

Miokarditis - značaj eksperimentalnih modela i autoimunskih mehanizama u etiopatogenezi bolesti

**Marina Milenković *, Nevena Arsenović-Ranin,
Zorica Stojić-Vukanić**

Institut za mikrobiologiju i imunologiju, Farmaceutski fakultet,
Vojvode Stepe 450, 11221 Beograd

Kratak sadržaj

Akutni miokarditis je klinički ozbiljno oboljenje i glavni uzrok dilatacione kardiomiopatije. Kod pacijenata sa miokarditisom može se u kratkom vremenskom periodu razviti aritmija, progresivna srčana insuficijencija i šok. Polovina svih slučajeva miokarditisa kod čoveka javlja se nakon akutne virusne infekcije miokarda. Pored direktnog oštećenja mišićnih ćelija srca virusom i autoimunski odgovor organizma na miozin, koji se oslobađa iz kardiomiocita tokom virusne infekcije, ima važnu ulogu u patogenezi miokarditisa. Eksperimentalni autoimunski miokarditis (EAM) predstavlja model koji odgovara miokarditisu džinovskih ćelija kod ljudi. EAM karakteriše difuzna mononuklearna ćelijska infiltracija, intersticijski edem i masovna nekroza kardiomiocita. U pojedinim infiltratima se zapažaju karakteristične džinovske višejedarne ćelije. Lečenje akutnog miokarditisa i dalje predstavlja značajan klinički problem. Iako su inflamacija i autoimunski odgovor ključni faktori u razvoju i progresiji bolesti, većina kliničkih studija nije potvrdila opravdanost rutinske primene imunosupresivnih lekova u terapiji miokarditisa.

Ključne reči: miokarditis, eksperimentalni autoimunski miokarditis (EAM), imunosupresivni lekovi, imunomodulatorni lekovi

* Autor za korespondenciju: **prof. dr Marina Milenković**, Farmaceutski fakultet, Institut za mikrobiologiju i imunologiju, Vojvode Stepe 450, 11221 Beograd tel: 381 11 3951 226 , E-mail: **marinama@pharmacy.bg.ac.rs**

Uvod

„ Trudimo se da istražimo uzroke i sekvele inflamacije i apscesa u srcu : ali šta je dobit od tog rada? Inflammatorne bolesti srca je teško dijagnostikovati, a čak i kada ih dijagnostikujemo da li će terapija biti bolja ? ”

Jean Baptiste Senac (1643-1710)

Miokarditis je inflamatorna bolest srčanog mišića praćena mononuklearnom ćelijskom infiltracijom i nekrozom kardiomiocita koja se javlja u odsustvu ishemijske bolesti srca (1). U aktivnom miokarditisu mononuklearne inflamatorne ćelije su u direktnom kontaktu sa srčanim mišićnim ćelijama i odgovorne su za njihovo oštećenje i pojavu inflamacije. Akutni miokarditis je glavni uzrok dilatacione kardiomiopatije i može imati fatalan ishod (2).

Miokarditis i dilataciona kardiomiopatija su osnovni uzrok razvoja srčane insuficijencije kod pacijenata mlađih od 40 godina. Statistički podaci ukazuju da incidenca dilatacione kardiomiopatije iznosi 10 na 100.000 stanovnika, pri čemu mortalitet iznosi 46% u periodu od 5 godina od postavljanja dijagnoze (3). Transplantacija srca je jedino terapijsko rešenje, obično je efikasna i znatno produžava životni vek pacijenata, ali je povezana sa doživotnom imunosupresijom i rizikom od odbacivanja transplantiranog organa. Međutim, ograničena dostupnost odgovarajućih organa i izuzetno skupo lečenje nameću potrebu za efikasnijim metodama lečenja ili čak, ako je to moguće, i prevencijom miokarditisa i dilatacione kardiomiopatije (4).

Precizna etiološka dijagnoza miokarditisa i danas predstavlja značajan klinički problem jer većina slučajeva protiče sa nespecifičnim i blagim simptomima ili u subkliničkoj formi. Međutim, bolest može napredovati i dovesti do naprasne smrti, ventrikularne aritmije ili podmuklo progredirati do terminalne srčane insuficijencije (5).

