

Fachinformationen für Ärzte, Kliniken und Interessierte über Forschungsprojekte von *kinderherzen*

Neue Ansätze für die Therapie der Conduitstenose nach Pulmonalklappenersatz

Operativ eingesetzte biologische Gefäßklappenprothesen weisen eine begrenzte Haltbarkeit auf. Speziell die Ausbildung von Einengungen im Bereich der eingesetzten Klappe ist ein häufig beobachtetes Problem, welches den Blutfluss über die Klappe je nach Ausprägungsgrad erheblich beeinträchtigen kann. In Abhängigkeit vom Ausmaß der Stenose können weitere therapeutische Maßnahmen wie die Ballondilatation der Stenose, die katheterinterventionelle Implantation einer neuen Klappe oder der operative Austausch der Klappe erforderlich sein.

Vor diesem Hintergrund wurde das aktuelle Forschungsprojekt mit dem Ziel durchgeführt, einen Ansatz für eine medikamentöse Therapie zu finden, mit der die Entwicklung dieser Gefäßveränderungen hinauszögert oder im besten Fall völlig verhindert werden kann.

Von insgesamt 11 operativ entfernten biologischen Gefäßklappenprothesen (6 Hancock® Conduits, 4 Contegra® Conduits und eine Melody® Klappe) wurde jeweils ein Teil der Klappe sowie der stenotisch verdickte Bereich der Gefäßwand isoliert.

Mit Hilfe des so genannten **Next Generation Sequencing (NGS)** wurde die Genexpression der verschiedenen Bereiche ermittelt und anschließend miteinander verglichen. Unterschiede in der Genexpression sind Ausdruck einer Besiedlung mit unterschiedlichen Zelltypen des Patienten.

Entsprechend fanden wir im Bereich der verdickten Wand eine Anreicherung von Extrazellulärmatrix-Genen wie Proteoglycanen, Elastin und Laminin wie auch Genen, die im Zusammenhang mit der Kontraktion glatter Muskelzellen stehen. Interessanterweise waren auch einige Tyrosinkinaserzeptoren (RTK), speziell EGFR, FGFR2, DDR2, ErbB4 und FLT-4 hochreguliert (siehe Abbildung 1).

Was macht RTKs so interessant? Tyrosinkinasen sind Transmembranproteine, die an ihrer extrazellulären Seite Moleküle binden und damit für Medikamente gut zugänglich sind. Signaltransduktionen bis tief in das Innere der Zellen erlauben je nach Spezifität des Rezeptors die Regulation des Zellwachstums, der Zellteilung, der Migration oder des Überlebens einer Zelle. Spezifische Inhibierung verschiedener RTKs finden in der Onkologie bereits eine breite Anwendung. Darüber hinaus wurden Inhibitoren des VEGFR (vascular epithelial growth factor receptor) bereits erfolgreich zur Reduktion von Stenosen der Lungenvenen eingesetzt.

Um zu prüfen, ob die differentiell exprimierten RTKs auch auf Proteinebene nachweisbar sind und in welchen Zellen sie vorkommen, wurden zusätzliche immunhistochemische Untersuchungen an weiteren operativ entfernten biologischen Klappenprothesen durchgeführt. Während DDR2 und FGFR2 nicht eindeutig nachweisbar waren, konnten EGFR, ErbB4 und FLT-4 spezifisch in Gewebsmakrophagen der neugebildeten Conduit-Wand nachgewiesen werden (siehe Abbildung 2).

Conduitstenose nach Pulmonalklappenersatz

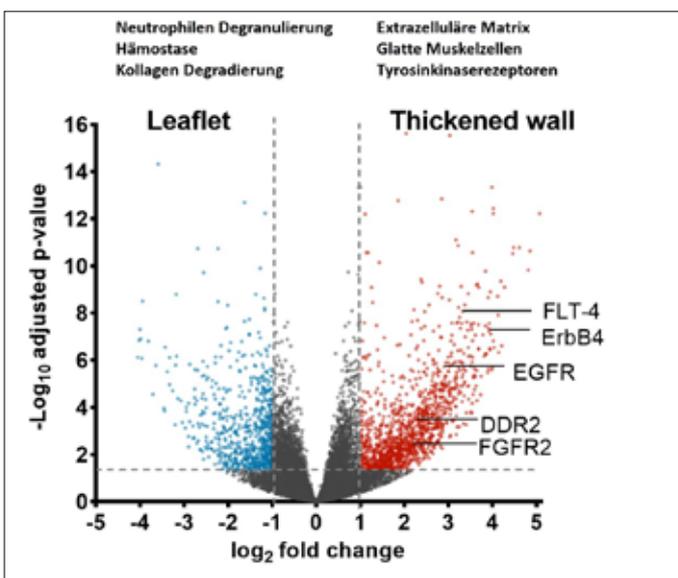


Abbildung 1: Vulcano Blot. Im Klappensegel (Leaflet) hochregulierte Gene in blau (n=8), im Bereich der Stenose (Thickened wall) hochregulierte Gene in rot (n=10). Jeder Punkt repräsentiert ein Gen. Differentiell exprimierte Tyrosinkinase-Rezeptoren sind jeweils beschriftet.

