinflammatorischer Status“ besteht, der nur wenig durch zusätzliche proinflammatorische Zytokine während des Myokardinfarktes gestört wird. [1] Man könnte die Daten der vorliegenden Arbeit als Denkansatz für das o.g. Paradoxon werten, womit weitere Untersuchungen, die sich insbesondere mit den Ursachen für diesen protektiven Effekt im Remissionsstadium befassen, notwendig werden.

Unser durchgeführtes Projekt stellte einen ersten tierexperimentellen Ansatz zur Untersuchung dieser Fragestellung dar. Dabei liegt das Augenmerk auf der Untersuchung des myokardialen postischämischen *Remodelling* und ist somit nur in einem bestimmten theoretischen Rahmen mit den vorher genannten Studienergebnissen in Zusammenhang zu bringen. Dieser würde bedeuten, dass man gewissermaßen voraussetzt, dass ähnliche immunologische Kaskaden, die maßgeblich durch die bestehende intestinale Entzündung beeinflusst werden, und letztlich atherosklerose-abhängig und ggf. –unabhängig kardiovaskuläre Ereignisse triggern, auch gleichzeitig das postischämische *Remodelling* beeinflussen. Da diese Grundvoraussetzung eine sicherlich limitierte und vereinfachte Sichtweise wäre, sollte der nachfolgende Ansatz unsere Ergebnisse zu interpretieren sich viel mehr darauf beschränken, eine differenzierte Betrachtungsweise für die einzelnen Entzündungsstadien hervorzuheben.

4.4. Bedeutung einer systemischen Inflammation im Hinblick auf das kardiale Remodelling

Nach der aktuellen Datenlage erhöht eine zugrundeliegende Inflammation sowohl die lokale als auch die systemische Inflammation nach I/R wie Courties et al in ihrem Review zusammenfassen. [108, 109] Problematisch erscheint, insbesondere bei Durchführung von experimentellen oder klinischen Studien zu dieser Fragestellung, die Tatsache, dass Zytokin- oder Chemokinspiegel häufig einige Stunden nach der Ischämie bestimmt werden. Eine nachträgliche Unterscheidung, ob die gemessenen Biomarker nun Ausdruck der akuten myokardialen Inflammation sind, oder einen

vorherrschenden chronischen inflammatorischen Status ausdrücken, ist in klinischen Studien häufig nicht zu eruieren. [88]

Allgemeingültig ist bekannt, dass eine andauernde, chronische Inflammation sich nachteilig auf das kardiale *Remodelling* auswirkt. [110] Es existieren Daten, die sich dabei vor allem auf das langjährige *Remodelling* bei Kardiomyopathien, z.B. im Rahmen einer dilatativen Kardiomyopathie (DCM) beziehen. So zeigt sich bei Patienten mit erhöhten CRP-Leveln ein nachteiliges *Remodelling* sowie ein verstärkter Progress der Erkrankung. [88] Auch erhöhte systemische Spiegel an IL-6 und TNF- α bedingten eine erhöhte Mortalität bei DCM Patienten. [88] Des Weiteren zeigen tierexperimentelle Studien, bei denen eine Blockade proinflammatorischer IL-1 Signalkaskaden durch das Einsetzen von IL-1-Rezeptor-ko Mäusen oder durch die Gabe von IL-1-Rezeptor Antikörpern erfolgte, eine geringere linksventrikuläre Dilatation sieben Tag nach MI. [88]

Inwiefern lassen sich die Daten des vorliegenden Projektes mit den bisherigen klinischen Daten in Zusammenhang bringen? Die oben genannten Ergebnisse im Mausmodell lassen vermuten, dass die bestehende Colitis, insbesondere im subakuten Stadium und im Stadium der Remission auch einen protektiven Effekt ausübt. Nach Bigeh et al. besteht bei einer Colitis bereits ein grundlegender allgemeiner proinflammatorischer Status. Ein zusätzlicher Stressor wie die I/R und damit einhergehende Inflammation mit Erhöhung von Zytokinspiegeln nehme anschließend weniger Einfluss darauf. [1] Diese Hypothese würde zu dem Gedanken passen, dass es womöglich eine „*trained immunity*“ [86] gäbe, die eine gewisse Kardioprotektion leiste. [111] Es existieren beispielsweise Daten von Naik et al., dass es nach Ablauf akuter inflammatorischer Prozesse der Haut zu einer schnelleren Aktivierung epithelialer Stammzellen, die für die Gewebereparatur notwendig sind, kommt. Es wird vermutet, dass diese Aktivierungsprozesse der angeborenen Immunität und nicht der adaptiven Immunität zuzuschreiben sind und auf einem vorausgegangenem Training der Immunzellen basieren. [112] Hypothetisch könnte es so etwas auch im Rahmen des kardialen *Remodelling* geben. Interessant wäre in diesem Zusammenhang, dass eine „*trained immunity*“ [86] zwar eine schnelle immunologische Antwort ermöglicht, jedoch

unklar bleibt, inwieweit dies primär eine gesteigerte proinflammatorische Immunantwort bedeutet und worin möglicherweise eine Toleranz durch eine angepasste primär immunsuppressive Antwort besteht. [113] Betont wird in der Literatur, dass Prozesse der „*trained immunity*“ [86] passager über Wochen bis Monate verlaufen und im Gegensatz zur adaptiven Immunität nicht jahrelang erhalten bleiben. [86] Dies wäre ein Erklärungsansatz für die womöglich unterschiedlichen Abläufe der Inflammation mit Auswirkungen auf das *Remodelling* abhängig von der zeitlichen Phase der zugrundeliegenden intestinalen Entzündung. So gibt es tierexperimentelle Daten, in denen nach Gabe von β -Glukan eine Reduktion der myokardialen Narbe erreicht wird. Im Rahmen dieser Kardioprotektion wird der Aktivierung von Monozyten und Makrophagen insbesondere durch Prozesse der epigenetischen Reprogrammierung, die primär als ein Mechanismus der „*trained immunity*“ [86] und weniger als einer der adaptierten Immunität angesehen wird, zugeschrieben. [86, 111].

Welche immunologischen Mediatoren, Zytokine und zellulären Mechanismen in komplex regulierten Kaskaden allerdings daran beteiligt sind, müsste in weiteren Untersuchungen eruiert werden. Betrachtet man die Tatsache genauer, dass es vor allem in der subakuten Entzündungsphase zu einem protektiven Effekt kommt, so lässt dies eine Vermutung aufkommen, dass die antiinflammatorischen Prozesse, die zur Suppression der akuten überschießenden Inflammationsreaktion im Darm beitragen, auch die myokardiale Stressreaktion mildern, was sich einerseits klinisch anhand einer geringeren Gewichtsabnahme zeigt, andererseits auch in den infarktplanimetrischen Daten widerspiegelt.

Nach der Zytokin-Hypothese im Rahmen der Ätiopathogenese einer Herzinsuffizienz sind neuroendokrine Mediatoren und diverse Zytokine maßgebliche am Progress einer bestehenden Herzinsuffizienz beteiligt. [114, 115] Dabei belegen unterschiedliche Studien, dass erhöhte TNF- α Spiegel im Rahmen einer Herzinsuffizienz mit einer linksventrikulären Dysfunktion sowie Abnahme der myokardialen Kontraktilität assoziiert sind. [116, 117] Synergistisch dazu wirken auch IL-1 und IL-6. [116]

Immunologische Mediatoren wirken im Allgemeinen über unterschiedliche Mechanismen auf das linksventrikuläre *Remodelling* ein. Dazu gehören ein Einfluss auf die Myozytenhypertrophie, auf die Aktivierung von MMPs, sowie die Förderung der myokardialen Fibrose und der Apoptose von Myozyten. [118]