Oštećenje mišićnog tkiva i sprovodnog sistema srca mogu izazvati brojni infektivni i neinfektivni agensi. Mikroorganizmi, kao što su virusi, bakterije, rikecije, gljivice i protozoe, ali i toksični agensi, lekovi i alkohol mogu uzrokovati miokarditis. Postoje brojni eksperimentalni i klinički rezultati koji ukazuju da su mnoga srčana oboljenja (reumatska groznica, Chagasov i virusni miokarditis) imunološki posredovana. Zajedničko većini ovih bolesti je to što se rana, akutna faza javlja u toku infekcije mikroorganizmom, dok se u kasnijoj, hroničnoj fazi javlja imunski odgovor na sopstvene antigenske determinante (6). Mehanizmi koji dovode do pokretanja autoimunskog odgovora u miokarditisu nisu u potpunosti poznati i sigurno su veoma kompleksni. Najčešće pominjani

uzroci su: i) povećana prezentacija sopstvenih peptida, ii) ispoljavanje sopstvenih proteina koji su do tada bili „skriveni”, pa se prema njima nije uspostavila autotolerancija i iii) imunski odgovor na sopstvene antigenske determinante koje su slične determinantama infektivnog agensa (antigenska mimikrija) (6, 7, 8). Sama činjenica da u veoma malom broju slučajeva dolazi do progresije bolesti u hroničnu formu autoimunskog miokarditisa, ukazuje da su, pored gore navedenih autoimunskih mehanizama, kao predisponirajući značajni i genetski faktori (9).

U 50% slučajeva humanog miokarditisa virusna infekcija prethodi razvoju inflamacije miokarda. Virusni miokarditis mogu izazvati koksaki virusi, parvo virusi, adenovirusi, citomegalovirus, Epstein-Barr virus, respiratorni sincicijalni virus i HIV (10). Najčešći uzročnik virusnog miokarditisa je Cocksackie B3 virus (11).

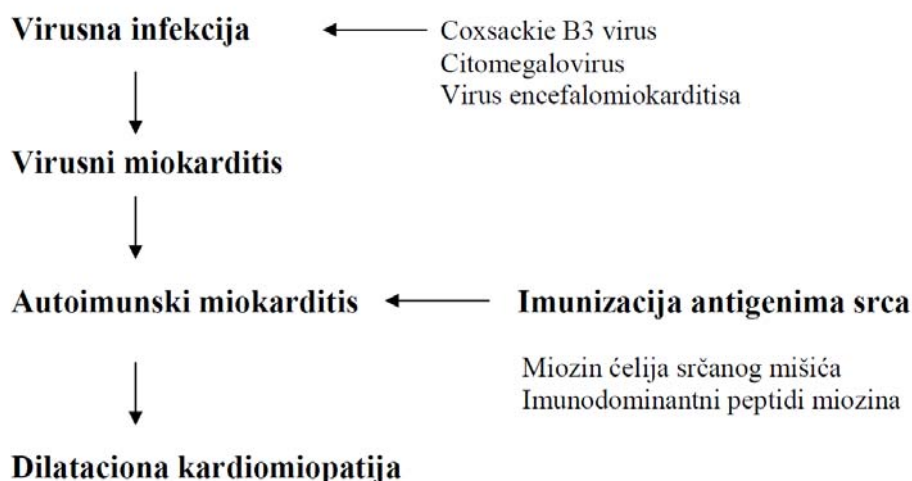
Patogenetski mehanizmi autoimunskog miokarditisa

Eksperimentalni modeli

U razjašnjenju patogenetskih i imunoloških mehanizama uključenih u razvoj miokarditisa, kao i o mogućoj terapiji, u velikoj meri su pomogla istraživanja na eksperimentalnim modelima. Autoimunski miokarditis se može indukovati u genetski osetljivih sojeva eksperimentalnih životinja na dva načina:

1. Inokulacijom Cocksackie B3 virusa, citomegalovirusa ili virusa encefalomiokarditisa miševima A/J ili BALB/c soja. Kod ovih životinja hronična faza miokarditisa predstavlja autoimunski miokarditis koji se i histološki i imunološki razlikuje od rane faze bolesti posredovane direktnim dejstvom virusa. Ova hronična faza je praćena produkcijom autoantitela i autoreaktivnih CD4+ T pomoćničkih limfocita (Th) koji su specifični za miozin ćelija srčanog mišića, glavni antigen protiv kojeg je usmeren autoimunski odgovor (12-15).