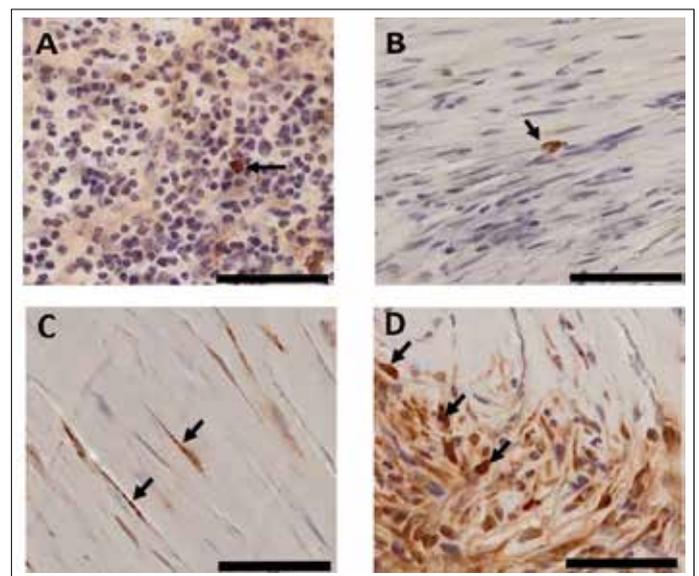


Abbildung 2: Immunhistochemische Färbungen der Kandidatengene. A) EGFR positive Makrophagen im Granulationsgewebe, siehe Pfeil. B) ErbB4 positive Makrophagen, siehe Pfeil. C) FLT-4 positive spindelförmige Fibroblasten im fibrösen Gewebe, siehe Pfeil. D) FLT-4, schwarzer Pfeil markiert positiv angefärbte Makrophagen. Maßstabsskala, A-C: 50 µm; Maßstabsskala, D: 200 µm.

Makrophagen spielen eine Schlüsselrolle bei der Regulation verschiedener immunologischer Abläufe wie Entzündung, Regeneration oder Fibrosierung. **Es liegt also nahe, dass ihre Manipulation auch die Ausdehnung der Stenose beeinflussen könnte. Ob und wie weit eine Beeinflussung der Makrophagen-exprimierten RTKs tatsächlich zu einer Eindämmung einer Conduitenose führen kann, muss in weiterführenden Experimenten und klinischen Studien gezeigt werden.**

Es lassen sich vielversprechende Hypothesen aufstellen, auf welche Weise die Stenosen mit den genannten RTKs inhibiert werden können. So wurde für ErbB4 eine Expression auf speziellen proinflammatorischen Makrophagen beschrieben. In Experimenten konnte zudem gezeigt werden, dass die Bindung des Liganden NRG4 (Neuregulin 4) an ErbB4 die Apoptose in den Makrophagen einleitet.

Die Verabreichung von NRG4 als Medikament könnte also diese proinflammatorischen Makrophagen in die Apoptose führen und damit die chronische Entzündung, welche für die vermehrte Gewebeauflagerung verantwortlich ist, beenden (4).

Ebenso wird der Tyrosinkinase-Rezeptor EGFR auf proinflammatorischen Makrophagen exprimiert. Die spezifische Blockierung des Rezeptors könnte zu einer Reduktion der proinflammatorischen Makrophagen führen und so die Ausbildung einer Stenose hemmen (5).

Makrophagen-FLT4 reguliert die Produktion von neuen lymphatischen Gefäßen. Die Inhibierung dieses Faktors könnte also potenzielle Auswirkungen auf die Versorgung des fibrösen Gewebes haben und es so in seinem Ausmaß beschränken (6-11).

Literatur:

[1] Tang PM-K, Nikolic-Paterson DJ, Lan H-Y. Macrophages: versatile players in renal inflammation and fibrosis. *Nat Rev Nephrol* 2019;15(3):144–58. <https://doi.org/10.1038/s41581-019-0110-2>.

[2] Hoyer FF, Naxerova K, Schloss MJ, Hulsmans M, Nair AV, Dutta P et al. Tissue-Specific Macrophage Responses to Remote Injury Impact the Outcome of Subsequent Local Immune Challenge. *Immunity* 2019;51(5):899-914.e7. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2019.10.010>.

[3] Ueha S, Shand FHW, Matsushima K. Cellular and molecular mechanisms of chronic inflammation-associated organ fibrosis. *Front Immunol* 2012;3:71. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2012.00071>.