Bestehende Literaturdaten lassen mögliche Zusammenhänge sowohl zwischen molekularen Kaskaden als auch zellulären Mechanismen vermuten. In diesem Zusammenhang erscheint die Studie von Vidal-Lletjós et al. nennenswert, in der beispielsweise IL-33 maßgeblich antiinflammatorisch wirkt und an den Remissionsphasen der DSS-Colitis beteiligt ist. [119] Gleichzeitig gibt es Arbeiten, welche die kardioprotektive Wirkung von IL-33 belegen. [120] Anti-apoptotische Wirkungen von IL-33 nach kardialer I/R konnten dabei sowohl in der Zellkultur nach Hypoxie als auch im in-vivo Tiermodell nach kardialer I/R nachgewiesen werden. Es zeigten sich geringere Infarktgrößen, eine geringere Fibrose sowie verbesserte echokardiografische Daten bei Gabe von rekombinantem IL-33 für drei Tage nach kardialer I/R. [121]

Neben den direkten pro- oder antiinflammatorischen Wirkungen bestimmter Moleküle, müsste zudem bedacht werden, dass einzelne im Rahmen der DSS-Colitis beteiligte Entzündungsmediatoren pleiotrope Effekte aufweisen. [53] Hier erscheint TNF- α nennenswert, welches aufgrund seiner pleiotropen Effekte nicht ausschließlich proinflammatorisch wirkt. So beobachteten Sun et al. bei der Gabe von Knochenmarkszellen nach Ligatur der Koronararterien bei Mäusen zwar eine primär Makrophagen-vermittelte reparative *Remodelling*-Phase mit erhöhter Fibroblastentransformation und Entstehung einer stabileren kontraktileren und kleineren Infarkt Narbe; gleichzeitig zeigten sich aber für die reparative *Remodelling*-Phase eher untypische erhöhte TNF- α Spiegel. [93]

Abhängig ist die letztliche Wirkung von dem endständigen TNF- α -Rezeptor (TNF-R): TNF-R1 oder R2. Über TNF-R2 wird eine zytoprotektive Wirkung entfaltet, welche die über NF- κ B vermittelte proinflammatorische TNF- α Wirkung abschwächt und die Inflammation herunterreguliert. [58]

Zudem zeigte sich bei Ratten, die zweimalige TNF- α Gaben im Abstand von 48 Stunden erhielten nach nachfolgender kardialer I/R eine geringere Infarktgröße sowie eine geringere Wahrscheinlichkeit für das Auftreten ventrikulärer Tachykardien während der Ischämie. Die Autoren der Studie vermuten als möglichen Mechanismus eine durch TNF- α getriggerte Induktion der Mangan-Superoxid-Dismutase, die eine Kardioprotektion bei kardialer I/R vermittelt. [122] Zudem gibt es tierexperimentelle Daten, die eine hemmende Wirkung von TNF- α auf die Apoptose von Kardiomyozyten belegen. [123]

Asgeri et. al sprechen in diesem Zusammenhang von einem dualen spiegelabhängigen Effekt von TNF- α , da erhöhte Konzentrationen in einem ex-vivo Modell die myokardiale Kontraktilität einschränken. [124] So zeigte sich in einer Studie mit Ratten ein kardioprotektiver Effekt nach Tetrazyklingabe vor I/R. Dieser Effekt zeigte sich nicht in der Gruppe mit chemisch-induzierter Colitis, wobei sich in dieser Gruppe erhöhte TNF- α Level zeigten, die womöglich den kardioprotektiven, immunsuppressiven Effekt des Tetrazyklins aufheben. [125]

Auf zellulärer Ebene lassen sich ebenfalls die beschriebenen pleiotropen Effekte beobachten. So können Makrophagen, die wie bereits in der Einleitung erwähnt eine besondere Bedeutung im Rahmen des Übergangs von inflammatorischer zur fibrotischer Phase des *Remodelling* einnehmen, ebenfalls je nach Differenzierung unterschiedliche Funktionen übernehmen. [126] Frangogiannis et al. unterscheiden einen inflammatorischen M1-Phänotyp sowie einen antiinflammatorischen M2-Phänotyp. [126]

Da die Ergebnisse einen protektiven Effekt der subakuten Entzündungsphase und der Remissionsphase auf das myokardiale *Remodelling* vermuten lassen, müsste eine genauere Beobachtung der immunologischen Grundlagen in den einzelnen Entzündungsstadien erfolgen.

Zahlreiche Studien haben sich bereits mit den Unterschieden der molekularen Grundlagen in den einzelnen Colitis-Stadien beim DSS-Modell befasst, die in einem Review von Perše und Cerar tabellarisch zusammengefasst werden. [127] Es zeigte sich allerdings eine unterschiedliche Expression von

Zytokinen und Chemokinen im Vergleich von einzelnen Mäuse-Stämmen, was einen genetisch bedingten Unterschied in den Inflammationsprozessen möglich macht. [127]

Es wird angenommen, dass die akute Phase der DSS-Colitis hauptsächlich von einer TH1 und TH17 vermittelten Antwort geprägt ist. Begleitend finden sich erhöhte systemische Spiegel an TNF- α , IL-6 sowie IL-17. In der Phase der chronischen Entzündung zeigt sich dahingegen eine TH2-vermittelte Entzündung mit Erhöhung von IL-4 und IL-10. [128]

Es wurden bereits in vielen Studien die unterschiedlichen Spiegel an Zytokinen und Chemokinen im Rahmen der DSS-Colitis nachgewiesen, wobei sich die Profile der exprimierten Immunmediatoren in der akuten und der chronischen Entzündungsphase unterscheiden. Eine große Rolle spielen das TNF- α , darüber hinaus IL-1 β , IL-6, IL-10, IL-17 sowie TGF- β . Die erhöhten Spiegel an Zytokinen und Mediatoren sind dabei auch bis zum 14. Tag nach Absetzen der DSS-Gabe systemisch nachweisbar. [129]

So zeigen diverse tierexperimentelle Daten nachteilige Effekte von IL-1, welches über komplex regulierte immunologische Kaskaden zum einen die Apoptose von Kardiomyozyten post-MI zu begünstigen und zum anderen durch Einflussnahme auf die MMP-Expression auf kardialen Fibrozyten ein nachteiliges *Remodelling* zu begünstigen scheint. [130]

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass es noch vieler Untersuchungen bedarf, um genauere Einsichten in die beteiligten immunologischen Mechanismen, die das *Remodelling* beeinflussen, zu gewinnen. Die oben beschriebenen pleiotropen Effekte führen zu einer Komplexität.

Frangogiannis et al. sprechen in ihrer Übersichtsarbeit in diesem Zusammenhang von einem dualen Effekt der post-MI Inflammation. Es wird betont, dass sie unabdingbar ist, weil mit ihr die Grundlage für die Narbenbildung geschaffen wird. Zudem ist diese Phase allerdings auch fein und hochkomplex durch immunologische, womöglich noch nicht bis ins letzte Detail verstandene Kaskaden reguliert. Somit können auch schon kleinste Dysregulationen ein eher nachteiliges *Remodelling* verursachen und somit kardiale Funktionseinschränkungen triggern. [58] Die Studienautoren

beziehen sich dabei auf klinische Studien, in denen post-MI die Gabe von Steroiden oder spezifischen Antikörpern zur Inhibition inflammatorischer Kaskaden keinen positiven Effekt auf das *Remodelling* nahm. In diesem Zusammenhang, insbesondere unter Berücksichtigung der Komplexität der zugrundeliegenden immunologischen Kaskaden, schlagen Frangogiannis et al. für die Zukunft einen personalisierten Ansatz vor. Eine einfache Übertragung von tierexperimentellen Studien, die an jungen Tieren durchgeführt werden auf Menschen, die meist erst im hohen Alter einen Infarkt erleiden und womöglich interindividuell unterschiedlich regulierte molekulare und zelluläre Kaskaden voranschreiten, wäre zu vereinfacht. [58]

4.5. Erklärungsansätze und Ausblick

4.5.1. Mikrobiom

In vielen tierexperimentellen sowie klinischen Studien wurde bisher der Einfluss des Mikrobioms auf das kardiovaskuläre Risiko und das *Outcome* nach Eintreten eines kardiovaskulären Ereignisses untersucht. Die Rolle und der Stellenwert eines veränderten Mikrobioms im Rahmen der CED ist bekannt und könnte daher hypothetisch als ein möglicher Einflussfaktor angesehen werden.