2. Imunizacijom eksperimentalnih životinja (miševa ili pacova) miozinom ćelija srčanog mišića ili imunodominantnim epitopom teškog lanca miozina u kompletnom Freund-ovom adjuvansu (16-19). Ovaj eksperimentalni model, poznat kao eksperimentalni autoimunski miokarditis (EAM), omogućava proučavanje ove bolesti bez komplikacija do kojih može dovesti rana infekcija virusom (Slika 1).



Slika 1. Autoimunski miokarditis kod ljudi je najčešće posledica imunskog odgovora na viruse. Eksperimentalni modeli imitiraju taj tip dvofazne bolesti kod ljudi, ili alternativno, samo autoimunsku fazu bolesti, zaobilazeći prvu fazu virusne infekcije.

EAM je prema svojim histološkim karakteristikama i toku analogan miokarditisu džinovskih ćelija kod ljudi (20). Na osnovu histoloških i imunohistohemijskih analiza miokarda u različitim fazama bolesti pokazano je da se 8. dana nakon indukcije bolesti u miokardu zapaža pojačana ekspresija adhezivnih molekula na endotelu krvnih sudova, dok su mononuklearni ćelijski infiltrati prisutni u drugoj nedelji, a inflamatorne promene u vidu ekstenzivne nekroze i masivnih infiltrata su maksimalno izražene 21. dana od indukcije miokarditisa. U trećoj nedelji u infiltratima se zapažaju karakteristične višejedarne džinovske ćelije, dok se 34. dana inflamatorne promene smanjuju, a dominira proces fibroze. Ćelijske infiltrate u tkivu čine u najvećoj meri monociti, makrofage, CD4⁺ i CD8⁺ T limfociti, i retki B limfociti (18, 19, 21).

Uloga citokina u patogenezi EAM

Citokini produkovani od strane monocita/makrofaga i Th limfocita su uključeni u razvoj EAM kako u induktivnoj fazi, tako i u stadijumu rezolucije miokarditisa (22, 23, 24). Brojni rezultati su potvrdili da citokini produkovani od strane Th1 subpopulacije limfocita, kao što su IL-2, IFN- γ i TNF- β , imaju ulogu u pokretanju autoimunskog procesa u ranoj fazi indukcije bolesti, dok su citokini Th2 profila IL-4, IL-10 i IL-13 značajni u fazi rezolucije inflamatornog

procesa (21, 25-28). Ekspresija IL-10, koji je funkcionalni antagonist IL-12, javlja se u fazi rezolucije miokarditisa, kada se u tkivu značajno povećava i produkcija TGF- β . TGF- β , koji sekretuju miociti, trombociti i endotelne ćelije, ima važnu ulogu u fazi izlječenja jer suprimira produkciju proinflammatoryh citokina (22, 23). Primena IL-10 i IL-13 je pokazala pozitivan učinak u supresiji EAM (25, 29). Najnovija istraživanja ukazuju da i citokini IL-17 i IL-23 koje proizvode skoro otkrivena Th17 subpopulacija limfocita imaju važnu ulogu u patogenezi EAM. IL-17 se proizvodi u ranoj fazi EAM i inhibicija ovog citokina bi mogla biti jedan od terapijskih pristupa u supresiji EAM (28).

Aktivirane makrofage su glavne ćelije koje proizvode proinflammatoryh citokine (TNF- α , IL-1 β , IL-6), IL-12 i azot monoksid (NO). Poznato je da TNF- α ispoljava direktno kardiotoksično dejstvo i deluje sinergistički sa IL-1 β i IFN- γ na ispoljavanje inducibilne NO sintaze (iNOS) u makrofagama i miocitima (30). Pokazano je da u *in vitro* uslovima TNF- α može indukovati apoptozu kardiomiocita, a da utiče i na kontraktilnost mišićnih ćelija (31). Negativan inotropni efekat TNF- α i IL-1 β je posredovan NO, koji sintetizuju kardiomiociti, makrofage, endotelne i mišićne ćelije krvnih sudova. NO u povećanoj koncentraciji može direktno oštetiti srčane mišićne ćelije, inhibicijom enzima cis-akonitaze, gliceraldehid-3-fosfat-dehidrogenaze i ribonukleotid reduktaze. Smanjenje kontraktilne funkcije srčanog mišića u toku EAM je u korelaciji sa produkcijom NO u miokardu, a određeni lekovi koji antagonizuju dejstvo NO (vesnarinon), imaju pozitivan efekat na poboljšanje srčane funkcije i smanjenje inflamatornih promena (31).