[4] Vermeulen Z, Hervent A-S, Dugaucquier L, Vandekerckhove L, Rombouts M, Beyens M et al. Inhibitory actions of the NRG-1/ErbB4 pathway in macrophages during tissue fibrosis in the heart, skin, and lung. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2017;313(5):H934-H945. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.00206.2017>.

[5] Seshacharyulu P, Ponnusamy MP, Haridas D, Jain M, Ganti AK, Batra SK. Targeting the EGFR signaling pathway in cancer therapy. *Expert Opin Ther Targets* 2012;16(1):15–31. <https://doi.org/10.1517/14728222.2011.648617>.

[6] Larrivé B, Karsan A. Signaling pathways induced by vascular endothelial growth factor (review). *Int J Mol Med* 2000;5(5):447–56. <https://doi.org/10.3892/ijmm.5.5.447>.

[7] Witmer AN, van Blijswijk BC, Dai J, Hofman P, Partanen TA, Vrensen GF et al. VEGFR-3 in adult angiogenesis. *J Pathol* 2001;195(4):490–7. <https://doi.org/10.1002/path.969>.

[8] Paavonen K, Puolakkainen P, Jussila L, Jahkola T, Alitalo K. Vascular endothelial growth factor receptor-3 in lymphangiogenesis in wound healing. *Am J Pathol* 2000;156(5):1499–504. [https://doi.org/10.1016/S0002-9440\(10\)65021-3](https://doi.org/10.1016/S0002-9440(10)65021-3).

[9] Alishekevitz D, Gingis-Velitski S, Kaidar-Person O, Gutter-Kaplan L, Scherer SD, Raviv Z et al. Macrophage-Induced Lymphangiogenesis and Metastasis following Paclitaxel Chemotherapy Is Regulated by VEGFR3. *Cell Rep* 2016;17(5):1344–56.

[10] Tammela T, Zarkada G, Wallgard E, Murtomäki A, Suchting S, Wirzenius M et al. Blocking VEGFR-3 suppresses angiogenic sprouting and vascular network formation. *Nature* 2008;454(7204):656–60. <https://doi.org/10.1038/nature07083>.

[11] Yang H, Kim C, Kim M-J, Schwendener RA, Alitalo K, Heston W et al. Soluble vascular endothelial growth factor receptor-3 suppresses lymphangiogenesis and lymphatic metastasis in bladder cancer. *Mol Cancer* 2011;10:36. <https://doi.org/10.1186/1476-4598-10-36>.

Durchführende Stelle:

Klinik für Kinder- und Jugendmedizin – Pädiatrische Kardiologie, Intensivmedizin und Pneumologie, Universitätsmedizin Göttingen

Projektleitung: Dr. Rudi Foth

Klinikdirektor: Prof. Dr. Thomas Paul

Die Ergebnisse dieser Untersuchungen wurden im Rahmen der 49. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Pädiatrische Kardiologie im Jahr 2017 als Vortrag mit dem Titel: „Neue Ansätze für die Therapie der Conduitenose nach Pulmonalklappenersatz“ vorgetragen.

kinderherzen forscht und fördert Forschungsvorhaben im Bereich der Kinderherzmedizin – mit Schwerpunkt Kinderkardiologie und Kinderherzchirurgie – und stellt im „**kinderherzen** Research Report“ Kliniken und Ärzten die Inhalte aktuell laufender sowie Ergebnisse abgeschlossener Projekte vor. Antragstellungen zu Forschungsvorhaben sind jeweils zum 31.03. und 30.09. eines Jahres einzureichen.

Impressum: V.i.S.d.P.: Jörg Gattenlöhner, Geschäftsführer **kinderherzen** **Text:** Dr. Rudi Foth

Mitglieder des Wissenschaftlichen Beirats: Prof. Dr. Thomas Paul (Sprecher), Prof. em. Dr. Hellmut Oelert (stellv. Sprecher), Prof. Dr. Philipp Beerbaum, Prof. Dr. Felix Berger, Prof. Dr. Oliver Dewald, Prof. em. Dr. John Hess, Prof. Dr. Dr. Christian Schlensak, Prof. Dr. Brigitte Stiller

Spendenkonto: Bank für Sozialwirtschaft

IBAN: DE47 3702 0500 0008 1242 00 | BIC: BFSWDE33XXX

Fördergemeinschaft Deutsche Kinderherzzentren e.V.

Elsa-Brändström-Straße 21 · 53225 Bonn

Tel.: +49 (0) 228 | 42 28 0-0 · Fax: +49 (0) 228 | 35 57 22

Ansprechpartnerin: Tanja Schmitz · tanja.schmitz@kinderherzen.de

www.kinderherzen.de