Danilo et. al. bezeichnen den Zusammenhang zwischen dem Mikrobiom sowie den über Inflammationsprozesse vermittelten metabolischen Störungen und kardiovaskulären Erkrankungen als ein sich durch aktuelle Forschungsdaten der letzten Jahre abzeichnendes „Paradigma“. [131]

So zeigten Danilo et al. in ihrer Studie bei Mäusen nach Gabe von B420 (*Bifidobacterium animalis subsp. lactis* 420) nach kardialer I/R eine histologisch signifikant kleinere Infarktgröße im Vergleich zu der Gruppe der Kontrolltiere. Die Ergebnisse zeigten sich sowohl bei einem Fütterungsprotokoll über 28 Tage als auch bereits nach einer Gabe von sieben Tagen. Eine immunhistochemische Analyse ergab geringere Mengen an IL-6 im Infarktgebiet in der Gruppe, die zuvor B420 erhalten hatte. [131] Zudem suggerieren die Autoren der Studie einen regulatorischen T-zellabhängigen Mechanismus, da nach Gabe eines CD-25-Antikörpers zur

Depletion der regulatorischen T-Zellen, der kardioprotektive Effekt von B420 aufgehoben wurde. [131]

In einer weiteren Studie zeigte sich bei Ratten nach Vancomycin-Gabe über mindestens 48 Stunden eine geringere Infarktgröße nach kardialer I/R. [132] Die direkte Koronarperfusion mit Vancomycin im in-vitro Modell hatte dabei keinen Einfluss auf die Infarktgröße. Nach Analyse der Blutseren zeigten sich signifikant geringere Leptinspiegel nach Vancomycin-Behandlung im Vergleich zur Kontrollgruppe. Aufgrund der nur geringfügigen enteralen Resorption von Vancomycin vermuten die Autoren einen über eine Modulation der intestinalen Mikroflora vermittelten Effekt. Nach Leptin-Gabe zeigte sich bei den Tieren eine Aufhebung dieses kardioprotektiven Effektes. [132] In einer weiteren Studie der Autoren ergab sich ein ähnlicher kardioprotektiver Effekt auch bei Gabe mehrerer Antibiotika mit geringer Bioverfügbarkeit (Streptomycin, Neomycin, Polymyxin B und Bacitracin) im Vergleich zu Vancomycin mit einem ähnlichen Effekt der Kardioprotektion, wobei die Autoren hier einen geringeren Spiegel unterschiedlicher Aminosäuren als Folge des veränderten enteralen Mikrobioms als Mechanismus ansahen. [133]

Darüber hinaus zeigte sich auch ein protektiver Effekt bei der Gabe des Probiotikums *Lactobacillus rhamnosus* GR-1 sowohl auf die systolische als auch die diastolische linksventrikuläre Funktion bei Ratten mit ischämischer Herzinsuffizienz (*in-vivo* Modell mit vorausgehender insgesamt 6-wöchiger LAD-Ligation). Allerdings zeigten sich in dieser von Gan et al. durchgeführten Studie in den Untersuchungen keine Unterschiede in der Zusammensetzung des intestinalen Mikrobioms nach GR-1 Gabe, sodass hier direkte Effekte des Probiotikums auf das *Remodelling* des ischämischen Myokards von den Autoren suggeriert werden. [134]

Brown et al. bezeichnen das intestinale Mikrobiom in seiner Gesamtheit als „endokrines Organ“ mit weitreichendem Einfluss auf das kardiovaskuläre Risiko. [135] Möglichkeiten der Einflussnahme sind dabei eine metabolische Endotoxinämie, die durch Mediatoren wie IL-1, IL-6 sowie TNF- α entsteht. [116, 136]

Neben den protektiven Effekten kardial zeigt sich auch nach Depletion der intestinalen Mikroflora durch vorausgehende antibiotische Behandlung ein

besseres *Outcome* nach renaler I/R. Die vorliegenden Daten stützen somit die Hypothese einer bedeutenden Rolle des Mikrobioms auf die angeborenen und erworbenen Immunmechanismen, die im Rahmen einer I/R Reaktion eine beträchtliche Rolle spielen. [137] Dies zeigt auch, wie bereits erwähnt, der beobachtete protektive Effekt einer vorausgehenden Probiotika Gabe auf die nachfolgende I/R Schädigung. [138]

Allerdings ist es in diesem Zusammenhang auch wichtig eine differenzierte Rolle des Mikrobioms anzusehen. Zum einen gibt es Studienergebnisse, die den Gedanken eines protektiven *Primings* der Immunität im Rahmen der Abwehr von pathogenen Erregern unterstützen; zum anderen gibt es Daten, die vielmehr eine Aggravation durch eine ungewollte Inflammation wie nach I/R beschreiben. [137, 139]

Wie lassen sich die oben beschriebenen Studiendaten auf das vorliegende Projekt übertragen?

Aus Voruntersuchungen ist bekannt, dass sich auch das Mikrobiom bei mit DSS behandelten Tieren verändert. So zeigt sich bereits in den ersten Beschreibungen des DSS-Modells durch Okayasu et al. sowohl bei akuter als auch bei chronischer Inflammation eine Zunahme der *Bacteroides distasosum* und *Clostridium ramosum* spp., wobei in diesem experimentellen Modell weibliche CBA/J und BALB/c Mäuse genutzt wurden. [82]

Studienergebnisse zeigen, dass bereits nach einem Tag der DSS-Applikation Veränderungen der komensalen Mikroflora mit Reduktion von *Bacteroidetes/Prevotella* und Anstieg von *Bacillaceae* spp. dokumentiert werden können, allerdings zeigt sich auch eine schnelle Normalisierung bereits fünf Tage nach Absetzen der DSS-Gabe. [140]

Zusammenfassend heben die bisherigen Daten aus der Literatur somit die Bedeutung des Mikrobioms im Rahmen der kardialen post-I/R Antwort und auf die Entwicklung einer Herzinsuffizienz aufgrund eines adversen *Remodelling* hervor. Aufgrund von o.g. Daten, die eine rasche Veränderung der Mikroflora bei DSS-Colitis belegen, wäre eine mögliche dadurch bedingte Einflussnahme auf das *Remodelling* nach kardialer I/R denkbar. Untersuchungen, die die Mikroflora in den einzelnen Inflammationsstadien

genauer charakterisieren, wären notwendig, um weitere Aussagen herleiten zu können.

4.5.2. Neurovegetativer Einfluss

Ein möglicher weiterer Erklärungsansatz wäre der neurovegetative Einfluss, der sich bei vorbestehender intestinaler Entzündung im Vergleich zur Kontrollgruppe verändert.

Ein „neuraler Reflex“ als Modulator des postischämischen *Remodelling* wird bereits in der Literatur beschrieben, wobei eine reziproke Beziehung zwischen der Inflammation und einer neurovegetativen, vorwiegend Sympathikus-getriggerten Antwort auf die kardiale Ischämie besteht. [141]

Der Begriff wurde Anfang der 2000er erstmalig geprägt, allerdings im Zusammenhang mit der Beobachtung, dass die Aktivierung parasymphischer Fasern durch Endotoxine oder Zytokine über eine hypothalamisch-adrenale Achse eine Begrenzung der Immunantwort evozieren. [142, 143] Somit stellt der Reflex eine negative Rückkopplung dar, wobei der afferente Arm durch Zytokine einer ausgelösten Immunantwort aktiviert wird, und eine Umschaltung zerebral auf den efferenten Schenkel erfolgt, der periphere Neurone im Bereich der Milz aktiviert und eine Modulation der produzierten Zytokine evoziert.

