

## 6. Zusammenfassung

Alexander Usselmann:

Die Bedeutung der Matrix-Metalloproteinasen-3 und -8 und des  $\alpha_4\beta_1$ -Integrins (VLA-4) in der Transplantatvaskulopathie im Modell der heterotopen Herztransplantation in der Ratte.

Die Ziele der in dieser Arbeit durchgeführten Versuche waren die Untersuchung der Bedeutung des "very-late-activation-4-integrin" (VLA-4) und der Matrix-Metalloproteinasen (MMP)-3 und -8 in der Transplantatvaskulopathie (TVP) im Modell der heterotopen Herztransplantation in der Ratte. Zu diesem Zweck wurden ein VLA-4-Rezeptor-Antagonist und ein MMP-3/8-Inhibitor an zuvor herztransplantierten Ratten getestet. Dieser Substanzstudie ging eine Etablierungsstudie voraus, um ein klinisch relevantes Tiermodell der TVP zu erhalten.

In den Gruppen der Etablierungsstudie wurden zwei unterschiedliche Applikationstechniken des Immunsuppressivums Cyclosporin A (CSA) getestet, wobei eine TVP in allen Gruppen der Etablierungsstudie gefunden werden konnte. In der Ausprägung der TVP konnte in den verschiedenen Applikationstechniken kein Unterschied gesehen werden. Daher wurde für die folgende Substanzstudie die Kombination aus subcutaner und oraler Darreichungsform des CSA gewählt, die der klinischen Situation des humanen Patienten mehr entspricht als die ausschließlich subcutane Applikationsform.

Der VLA-4-Rezeptor-Antagonist konnte in der gewählten Dosis nicht die erwünschte Wirkung im Modell der heterotopen Herztransplantation in der Ratte zeigen. Als wahrscheinlichste Ursache hierfür dürfte die Existenz alternativer Adhäsionswege gelten, die Leukozyten eine VLA-4-unabhängige Migration in die Gefäßwände des Transplantats ermöglichen. Sofern die Substanz einen kompetitiven Rezeptorantagonisten darstellt, ist eine zu gering gewählte therapeutische Dosis als weitere Ursache in Betracht zu ziehen.

Der MMP-3/8-Inhibitor konnte die neointimale Proliferation in den Gefäßen des Transplantats signifikant reduzieren. Ein signifikanter Unterschied in der Ausprägung der TVP zwischen der Gruppe MMP-3/8-Inhibitor und einer Gruppe mit ausschließlich nicht-immunologisch bedingten neointimalen Proliferationen konnte nicht mehr festgestellt werden. Durch eine selektive Inhibition der MMP-3 und -8 wurde eine Migrationshemmung von

glatten Gefäßmuskelzellen und vermutlich auch monozytären Leukozyten in subendotheliale Räume erreicht und eine neointimale Proliferation weitestgehend verhindert.

Die Ergebnisse aus der vorliegenden Arbeit sprechen für eine nur geringe Bedeutung des VLA-4-Rezeptors bei der Ausbildung der TVP. Eine fehlende Wirksamkeit des verwendeten VLA-4-Rezeptor-Antagonisten aufgrund einer Unterdosierung ist ebenfalls möglich. Dagegen konnte mit der Inhibition der MMP-3- und MMP-8-Aktivität erstmalig ein neuer therapeutischer Ansatz in der Behandlung der TVP nach Herztransplantation aufgezeigt werden.

## 8. Summary

Alexander Usselmann:

The meaning of matrix-metalloproteinases-3 and -8 and  $\alpha_4\beta_1$ -integrin (VLA-4) in transplant vasculopathy in the model of heterotopic heart transplantation in the rat.

The goal of this study was to examine the meaning of the very-late-activation-4-integrin (VLA-4) and the matrix-metalloproteinases (MMP)-3 and -8 in regard to transplant vasculopathy (TVP) in the model of heterotopic heart transplantation in the rat. For this purpose a VLA-4 receptor antagonist and a MMP-3/8 inhibitor were tested in rats that had previously undergone heart transplantation. Preceding these substance tests, I established a clinically relevant model of TVP in the rat.

In the animal groups used to establish the model, two different application techniques of the immunosuppressant drug cyclosporin A (CSA) were tested and a TVP was found in all groups. Regarding the two different application techniques no difference was found in the degree of TVP. As a result, subcutaneous paired with oral application were chosen since this method of administering the CSA simulates the clinical situation in humans more closely than subcutaneous application alone.

In the chosen experimental dosis the VLA-4 receptor antagonist did not show the desired effect in the model of heterotopic heart transplantation in the rat. The most likely reason for this lack of efficacy were probably existing alternative adhesion pathways, which allowed leukocytes a VLA-4 independent migration into the vessel walls of the graft. In so far as the substance represents a competitive receptor antagonist, a too low therapeutic dosage may also have been a possible cause for lacking efficacy.

The MMP-3/8 inhibitor significantly reduced vascular neointimal proliferation in the graft. No significant difference was found in the degree of TVP between the vessels of the MMP-3/8 inhibitor group and the vessels of a group in which neointimal proliferation was not caused by immunological mechanisms. Due to a selective inhibition of MMP-3 and -8 the migration of smooth muscle cells and probably also of monocytes and lymphocytes into the neointima was reduced, and in addition a neointimal proliferation was to a large extent prevented.

The results of this study speak for a non-essential role of the VLA-4 receptor alone in the development of TVP. They also raise the question of whether the applied VLA-4 antagonist showed no efficacy due to subtherapeutic dosage. In contrast, the inhibition of MMP-3/8 activity was for the first time demonstrated as a possible therapeutic target in the treatment of TVP following heart transplantation.