Imunosupresija i imunomodulacija autoimunskog miokarditisa

T limfociti kao potencijalne ciljne ćelije u terapiji EAM

Efekat različitih imunosupresivnih i imunomodulatornih lekova ispitan je u EAM. Kodama i saradnici su pokazali pozitivan terapijski učinak FK506, makrolida izolovanog iz *Streptomyces tsukubaensis*, u autoimunskom miokarditisu indukovanom kod Lewis pacova (32). Imunosupresivno dejstvo FK506 ostvaruje inhibicijom aktivacije samih T limfocita kao i inhibicijom aktivacije B limfocita koja je T-zavisna. FK506 deluje i antiinflamatorno inhibicijom oslobađanja histamina iz mastocita i sprečavanjem sinteze leukotriena C₄ i prostaglandina u navedenim ćelijama (33).

U istom eksperimentalnom modelu ispitan je i imunosupresivni lek 15-deoxyspergualin (15-DSG), izolovan iz *Bacillus laterosporus*. Ovaj lek je efikasno suprimirao razvoj inflamatornih promena u srcu (34). 15-DSG inhibira proliferaciju i diferencijaciju T i B limfocita, a mehanizam njegovog dejstva je inhibicija ekspresije receptora za IL-2. Kod životinja tretiranih 15-DSG,

zapažena je smanjena produkcija autoantitela u miokardu, kao i ekspresija MHC molekula II klase, a time i prezentacija autoantigena u miokardu (34).

Leflunomid je imunosupresivni lek koji se pokazao efikasnim u različitim eksperimentalnim modelima autoimunskih bolesti i reakcijama odbacivanja transplantata, kao i u terapiji pacijenata sa reumatoidnim artritisom. Kod DA pacova ovaj lek je sprečio razvoj EAM direktnim dejstvom na aktivaciju i/ili proliferaciju autoreaktivnih T limfocita, kao i dejstvom na migraciju dendritskih ćelija ili na njihovu interakciju sa miozin-specifičnim T limfocitima (18, 19) (Tabela I).

Tabela I Imunosupresivni/imunomodulatorni lekovi, mehanizam delovanja i potencijalni ciljni molekuli i ćelije u terapiji EAM

Lek	Mehanizam delovanja	Literatura
FK506	Blokira produkciju T-ćelijskih citokina	32, 33
15-DCG	Inhibira proliferaciju i diferencijaciju T i B limfocita	34
Leflunomid	Inhibira aktivaciju i proliferaciju T limfocita	18, 19
Vesnarinon	Inhibira sintezu TNF- α i iNOS	31, 38, 39
Pentoksifilin	Inhibira produkciju TNF- α	41, 42
Na-fuzidat	Inhibira produkciju TNF- α	44-48
Statini	Inhibira produkciju TNF- α	49-54
Miozin	Indukcija tolerancije – antigen-specifična imunosupresija	55, 56

Citokini i NO kao potencijalne ciljne molekule u terapiji EAM

Vesnarinon je kinolinonski agens koji ispoljava pozitivno inotropno dejstvo na miokard (35, 36) i stoga se primenjuje u terapiji srčane insuficijencije (37). Vesnarinon je ispoljio pozitivan efekat u terapiji autoimunskog miokarditisa indukovanog kod Lewis pacova (31). Ispitivanja u *in vitro* uslovima su pokazala da vesnarinon inhibiše sintezu TNF- α u splenocitima miša sa akutnim virusnim miokarditisom (38), dok u kulturi kardiomiocitima pacova i J774 liniji makrofaga inhibira sintezu iNOS (39).

Pentoksifilin je derivat ksantina koji takođe suprimira produkciju TNF- α , a svoj efekat ostvaruje povećanjem intracelularnog cAMP-a i inhibicijom transkripcije gena za TNF- α (40). Kod pacova kojima je indukovana EAM tretman pentoksifilinom je doveo do smanjenja inflamacije i produkcije proinflamatornih citokina u miokardu i supresije proliferacije T limfocita (41, 42). Osim kod eksperimentalnih životinja, anti-inflamatorni efekat pentoksifilina potvrđen je u kliničkoj studiji kod pacijenata sa dilatacionom kardiomiopatijom (43).

Natrijum fuzidat je antibiotik sa imunomodulatornim delovanjem koje ostvaruje inhibicijom produkcije TNF- α (44-46). Pozitivan učinak natrijum fuzidata, primenjenog u ranoj i kasnoj fazi razvoja EAM, pokazan je na modelu miozinom indukovanoj miokarditisi kod DA pacova (47, 48).