Molekularer Hintergrund hierfür ist ein zellulärer Acetylcholin-Rezeptor ($\alpha 7$ *nicotinic acetylcholine receptor*, $\alpha 7$ nAChR), welcher in Makrophagen eine intrazelluläre Signalkaskade auslöst. Diese bewirkt die Inhibierung von NF- κ -B-Aktivität und hemmt somit die Expression unterschiedlicher proinflammatorischer Zytokine. [144] Im Mausmodell konnte bei WT-Mäusen eine elektrische Stimulation des Nervus vagus eine Inhibition der TNF- α Produktion auslösen, die allerdings bei $\alpha 7$ -defizienten Mäusen ausblieb. [145] In der Literatur erscheinen unterschiedliche Ansichten, ob der efferente Schenkel dieses Reflexes nun primär parasymphisch oder sympathisch getriggert ist. Allerdings wurden in der Mehrzahl der Studien Nagetiere verwendet, die dominant sympathisch innerviert sind. [146] Somit wurde das initiale Verständnis vom neuronalen Reflex in den letzten Jahren revidiert mit

der Auffassung, dass Neurone des Splanchnikus den efferenten Arm darstellen. [141]

Das womöglich dieser vagale immunsuppressive Mechanismus auch bei der DSS-Colitis eine Rolle spielt, wäre denkbar. So zeigten sich bei C57/BL6 Mäusen mit DSS-Colitis eine höhere Krankheitsaktivität sowie höhere Mengen proinflammatorischer Zytokine wie Il-1 β , Il-6 sowie TNF- α im Gewebe des Colons nach Vagotomie im Vergleich zu der *sham*-operierten Kontrollgruppe ohne Vagotomie. [147] In diesem Sinne könnte bezogen auf die vorliegenden Ergebnisse somit hypothetisch eine erhöhte Aktivität des vagalen Schenkels auch die inflammatorische Reaktion nach kardialer I/R womöglich supprimieren.

Ferner existieren auch hier Daten, die einen neuroimmunologischen Kreislauf der letztlich zur Kardioprotektion führt, erneut basierend auf der „*trained immunity*“ [86] annehmen. So beschreiben Zuurbier et al. in ihrer Übersichtsarbeit zum einen neurohumoralen Weg, bei dem es über die hypothalamisch-hypophysäre-Achse zum Anstieg der Glukokortikoide kommt, die Einfluss auf die genetische Programmierung der angeborenen Immunzellen nehmen. Zum anderen wird beschrieben, dass Neutrophile und natürliche Killerzellen adrenerge Rezeptoren besitzen und auf die Sympathikus-induzierte Erhöhung von Adrenalin sowie Noradrenalin reagieren. [111]

4.6. Limitationen

Die vorliegende Arbeit stellt einen ersten Ansatz zur Untersuchung der Zusammenhänge einer intestinalen Entzündung auf das *Outcome* nach kardialer I/R im Mausmodell dar. Die Entwicklung der Idee sowie die anfängliche Hypothese basierten auf klinischen, kontroversen Daten. Somit war das Ziel der vorliegenden Arbeit, mithilfe von Untersuchungen anhand eines murinen Modells und den daraus ersichtlichen Ergebnissen, einen ersten Denkansatz zu folgern, um basierend auf unseren ersten Erkenntnissen weiterführende Untersuchungen durchzuführen.

Natürlich muss der begrenzte Rahmen, in dem die Erkenntnisse mit klinischen Daten verglichen werden können, betont werden. Es ist allgemeingültig bekannt, dass Erkenntnisse aus der tierexperimentellen Forschung nur unter Vorbehalt auf die komplexen pathophysiologischen Prozesse im menschlichen Organismus übertragbar sind. Bezogen auf die hier bestehende Thematik nennt Jugdutt in „*Cardiac Remodelling*“ grundlegende Vorbehalte, die bei der Interpretation der Ergebnisse bedacht werden sollten. [52]

So zählt dazu zunächst der grundlegende Unterschied der pathophysiologischen Entstehung des Infarktes. Während der myokardialen Ischämie beim Menschen häufig eine Inflammation einer atherosklerotischen Plaque mit darauffolgender Plaqueruptur sowie thrombotischem Gefäßverschluss zugrunde liegt, fehlt im Mausmodell von vornherein diese zentrale inflammatorische Komponente. Somit sind die Aussagen, die wir bezüglich der Bedeutung der Inflammation im Gesamtzusammenhang suggerieren, beim Menschen womöglich in einem ganz anderen Ausmaß vertreten. Ein weiterer Aspekt, der angesprochen wird, ist die Tatsache, dass Myokardinfarkte größtenteils ältere Menschen betreffen, wohingegen die tierexperimentellen Ergebnisse von Jungtieren stammen. [52]

Zudem muss bedacht werden, dass es „spezies-spezifische“ Unterschiede in Inflammation und zellulärer Antwort im Rahmen des *Remodelling* gibt, wenn man tierexperimentelle Arbeiten an Mäusen und Hunden vergleicht. Diese Erkenntnisse betonen, dass Ergebnisse des Mausmodells nur bedingt und mit Skepsis auf den Menschen übertragbar sind. Ein Beispiel hierfür ist das „*match to collagen plateau*“, welches bei größeren Spezies nach einer längeren Dauer erst erreicht wird. [52]

Die o.g. Aspekte betonen erneut die Bedeutung einer differenzierten Interpretation der Ergebnisse der Grundlagenforschung, insbesondere bei solch einem komplexen Thema des *Remodelling*, in dem molekulare, zelluläre sowie subzelluläre Mechanismen ineinandergreifen und sich gegenseitig bedingen. So haben bisherige Versuche tierexperimentelle antiinflammatorische Strategien zur Reduktion der Infarktgröße nach I/R in klinischen kleinen Studien keine Erfolge erbracht. [53]

Darüber hinaus müssen die Grenzen des DSS-Modells selbst betrachtet werden. Im DSS-Modell wird eine Colitis induziert, die vor allem das angeborene Immunsystem betrifft. Vor allem B-Zellen sind eher hintergründig dabei beteiligt, was bei der Interpretation der Ergebnisse bedacht werden muss. [39]

Im Hinblick auf die statistische Auswertung der Ergebnisse und ihrer Signifikanz ist darüber hinaus zu bedenken, dass aufgrund von interindividueller Variabilität eine größere Fallzahl notwendig ist. Nach Chassaing et al. mindestens fünf bis zehn Tiere pro Behandlungsgruppe, um den Effekt der Unterschiede in Bezug auf die Krankheitsaktivität auszugleichen. [39]

Zur weiterführenden Betrachtung der Fragestellung wären weitere sowohl histologische Untersuchungen zur Quantifizierung dieses Effektes sowie zur Untersuchung möglicher Ursachen möglich.

Die histologische Auswertung betreffend könnten zusätzlich Untersuchungen der Infarkt Narben und deren –größen zu Zeitpunkten über drei Wochen post-MI hinaus erfolgen, um die Myokardnarbe im zeitlichen Verlauf zu charakterisieren, und insbesondere Aussagen über mögliche Unterschiede in den einzelnen Phasen der Inflammation und Fibrose zu treffen. Zusätzlich könnte die Charakterisierung der Infiltration mit unterschiedlichen Entzündungszellen durch immunhistochemische Methoden und die Untersuchung des Aufbaus und Bestands der Kollagen Narbe erfolgen. Wie bereits erwähnt sollte ein weiteres Augenmerk auf die Histologie der infarkt Narben ferneren myokardialen Areale gelegt werden. Ein weiterer Aspekt, der in der vorliegenden Arbeit nicht untersucht wurde, stellt die Vaskularisation insbesondere im Bereich der Infarktgrenzzone mit ihrem kurz- und langfristigen Einfluss auf das kardiale *Remodelling* dar.

Darüber hinaus wäre es in Zukunft insbesondere interessant in Hinblick darauf, um eine Aussage über die Signifikanz der generalisierten Inflammation zu treffen, mögliche Unterschiede sowohl in der lokalen Inflammationsreaktion als auch in der generalisierten Inflammationsreaktion zu eruieren. Beispielhaft könnten histochemisch Unterschiede in der Infiltration der Entzündungszellen in den einzelnen intestinalen Entzündungsphasen sowohl intestinal als auch myokardial erfolgen. Zudem

könnte zur Charakterisierung der allgemeinen Inflammation laborchemische sowohl allgemeiner Entzündungsparameter im Serum als auch Differenzialblutbilder und im Hinblick auf die These eines neuroendokrinen Einflusses auch Katecholaminspiegel bestimmt werden.

4.7. Schlussfolgerungen und Ausblick

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit bieten einen ersten Hinweis auf die Betrachtung des Einflusses der einzelnen Inflamationsstadien des Colons auf das kardiale post-I/R *Remodelling*. Wir beschränkten uns dabei auf histologische Kriterien wie die Infarktnebengröße und –ausdehnung, den mittleren Kollagengehalt sowie die morphologische Dilatation des linken Ventrikels. Es ließ sich ein Trend zu einem protektiven Effekt einer zugrundeliegenden Colitis im subakuten Entzündungsstadium und in der beginnenden Remission auf das *Remodelling* nach I/R beobachten.

Weitere Erkenntnisse in diesem Gebiet könnten klinisch zum einen zur genaueren Charakterisierung vom allgemeinen kardiovaskulären Risiko bei Patienten mit CED und Aufstellung von Risikostratifizierungen genutzt werden.

Ferner könnten Beobachtungen der Bedeutung des differenzierten Einflusses unterschiedlicher Inflamationsstadien auf das kardiale *Remodelling* wichtige Hinweise zur Etablierung gezielter anti-inflammatorischer Therapien nach Myokardinfarkt liefern.

Literaturverzeichnis

1. Bigeh, A., et al., *Inflammatory bowel disease and the risk for cardiovascular disease: Does all inflammation lead to heart disease?* Trends in Cardiovascular Medicine, 2019.
2. Hansson, G.K., *Inflammation, Atherosclerosis, and Coronary Artery Disease*. New England Journal of Medicine, 2005. **352**(16): p. 1685-1695.
3. Arida, A., et al., *Systemic Inflammatory Response and Atherosclerosis: The Paradigm of Chronic Inflammatory Rheumatic Diseases*. International journal of molecular sciences, 2018. **19**(7): p. 1890.
4. Filimon, A.M., et al., *Cardiovascular involvement in inflammatory bowel disease: Dangerous liaisons*. World J Gastroenterol, 2015. **21**(33): p. 9688-92.
5. Fumery, M., et al., *Thromboembolic events and cardiovascular mortality in inflammatory bowel diseases: a meta-analysis of observational studies*. J Crohns Colitis, 2014. **8**(6): p. 469-79.
6. Singh, S., et al., *Risk of cerebrovascular accidents and ischemic heart disease in patients with inflammatory bowel disease: a systematic review and meta-analysis*. Clin Gastroenterol Hepatol, 2014. **12**(3): p. 382-93.e1: quiz e22.
7. Kristensen, S.L., et al., *Prognosis after first-time myocardial infarction in patients with inflammatory bowel disease according to disease activity: nationwide cohort study*. Circ Cardiovasc Qual Outcomes, 2014. **7**(6): p. 857-62.
8. Aggarwal, A., et al., *Conventional risk factors and cardiovascular outcomes of patients with inflammatory bowel disease with confirmed coronary artery disease*. Inflamm Bowel Dis, 2014. **20**(9): p. 1593-601.
9. Barnes, E.L., et al., *Hospitalizations for Acute Myocardial Infarction Are Decreased Among Patients with Inflammatory Bowel Disease Using a Nationwide Inpatient Database*. Inflamm Bowel Dis, 2016. **22**(9): p. 2229-37.
10. Ha, C., et al., *Risk of arterial thrombotic events in inflammatory bowel disease*. Am J Gastroenterol, 2009. **104**(6): p. 1445-51.
11. Mitu, O., et al., *Is there a cardiovascular risk in inflammatory bowel diseases?* Rev Med Chir Soc Med Nat Iasi, 2014. **118**(4): p. 918-23.
12. Wu, P., et al., *Risk of cardiovascular disease in inflammatory bowel disease*. Exp Ther Med, 2017. **13**(2): p. 395-400.
13. Kaser, A., S. Zeissig, and R.S. Blumberg, *Inflammatory bowel disease*. Annu Rev Immunol, 2010. **28**: p. 573-621.
14. Abraham, C. and J.H. Cho, *Inflammatory bowel disease*. N Engl J Med, 2009. **361**(21): p. 2066-78.
15. Harrison, T.R., *Harrisons Innere Medizin*. [Elektronische Ressource], ed. T.R. Harrison, et al. 2020, Stuttgart: Thieme.
16. Windsor, J.W. and G.G. Kaplan, *Evolving Epidemiology of IBD*. Curr Gastroenterol Rep, 2019. **21**(8): p. 40.
17. Vegh, Z., Z. Kurti, and P.L. Lakatos, *Epidemiology of inflammatory bowel diseases from west to east*. J Dig Dis, 2017. **18**(2): p. 92-98.

18. Thia, K.T., et al., *An update on the epidemiology of inflammatory bowel disease in Asia*. Am J Gastroenterol, 2008. **103**(12): p. 3167-82.
19. Herold, G., Hg. , *Innere Medizin. eine vorlesungsorientierte Darstellung : 2015 : unter Berücksichtigung des Gegenstandskataloges für die Ärztliche Prüfung, mit ICD 10-Schlüssel im Text und Stichwortverzeichnis*. 2015, Köln: Gerd Herold.
20. Halme, L., et al., *Family and twin studies in inflammatory bowel disease*. World journal of gastroenterology, 2006. **12**(23): p. 3668-3672.
21. Zhang, Y.-Z. and Y.-Y. Li, *Inflammatory bowel disease: pathogenesis*. World journal of gastroenterology, 2014. **20**(1): p. 91-99.
22. Mathew, C.G. and C.M. Lewis, *Genetics of inflammatory bowel disease: progress and prospects*. Human Molecular Genetics, 2004. **13**(suppl_1): p. R161-R168.
23. Geremia, A., et al., *Innate and adaptive immunity in inflammatory bowel disease*. Autoimmun Rev, 2014. **13**(1): p. 3-10.
24. Targan, S.R. and L.C. Karp, *Defects in mucosal immunity leading to ulcerative colitis*. Immunol Rev, 2005. **206**: p. 296-305.
25. Blaut, M., *Intestinales Mikrobiom*. Der Diabetologe, 2016. **12**(6): p. 386-393.
26. Bäckhed, F., et al., *Defining a healthy human gut microbiome: current concepts, future directions, and clinical applications*. Cell Host Microbe, 2012. **12**(5): p. 611-22.
27. Carmody, R.N., et al., *Diet dominates host genotype in shaping the murine gut microbiota*. Cell Host Microbe, 2015. **17**(1): p. 72-84.
28. David, L.A., et al., *Diet rapidly and reproducibly alters the human gut microbiome*. Nature, 2014. **505**(7484): p. 559-563.
29. Dave, M., et al., *The human gut microbiome: current knowledge, challenges, and future directions*. Transl Res, 2012. **160**(4): p. 246-57.
30. Parada Venegas, D., et al., *Short Chain Fatty Acids (SCFAs)-Mediated Gut Epithelial and Immune Regulation and Its Relevance for Inflammatory Bowel Diseases*. Front Immunol, 2019. **10**: p. 277.
31. Barko, P.C., et al., *The Gastrointestinal Microbiome: A Review*. Journal of veterinary internal medicine, 2018. **32**(1): p. 9-25.
32. Hufnagl, K., et al., *Dysbiosis of the gut and lung microbiome has a role in asthma*. Seminars in immunopathology, 2020. **42**(1): p. 75-93.
33. Hsiao, E.Y., et al., *Microbiota modulate behavioral and physiological abnormalities associated with neurodevelopmental disorders*. Cell, 2013. **155**(7): p. 1451-63.
34. Franzosa, E.A., et al., *Gut microbiome structure and metabolic activity in inflammatory bowel disease*. Nature microbiology, 2019. **4**(2): p. 293-305.
35. Xavier, R.J. and D.K. Podolsky, *Unravelling the pathogenesis of inflammatory bowel disease*. Nature, 2007. **448**(7152): p. 427-434.
36. Artis, D., *Epithelial-cell recognition of commensal bacteria and maintenance of immune homeostasis in the gut*. Nature Reviews Immunology, 2008. **8**(6): p. 411-420.
37. McDermott, A.J. and G.B. Huffnagle, *The microbiome and regulation of mucosal immunity*. Immunology, 2014. **142**(1): p. 24-31.