Nedavna istraživanja su pokazala da statini mogu predstavljati nove, potencijalno korisne imunosupresivne agense. Statini su ispoljili pozitivan efekat u različitim eksperimentalnim modelima autoimunskih bolesti (49-51) i kliničkim studijama na pacijentima sa multiplom sklerozom i Hashimoto tiroiditisom (52, 53). Simvastatin je ispoljio pozitivan učinak u supresiji EAM kod Lewis pacova, a navedeni efekat je posledica sa jedne strane smanjenog oštećenja kardiomiocita posredstvom TNF- α , a sa druge strane inhibicije sazrevanja antigen prezentujućih ćelija indukovanoj TNF- α (54) (Tabela I).

Autoantigeni kao potencijalni ciljni molekuli u terapiji EAM

Wang i saradnici su pokazali da per-nazalna primena miozina pre indukcije miokarditisa dovodi do redukcije inflamatornih promena u miokardu i smanjene produkcije IL-2, TNF- α i IL-1 kod A/J miševa (55). Inhibicija razvoja miokarditisa kod A/J miševa je postignuta i uspostavljanjem periferne tolerancije ubrizgavanjem splenocita obloženih miozinom pre indukcije miokarditisa. Ovaj vid antigen-specifične imunoterapije znatno je smanjio incidencu i intenzitet miokarditisa kod tretiranih životinja. Antigen-specifična imunosupresija pruža mogućnost da se suprimira proces autoimunskog oštećenja, a da se pri tome ne naruši specifična odbrana domaćina od mikroorganizama, koji su možda i inicirali autoimunski proces (56) (Tabela I).

Zaključak

Dijagnoza miokarditisa je teška i još uvek ne postoji specifična terapija. I pored toga što inflamacija i autoimunski odgovor predstavljaju osnovni mehanizam progresije bolesti, većina kliničkih studija nije potvrdila pozitivan efekat rutinske primene imunosupresivnih lekova u terapiji miokarditisa, osim kod pacijenata sa miokarditisom džinovskih ćelija (4, 57-60).

Istraživanja iz oblasti eksperimentalnog autoimunskog miokarditisa dala su veliki doprinos razumevanju molekulskih i imunoloških mehanizama ove bolesti. Ovi modeli će i u budućnosti pomoći razvoju novih dijagnostičkih i terapijskih strategija, kao što su imunoterapija, genska terapija i vakcine, i time omogućiti ispitivanje njihove efikasnosti i moguće primene kod ljudi.

Literatura

1. Aretz HT, Billingham ME, Edwards WD, et al. Myocarditis. A histopathologic definition and classification. *Am J Cardiovasc Pathol* 1987; 1(1): 3-14.
2. Haga T, Suzuki J, Kosuge H, et al. Attenuation of experimental autoimmune myocarditis by blocking T cell activation through 4-1BB pathway. *J Mol Cell Cardiol* 2009; 46(5): 719-27.
3. Kytö V, Saukko P, Lignitz E, et al. Diagnosis and presentation of fatal myocarditis. *Hum Pathol* 2005; 36(9): 1003-7.
4. Mason JW, O'Connell JB, Herskowitz A, et al. A clinical trial of immunosuppressive therapy for myocarditis. The Myocarditis Treatment Trial Investigators. *N Engl J Med* 1995; 333(5): 269-75.
5. Vasiljević DJ, Mirić M. Virusni miokarditis i dilataciona kardiomiopatija, Tersit, Beograd, 1995.
6. Rose NR, Čiháková D, Barin JG. Mechanisms underlying Myocarditis. *Drug Discovery Today: Disease Mechanisms* 2006; 3(2): 207-12.
7. Theofilopoulos AN. The basis of autoimmunity: Part II. Genetic predisposition. *Immunol Today* 1995; 16(3): 150-9.
8. Malkiel S, Kuan AP, Diamond B. Autoimmunity in heart disease: mechanisms and genetic susceptibility. *Mol Med Today* 1996; 2(8): 336-42.
9. Li HS, Ligons DL, Rose NR. Genetic complexity of autoimmune myocarditis. *Autoimmunity Reviews* 2008; 7(3): 168-173.
10. Bowles NE, Vallejo J. Viral causes of cardiac inflammation. *Curr Opin Cardiol* 2003; 18(3): 182-8.
11. Huber SA. Autoimmunity in coxsackievirus B3 induced myocarditis. *Autoimmunity* 2006; 39(1): 55-61.