38. Rakoff-Nahoum, S., et al., *Recognition of commensal microflora by toll-like receptors is required for intestinal homeostasis*. Cell, 2004. **118**(2): p. 229-41.
39. Chassaing, B., et al., *Dextran sulfate sodium (DSS)-induced colitis in mice*. Curr Protoc Immunol, 2014. **104**: p. Unit 15.25.
40. Abraham, C. and J. Cho, *Interleukin-23/Th17 pathways and inflammatory bowel disease*. Inflamm Bowel Dis, 2009. **15**(7): p. 1090-100.
41. Thygesen, K., et al., *Fourth Universal Definition of Myocardial Infarction (2018)*. Circulation, 2018. **138**(20): p. e618-e651.
42. Achenbach, S., et al., *Kommentar zu den Leitlinien der Europäischen Gesellschaft für Kardiologie (ESC) zur Diagnostik und Therapie des akuten Koronarsyndroms ohne persistierende ST-Streckenhebung*. Der Kardiologe, 2012. **6**(4): p. 283-301.
43. Roth, G.A., et al., *Global, Regional, and National Burden of Cardiovascular Diseases for 10 Causes, 1990 to 2015*. Journal of the American College of Cardiology, 2017. **70**(1): p. 1-25.
44. Frangogiannis, N.G., *The immune system and cardiac repair*. Pharmacological research, 2008. **58**(2): p. 88-111.
45. Moran, A.E., et al., *Temporal trends in ischemic heart disease mortality in 21 world regions, 1980 to 2010: the Global Burden of Disease 2010 study*. Circulation, 2014. **129**(14): p. 1483-92.
46. Chew, D.S., et al., *Change in Left Ventricular Ejection Fraction Following First Myocardial Infarction and Outcome*. JACC: Clinical Electrophysiology, 2018. **4**(5): p. 672-682.
47. White, H.D., et al., *Left ventricular end-systolic volume as the major determinant of survival after recovery from myocardial infarction*. Circulation, 1987. **76**(1): p. 44-51.
48. Gajarsa, J.J. and R.A. Kloner, *Left ventricular remodeling in the post-infarction heart: a review of cellular, molecular mechanisms, and therapeutic modalities*. Heart Failure Reviews, 2011. **16**(1): p. 13-21.
49. Jennings, R.B. and K.A. Reimer, *The cell biology of acute myocardial ischemia*. Annu Rev Med, 1991. **42**: p. 225-46.
50. *Repetitorium Pathologie : mit 184 Tabellen*. 2., vollst. überarb. Aufl. ed. 2008, Elsevier, Urban & Fischer: München ; Jena. XX, 563 S.
51. Cohn, J.N., R. Ferrari, and N. Sharpe, *Cardiac remodeling—concepts and clinical implications: a consensus paper from an international forum on cardiac remodeling*. Journal of the American College of Cardiology, 2000. **35**(3): p. 569.
52. Jugdutt, B.I. and N.S. Dhalla, *Cardiac Remodeling*. Advances in Biochemistry in Health and Disease. 2013, New York: Springer, New York, NY.
53. Frangogiannis, N.G., *The inflammatory response in myocardial injury, repair, and remodelling*. Nature Reviews Cardiology, 2014. **11**(5): p. 255-265.
54. Richardson, W.J., et al., *Physiological Implications of Myocardial Scar Structure*. Comprehensive Physiology, 2015. **5**(4): p. 1877-1909.
55. Liehn, E.A., et al., *Repair After Myocardial Infarction, Between Fantasy and Reality: The Role of Chemokines*. Journal of the American College of Cardiology, 2011. **58**(23): p. 2357-2362.

56. Prabhu, S.D. and N.G. Frangogiannis, *The Biological Basis for Cardiac Repair After Myocardial Infarction: From Inflammation to Fibrosis*. *Circ Res*, 2016. **119**(1): p. 91-112.
57. Fang, L., et al., *Systemic inflammatory response following acute myocardial infarction*. *Journal of geriatric cardiology : JGC*, 2015. **12**(3): p. 305-312.
58. Frangogiannis, N.G., *The immune system and the remodeling infarcted heart: cell biological insights and therapeutic opportunities*. *Journal of cardiovascular pharmacology*, 2014. **63**(3): p. 185-195.
59. Gwechenberger, M., et al., *Cardiac myocytes produce interleukin-6 in culture and in viable border zone of reperfused infarctions*. *Circulation*, 1999. **99**(4): p. 546-51.
60. Frangogiannis, Nikolaos G., *The Reparative Function of Cardiomyocytes in the Infarcted Myocardium*. *Cell Metabolism*, 2015. **21**(6): p. 797-798.
61. Schuh, A., et al., *Transplantation of endothelial progenitor cells improves neovascularization and left ventricular function after myocardial infarction in a rat model*. *Basic Res Cardiol*, 2008. **103**(1): p. 69-77.
62. Turner, N.A., *Effects of interleukin-1 on cardiac fibroblast function: Relevance to post-myocardial infarction remodelling*. *Vascular Pharmacology*, 2014. **60**(1): p. 1-7.
63. Yang, Y., et al., *The emerging role of Toll-like receptor 4 in myocardial inflammation*. *Cell Death Dis*, 2016. **7**(5): p. e2234.
64. Schiopu, A. and O.S. Cotoi, *S100A8 and S100A9: DAMPs at the crossroads between innate immunity, traditional risk factors, and cardiovascular disease*. *Mediators Inflamm*, 2013. **2013**: p. 828354.
65. Avlas, O., et al., *Toll-like receptor 4 stimulation initiates an inflammatory response that decreases cardiomyocyte contractility*. *Antioxid Redox Signal*, 2011. **15**(7): p. 1895-909.
66. Shishido, T., et al., *Toll-like receptor-2 modulates ventricular remodeling after myocardial infarction*. *Circulation*, 2003. **108**(23): p. 2905-10.
67. Haas, B., et al., *Adenosine Reduces Cell Surface Expression of Toll-Like Receptor 4 and Inflammation in Response to Lipopolysaccharide and Matrix Products*. *Journal of Cardiovascular Translational Research*, 2011. **4**(6): p. 790-800.
68. Liu, L., et al., *Up-regulated TLR4 in cardiomyocytes exacerbates heart failure after long-term myocardial infarction*. *J Cell Mol Med*, 2015. **19**(12): p. 2728-40.
69. Niu, J., et al., *MCP-1-induced protein attenuates post-infarct cardiac remodeling and dysfunction through mitigating NF- κ B activation and suppressing inflammation-associated microRNA expression*. *Basic Res Cardiol*, 2015. **110**(3): p. 26.
70. Dobaczewski, M., C. Gonzalez-Quesada, and N.G. Frangogiannis, *The extracellular matrix as a modulator of the inflammatory and reparative response following myocardial infarction*. *J Mol Cell Cardiol*, 2010. **48**(3): p. 504-11.
71. Frangogiannis, N.G., *Inflammation in cardiac injury, repair and regeneration*. *Curr Opin Cardiol*, 2015. **30**(3): p. 240-5.
72. Roman, M.J., et al., *Prevalence and correlates of accelerated atherosclerosis in systemic lupus erythematosus*. *N Engl J Med*, 2003. **349**(25): p. 2399-406.

73. Aniwan, S., et al., *Increased Risk of Acute Myocardial Infarction and Heart Failure in Patients With Inflammatory Bowel Diseases*. *Clinical gastroenterology and hepatology : the official clinical practice journal of the American Gastroenterological Association*, 2018. **16**(10): p. 1607-1615.e1.
74. Ridker, P.M., et al., *Antiinflammatory Therapy with Canakinumab for Atherosclerotic Disease*. *N Engl J Med*, 2017. **377**(12): p. 1119-1131.
75. Osterman, M.T., et al., *No increased risk of myocardial infarction among patients with ulcerative colitis or Crohn's disease*. *Clin Gastroenterol Hepatol*, 2011. **9**(10): p. 875-80.
76. Sridhar, A.R.M., et al., *Comprehensive study of cardiovascular morbidity in hospitalized inflammatory bowel disease patients*. *Journal of Crohn's and Colitis*, 2011. **5**(4): p. 287-294.
77. Kristensen, S.L., et al., *Disease activity in inflammatory bowel disease is associated with increased risk of myocardial infarction, stroke and cardiovascular death--a Danish nationwide cohort study*. *PLoS One*, 2013. **8**(2): p. e56944.
78. Ehrenpreis, E.D., et al., *Effect of the Diagnosis of Inflammatory Bowel Disease on Risk-Adjusted Mortality in Hospitalized Patients with Acute Myocardial Infarction, Congestive Heart Failure and Pneumonia*. *PLoS One*, 2016. **11**(7): p. e0158926.
79. Bunu, D.-M., et al., *Cardiovascular Manifestations of Inflammatory Bowel Disease: Pathogenesis, Diagnosis, and Preventive Strategies*. *Gastroenterology research and practice*, 2019. **2019**: p. 3012509-3012509.
80. Cincin, A., et al., *Evaluation of Cardiac Function by Two-Dimensional Speckle Tracking Echocardiography in Ulcerative Colitis Patients*. *Digestive Diseases and Sciences*, 2014. **59**(12): p. 3004-3011.
81. Eichele, D.D. and K.K. Kharbanda, *Dextran sodium sulfate colitis murine model: An indispensable tool for advancing our understanding of inflammatory bowel diseases pathogenesis*. *World J Gastroenterol*, 2017. **23**(33): p. 6016-6029.
82. Okayasu, I., et al., *A novel method in the induction of reliable experimental acute and chronic ulcerative colitis in mice*. *Gastroenterology*, 1990. **98**(3): p. 694-702.
83. Alturkistani, H.A., F.M. Tashkandi, and Z.M. Mohammedsaleh, *Histological Stains: A Literature Review and Case Study*. *Glob J Health Sci*, 2016. **8**(3): p. 72-9.
84. Titford, M., *Progress in the Development of Microscopical Techniques for Diagnostic Pathology*. *Journal of Histotechnology*, 2009. **32**(1): p. 9-19.
85. Howat, W.J. and B.A. Wilson, *Tissue fixation and the effect of molecular fixatives on downstream staining procedures*. *Methods (San Diego, Calif.)*, 2014. **70**(1): p. 12-19.
86. Netea, M.G., et al., *Trained immunity: A program of innate immune memory in health and disease*. *Science (New York, N.Y.)*, 2016. **352**(6284): p. aaf1098-aaf1098.
87. Yang, F., et al., *Myocardial infarction and cardiac remodelling in mice*. *Exp Physiol*, 2002. **87**(5): p. 547-55.

88. Westman Peter, C., et al., *Inflammation as a Driver of Adverse Left Ventricular Remodeling After Acute Myocardial Infarction*. Journal of the American College of Cardiology, 2016. **67**(17): p. 2050-2060.
89. Christia, P., et al., *Systematic characterization of myocardial inflammation, repair, and remodeling in a mouse model of reperfused myocardial infarction*. The journal of histochemistry and cytochemistry : official journal of the Histochemistry Society, 2013. **61**(8): p. 555-570.
90. Yan, X., et al., *Temporal dynamics of cardiac immune cell accumulation following acute myocardial infarction*. J Mol Cell Cardiol, 2013. **62**: p. 24-35.
91. Hilfiker-Kleiner, D., et al., *Continuous glycoprotein-130-mediated signal transducer and activator of transcription-3 activation promotes inflammation, left ventricular rupture, and adverse outcome in subacute myocardial infarction*. Circulation, 2010. **122**(2): p. 145-55.
92. Saxena, A., I. Russo, and N.G. Frangogiannis, *Inflammation as a therapeutic target in myocardial infarction: learning from past failures to meet future challenges*. Translational Research, 2016. **167**(1): p. 152-166.
93. Sun, J., et al., *Improvement in cardiac function after bone marrow cell therapy is associated with an increase in myocardial inflammation*. American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology, 2009. **296**(1): p. H43-H50.
94. Frangogiannis, N.G., et al., *Critical role of monocyte chemoattractant protein-1/CC chemokine ligand 2 in the pathogenesis of ischemic cardiomyopathy*. Circulation, 2007. **115**(5): p. 584-92.
95. Rieder, F. and C. Fiocchi, *Intestinal fibrosis in IBD—a dynamic, multifactorial process*. Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology, 2009. **6**(4): p. 228-235.
96. Marra, F., et al., *Mononuclear cells in liver fibrosis*. Seminars in Immunopathology, 2009. **31**(3): p. 345.
97. Yang, F., et al., *Th1/Th2 Balance and Th17/Treg-Mediated Immunity in relation to Murine Resistance to Dextran Sulfate-Induced Colitis*. Journal of immunology research, 2017. **2017**: p. 7047201-7047201.
98. Alex, P., et al., *Distinct Cytokine Patterns Identified from Multiplex Profiles of Murine DSS and TNBS-Induced Colitis*. Inflammatory Bowel Diseases, 2009. **15**(3): p. 341-352.
99. Sudmann, J., *Ischämie und Reperfusion am Beispiel des thrombozytenspezifischen Knockouts des CXCR7 Chemokinrezeptors, in LMU München*. 2019.
100. Hausenloy, D.J., et al., *The coronary circulation in acute myocardial ischaemia/reperfusion injury: a target for cardioprotection*. Cardiovascular Research, 2019. **115**(7): p. 1143-1155.
101. Collins, C.E., et al., *Platelets circulate in an activated state in inflammatory bowel disease*. Gastroenterology, 1994. **106**(4): p. 840-845.
102. Yan, S.L.S., et al., *Platelet Abnormalities during Colonic Inflammation*. Inflammatory Bowel Diseases, 2013. **19**(6): p. 1245-1253.
103. Hausenloy, D.J. and D.M. Yellon, *The therapeutic potential of ischemic conditioning: an update*. Nat Rev Cardiol, 2011. **8**(11): p. 619-29.