12. Caforio AL, Mahon NJ, McKenna WJ. Cardiac autoantibodies to myosin and other heart-specific autoantigens in myocarditis and dilated cardiomyopathy. *Autoimmunity* 2001; 34(3): 199-204.
13. Bachmaier K, Pummerer C, Shahinian A, et al. Induction of autoimmunity in the absence of CD28 costimulation. *J Immunol.* 1996; 57(4): 1752-7.
14. Penninger JM, Pummerer C, Liu P, Neu N, Bachmaier K. Cellular and molecular mechanisms of murine autoimmune myocarditis. *APMIS* 1997; 105(1): 1-13.
15. Kodama M, Matsumoto Y, Fujiwara M. In vivo lymphocyte-mediated myocardial injuries demonstrated by adoptive transfer of experimental autoimmune myocarditis. *Circulation* 1992; 85(5): 1918-26.
16. Neu N, Rose NR, Beisel KW, Herskowitz A, Gurri-Glass G, Craig SW. Cardiac myosin induces myocarditis in genetically predisposed mice. *J Immunol* 1987; 139(11): 3630-6.
17. Kodama M, Matsumoto Y, Fujiwara M, Masani F, Izumi T, Shibata A. A novel experimental model of giant cell myocarditis induced in rats by immunization with cardiac myosin fraction. *Clin Immunol Immunopathol* 1990; 57(2): 250-62.
18. Dimitrijevic M, Milenkovic M, Milosavljevic P, Colic M. Effects of leflunomide on experimental autoimmune myocarditis with special reference to the dendritic cells. *Transplant Proc* 1998; 30(8): 4149-50.
19. Dimitrijevic M, Milenkovic M, Milosavljevic P, Stojic Vukanic Z, Colic M, Bartlett R. Beneficial effects of leflunomide on cardiac myosin-induced experimental autoimmune myocarditis in rats. *Int J Immunotherapy* 1998; XIV(1): 9-21.
20. Ono M, Shimizu J, Miyachi Y, Sakaguchi S. Control of autoimmune myocarditis and multiorgan inflammation by glucocorticoid-induced TNF receptor family-related protein(high), Foxp3-expressing CD25+ and CD25- regulatory T cells. *J Immunol* 2006; 176(8): 4748-56.
21. Azuma RW, Suzuki J, Ogawa M, et al. HMG-CoA reductase inhibitor attenuates experimental autoimmune myocarditis through inhibition of T cell activation. *Cardiovasc Res* 2004; 64(3): 412-20.
22. Okura Y, Yamamoto T, Goto S, et al. Characterization of cytokine and iNOS mRNA expression in situ during the course of experimental autoimmune myocarditis in rats. *J Mol Cell Cardiol* 1997; 29(2): 491-502.
23. Okura Y, Takeda K, Honda S, et al. Recombinant murine interleukin-12 facilitates induction of cardiac myosin-specific type 1 helper T cells in rats. *Circ Res* 1998; 82(10): 1035-1042.
24. Malkiel S, Kuan AP, Diamond B. Autoimmunity in heart disease: mechanisms and genetic susceptibility. *Mol Med Today* 1996; 2(8): 336-42.
25. Watanabe K, Nakazawa M, Fuse K, et al. Protection against autoimmune myocarditis by gene transfer of interleukin-10 by electroporation. *Circulation* 2001; 104(10): 1098-100.

26. Suzuki J, Ogawa M, Futamatsu H, Kosuge H, Tanaka H, Isobe M. A cyclooxygenase-2 inhibitor alters Th1/Th2 cytokine balance and suppresses autoimmune myocarditis in rats. *J Mol Cell Cardiol* 2006; 40(5): 688-95.
27. Liu W, Li WM, Gao C, Sun NL. Effects of atorvastatin on the Th1/Th2 polarization of ongoing experimental autoimmune myocarditis in Lewis rats. *J Autoimmun* 2005; 25(4): 258-63.
28. Chang H, Hanawa H, Yoshida T, et al. Alteration of IL-17 related protein expressions in experimental autoimmune myocarditis and inhibition of IL-17 by IL-10-Ig fusion gene transfer. *Circ J* 2008; 72(5): 813-9.
29. Elnaggar R, Hanawa H, Liu H, et al. The effect of hydrodynamics-based delivery of an IL-13-Ig fusion gene for experimental autoimmune myocarditis in rats and its possible mechanism. *Eur J Immunol* 2005; 35(6): 1995-2005.
30. Pinsky DJ, Cai B, Yang X, Rodriguez C, Sciacca RR, Cannon PJ. The lethal effects of cytokine-induced nitric oxide on cardiac myocytes are blocked by nitric oxide synthase antagonism or transforming growth factor beta. *J Clin Invest* 1995; 95(2): 677-85.
31. Ishiyama S, Hiroe M, Nishikawa T, et al. Inhibitory effects of vesnarinone in the progression of myocardial damage in experimental autoimmune myocarditis in rats. *Cardiovasc Res* 1999; 43(2): 389-97.
32. Kodama M, Hanawa H, Zhang S, et al. FK506 therapy of experimental autoimmune myocarditis after onset of the disease. *Am Heart J* 1993; 126(6): 1385-92.
33. Starzl TE, Todo S, Fung J, Demetris AJ, Venkataramman R, Jain A. FK 506 for liver, kidney, and pancreas transplantation. *Lancet* 1989; 2(8670): 1000-4.
34. Kodama M, Zhang S, Hanawa H, et al. Effects of 15-deoxyspergualin on experimental autoimmune giant cell myocarditis of the rat. *Circulation* 1995; 91(4): 1116-22.
35. Sasayama S. What do the newer inotropic drugs have to offer? *Cardiovasc Drugs Ther* 1992; 6(1): 15-8.
36. Feldman AM, Bristow MR, Parmley WW, et al. Effects of vesnarinone on morbidity and mortality in patients with heart failure. *New Engl J* 1993; 329: 149-55.
37. Matsumori A, Shioi T, Yamada T, Matsui S, Sasayama S. Vesnarinone, a new inotropic agent, inhibits cytokine production by stimulated human blood from patients with heart failure. *Circulation* 1994; 89(3): 955-8.
38. Matsui S, Matsumori A, Matoba Y, Uchida A, Sasayama S. Treatment of virus-induced myocardial injury with a novel immunomodulating agent, vesnarinone. Suppression of natural killer cell activity and tumor necrosis factor-alpha production. *J Clin Invest* 1994; 94(3): 1212-7.
39. Hattori Y, So S, Hattori S, Kasai K, Shimoda S. Vesnarinone inhibits induction of nitric oxide synthase in J774 macrophages and rat cardiac myocytes in culture. *Cardiovasc Res* 1995; 30(2): 187-92.

40. Noel C, Copin MC, Hazzan M, et al. Immunomodulatory effect of pentoxifylline during human allograft rejection: involvement of tumor necrosis factor-alpha and adhesion molecules. *Transplantation* 2000; 69(6):1102-7.
41. Takehana H, Inomata T, Niwano H, et al. Immunomodulatory effect of pentoxifylline in suppressing experimental autoimmune myocarditis. *Circ J* 2002; 66(5): 499-504.
42. Milenković M, Milosavljević P, Stojić Vukanić Z, Dimitrijević M, Čolić M. Immunomodulation of experimental autoimmune myocarditis by pentoxifylline. *Arh Farm* 2004; 54: 761-771.
43. Sliwa K, Woodiwiss A, Candy G, et al. Effects of pentoxifylline on cytokine profiles and left ventricular performance in patients with decompensated congestive heart failure secondary to idiopathic dilated cardiomyopathy. *Am J Cardiol* 2002; 90(10): 1118-22.
44. Bendtzen K, Diamant M, Faber V. Fusidic acid, an immunosuppressive drug with functions similar to cyclosporin A. *Cytokine* 1990; 2(6): 423-9.
45. Nicoletti F, Zaccone P, Di Marco R, et al. Effects of sodium fusidate in animal models of insulin-dependent diabetes mellitus and septic shock. *Immunology* 1995; 85(4): 645-50.
46. Nicoletti F, Beltrami B, Raschi E, et al. Protection from concanavalin A (Con A)-induced T cell-dependent hepatic lesions and modulation of cytokine release in mice by sodium fusidate. *Clin Exp Immunol* 1997; 110(3): 479-84.
47. Milenković M, Vučićević D, Milosavljević P, Arsenović Ranin N, Stojić Vukanić Z, Čolić M. Suppression of experimental autoimmune myocarditis by sodium fusidate (fusidin). *Pharmacol Res* 2005; 52: 491-6.
48. Milenković M, Arsenović Ranin N, Vučićević D, Bufan B, Stojić Vukanić Z. Fusidin ameliorates experimental autoimmune myocarditis in rats by inhibiting TNF- α production. *Pharmazie* 2007; 62: 445-8.
49. Leung BP, Sattar N, Crilly A, et al. A novel anti-inflammatory role for simvastatin in inflammatory arthritis. *J Immunol* 2003; 170(3): 1524-30.
50. Palmer G, Chobaz V, Talabot-Ayer D, et al. Assessment of the efficacy of different statins in murine collagen-induced arthritis. *Arthritis Rheum* 2004; 50(12): 4051-9.
51. Greenwood J, Steinman L, Zamvil SS. Statin therapy and autoimmune disease: from protein prenylation to immunomodulation. *Nat Rev Immunol* 2006; 6(5): 358-70.
52. Neuhaus O, Stüve O, Zamvil SS, Hartung HP. Are statins a treatment option for multiple sclerosis? *Lancet Neurol* 2004; 3(6): 369-71.
53. Gullu S, Emral R, Bastemir M, Parkes AB, Lazarus JH. In vivo and in vitro effects of statins on lymphocytes in patients with Hashimoto's thyroiditis. *Eur J Endocrinol* 2005; 153(1): 41-8.