104. Hausenloy, D. and S. Lim, *Remote Ischemic Conditioning: From Bench to Bedside*. *Frontiers in Physiology*, 2012. **3**(27).
105. Billah, M., et al., *Circulating mediators of remote ischemic preconditioning: search for the missing link between non-lethal ischemia and cardioprotection*. *Oncotarget*, 2019. **10**(2): p. 216-244.
106. Li, Q., et al., *P4758 Experimental colitis impedes cardiac function through epigenetic mechanisms*. *European Heart Journal*, 2018. **39**(suppl_1).
107. Zakrojsky, P., et al., *Steroid exposure, acute coronary syndrome, and inflammatory bowel disease: insights into the inflammatory milieu*. *The American journal of medicine*, 2015. **128**(3): p. 303-311.
108. Courties, G., M.A. Moskowitz, and M. Nahrendorf, *The innate immune system after ischemic injury: lessons to be learned from the heart and brain*. *JAMA Neurol*, 2014. **71**(2): p. 233-6.
109. Kalogeris, T., et al., *Ischemia/Reperfusion*. *Compr Physiol*, 2016. **7**(1): p. 113-170.
110. Van Linthout, S. and C. Tschöpe, *Inflammation - Cause or Consequence of Heart Failure or Both?* *Curr Heart Fail Rep*, 2017. **14**(4): p. 251-265.
111. Zuurbier, C.J., et al., *Innate immunity as a target for acute cardioprotection*. *Cardiovascular Research*, 2019. **115**(7): p. 1131-1142.
112. Naik, S., et al., *Inflammatory memory sensitizes skin epithelial stem cells to tissue damage*. *Nature*, 2017. **550**(7677): p. 475-480.
113. Hajishengallis, G., et al., *Trained Innate Immunity and Its Implications for Mucosal Immunity and Inflammation*. *Advances in experimental medicine and biology*, 2019. **1197**: p. 11-26.
114. Seta, Y., et al., *Basic mechanisms in heart failure: the cytokine hypothesis*. *J Card Fail*, 1996. **2**(3): p. 243-9.
115. Stanciu, A.E., *Cytokines in heart failure*. *Adv Clin Chem*, 2019. **93**: p. 63-113.
116. Anker, S.D. and S. von Haehling, *Inflammatory mediators in chronic heart failure: an overview*. *Heart*, 2004. **90**(4): p. 464-70.
117. von Haehling, S., E.A. Jankowska, and S.D. Anker, *Tumour necrosis factor-alpha and the failing heart--pathophysiology and therapeutic implications*. *Basic Res Cardiol*, 2004. **99**(1): p. 18-28.
118. Mann, D.L., *Innate immunity and the failing heart: the cytokine hypothesis revisited*. *Circ Res*, 2015. **116**(7): p. 1254-68.
119. Vidal-Lletjós, S., et al., *Mucosal healing progression after acute colitis in mice*. *World journal of gastroenterology*, 2019. **25**(27): p. 3572-3589.
120. Ruisong, M., et al., *The Protective Role of Interleukin-33 in Myocardial Ischemia and Reperfusion Is Associated with Decreased HMGB1 Expression and Up-Regulation of the P38 MAPK Signaling Pathway*. *PLoS one*, 2015. **10**(11): p. e0143064-e0143064.
121. Seki, K., et al., *Interleukin-33 Prevents Apoptosis and Improves Survival After Experimental Myocardial Infarction Through ST2 Signaling*. *Circulation: Heart Failure*, 2009. **2**(6): p. 684-691.
122. Hoshida, S., et al., *Repeated physiologic stresses provide persistent cardioprotection against ischemia-reperfusion injury in rats*. *J Am Coll Cardiol*, 2002. **40**(4): p. 826-31.
123. Kurrelmeyer, K.M., et al., *Endogenous tumor necrosis factor protects the adult cardiac myocyte against ischemic-induced apoptosis in a murine*

- model of acute myocardial infarction*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2000. **97**(10): p. 5456-61.
124. Asgeri, M., et al., *Dual effects of tumor necrosis factor alpha on myocardial injury following prolonged hypoperfusion of the heart*. Immunological Investigations, 2015. **44**(1): p. 23-35.
 125. Borshchev, Y.Y., et al., *Effects of tetracycline on myocardial infarct size in obese rats with chemically-induced colitis*. PLoS One, 2019. **14**(11): p. e0225185.
 126. Frangogiannis, N.G., *Regulation of the inflammatory response in cardiac repair*. Circulation research, 2012. **110**(1): p. 159-173.
 127. Perse, M. and A. Cerar, *Dextran sodium sulphate colitis mouse model: traps and tricks*. J Biomed Biotechnol, 2012. **2012**: p. 718617.
 128. Alex, P., et al., *Distinct Cytokine Patterns Identified from Multiplex Profiles of Murine DSS and TNBS-Induced Colitis*. Inflammatory Bowel Diseases, 2008. **15**(3): p. 341-352.
 129. Yan, Y., et al., *Temporal and spatial analysis of clinical and molecular parameters in dextran sodium sulfate induced colitis*. PloS one, 2009. **4**(6): p. e6073-e6073.
 130. Bujak, M. and N.G. Frangogiannis, *The role of IL-1 in the pathogenesis of heart disease*. Arch Immunol Ther Exp (Warsz), 2009. **57**(3): p. 165-76.
 131. Danilo, C.A., et al., *Bifidobacterium animalis subsp. lactis 420 mitigates the pathological impact of myocardial infarction in the mouse*. Beneficial microbes, 2017. **8**(2): p. 257-269.
 132. Lam, V., et al., *Intestinal microbiota determine severity of myocardial infarction in rats*. FASEB journal : official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology, 2012. **26**(4): p. 1727-1735.
 133. Lam, V., et al., *Intestinal Microbial Metabolites Are Linked to Severity of Myocardial Infarction in Rats*. PloS one, 2016. **11**(8): p. e0160840-e0160840.
 134. Gan, X.T., et al., *Probiotic administration attenuates myocardial hypertrophy and heart failure after myocardial infarction in the rat*. Circ Heart Fail, 2014. **7**(3): p. 491-9.
 135. Brown, J.M. and S.L. Hazen, *The gut microbial endocrine organ: bacterially derived signals driving cardiometabolic diseases*. Annu Rev Med, 2015. **66**: p. 343-59.
 136. Jia, Q., et al., *Role and Effective Therapeutic Target of Gut Microbiota in Heart Failure*. Cardiovascular therapeutics, 2019. **2019**: p. 5164298-5164298.
 137. Emal, D., et al., *Depletion of Gut Microbiota Protects against Renal Ischemia-Reperfusion Injury*. J Am Soc Nephrol, 2017. **28**(5): p. 1450-1461.
 138. Ding, C., et al., *Probiotics ameliorate renal ischemia-reperfusion injury by modulating the phenotype of macrophages through the IL-10/GSK-3 β /PTEN signaling pathway*. Pflugers Arch, 2019. **471**(4): p. 573-581.
 139. Schuijt, T.J., et al., *The gut microbiota plays a protective role in the host defence against pneumococcal pneumonia*. Gut, 2016. **65**(4): p. 575-83.
 140. De Fazio, L., et al., *Longitudinal analysis of inflammation and microbiota dynamics in a model of mild chronic dextran sulfate sodium-induced colitis in mice*. World J Gastroenterol, 2014. **20**(8): p. 2051-61.

141. Martelli, D., D.G. Farmer, and S.T. Yao, *The splanchnic anti-inflammatory pathway: could it be the efferent arm of the inflammatory reflex?* Exp Physiol, 2016. **101**(10): p. 1245-1252.
142. Tracey, K.J., *The inflammatory reflex.* Nature, 2002. **420**(6917): p. 853-859.
143. Borovikova, L.V., et al., *Vagus nerve stimulation attenuates the systemic inflammatory response to endotoxin.* Nature, 2000. **405**(6785): p. 458-62.
144. Andersson, U. and K.J. Tracey, *Reflex principles of immunological homeostasis.* Annu Rev Immunol, 2012. **30**: p. 313-35.
145. Wang, H., et al., *Nicotinic acetylcholine receptor $\alpha 7$ subunit is an essential regulator of inflammation.* Nature, 2003. **421**(6921): p. 384-388.
146. Uitterdijk, A., et al., *Vagal nerve stimulation started just prior to reperfusion limits infarct size and no-reflow.* Basic Research in Cardiology, 2015. **110**(5): p. 51.
147. Ghia, J.E., et al., *The Vagus Nerve: A Tonic Inhibitory Influence Associated With Inflammatory Bowel Disease in a Murine Model.* Gastroenterology, 2006. **131**(4): p. 1122-1130.

Danksagung

Nun möchte ich mich bei allen Personen bedanken, die mich bei der Anfertigung der Arbeit unterstützt haben.

An erster Stelle gilt mein Dank Frau Prof. Dr. med. Maria Grandoch für die langjährige Betreuung, die Inspiration und die jederzeit wertvollen Tipps und Ratschläge.

Ich danke dem Institut für Pharmakologie unter der Leitung von Herrn Prof. Dr. Jens Fischer für die Ermöglichung der Arbeit. Vielen Dank an die Mitarbeiter im Institut. Insbesondere möchte ich mich bei Frau Dr. Yanina Ostendorf und Frau Dr. Anne Petz für die Hilfestellungen bedanken. Herzlich möchte ich mich bei Frau Annika Zimmermann für die gute Einarbeitung im Labor und die Unterstützung bei den histologischen Arbeiten bedanken.

Mein größter Dank gebührt meiner Familie. Ihr danke ich von ganzem Herzen für die immerwährende Unterstützung, die Ermutigungen und die Zuversicht.