54. Wu JL, Matsui S, Zong ZP, et al. Amelioration of myocarditis by statin through inhibiting cross-talk between antigen presenting cells and lymphocytes in rats. *J Mol Cell Cardiol* 2008; 44(6): 1023-31.
55. Wang Y, Afanasyeva M, Hill SL, Kaya Z, Rose NR. Nasal administration of cardiac myosin suppresses autoimmune myocarditis in mice. *J Am Coll Cardiol* 2000; 15;36(6): 1992-9.
56. Godsel LM, Wang K, Schodin BA, Leon JS, Miller SD, Engman DM. Prevention of autoimmune myocarditis through the induction of antigen-specific peripheral immune tolerance. *Circulation* 2001; 103(12): 1709-14.
57. Kodama M, Okura Y, Hirono S, et al. A new scoring system to predict the efficacy of steroid therapy for patients with active myocarditis-a retrospective study. *Jpn Circ J* 1998; 62(10): 715-20.
58. Brown CA, O'Connell JB. Implications of the myocarditis treatment trial for clinical practice. *Curr Opin Cardiol* 1996; 11(3): 332-6.
59. Frustaci A, Chimenti C, Pieroni M, Gentiloni N. Giant cell myocarditis responding to immunosuppressive therapy. *Chest* 2000; 117(3): 905-7.
60. Cooper LT Jr. Giant cell myocarditis: diagnosis and treatment. *Herz* 2000; 25(3): 291-8.

Myocarditis - experimental models and autoimmune mechanisms in etiopathogenesis of the disease

**Marina Milenković *, Nevena Arsenović-Ranin,
Zorica Stojić-Vukanić**

Department of Microbiology and Immunology, Faculty of Pharmacy,
University of Belgrade, 450 Vojvode Stepe, 11221 Belgrade, Serbia

Summary

Acute myocarditis is a serious disease and a major cause of dilated cardiomyopathy. Patients with myocarditis may present severe arrhythmia, rapidly progressive heart failure or shock. In humans, about half the cases of myocarditis are preceded by an acute viral infection. Autoimmunity is important in myocarditis: in particular, a reaction to cardiac myosin following viral infection may contribute to development of myocarditis. Experimental autoimmune myocarditis (EAM) is used as an animal model of human giant cell myocarditis. EAM is characterized by severe myocardial damage that includes the infiltration of mononuclear cells into the myocardium and the appearance of multinucleated giant cells. Treatment of acute myocarditis in humans remains a major clinical problem. Although myocardial inflammation and autoimmune process are essential for the progression of the disease, most results do not support routine treatment of myocarditis with immunosuppressive drugs.

Key words: myocarditis, experimental autoimmune myocarditis (EAM), immunosuppressive drugs, immunomodulatory drugs

* Corresponding author: **Marina Milenković**, Department of Microbiology and Immunology, Faculty of Pharmacy, University of Belgrade, 450 Vojvode Stepe, 11221 Belgrade, Serbia, tel: 381113951226, E-mail: marinama@pharmacy.bg.ac.rs