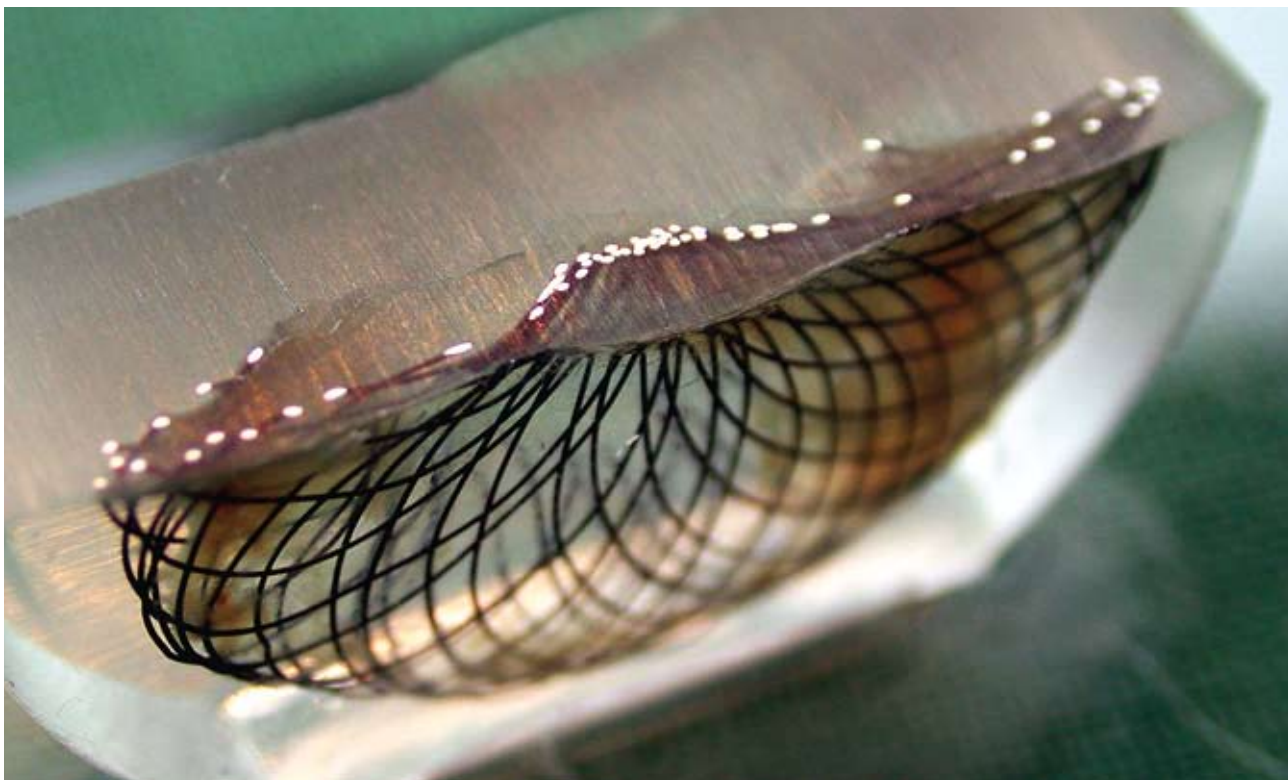


Zentrum Kinder und Jugendmedizin - Abteilung Pädiatrie III  
mit Schwerpunkt Pädiatrische Kardiologie und Intensivmedizin  
Centre for Child and Adolescent Health - Department of Paediatrics III  
with Focus on Paediatric Cardiology and Intensive Care Medicine



Forschungsschwerpunkte Research Foci

---

- ▷ Auswirkungen der Cryoenergieapplikation auf das wachsende Myokard
  - ▷ Biokompatibilitätsuntersuchungen von kardiovaskulären Implantaten
  - ▷ Metabolische Modulation und molekulare Regulation des kardialen Energiestoffwechsels bei Kindern mit zyanotischen Herzfehlern
  - ▷ Rolle der Proteinase-aktivierten Rezeptoren bei der Nekrotisierenden Enterokolitis
  - ▷ Dreidimensionale Funktionsanalyse des linken Ventrikels bei Patienten mit Muskeldystrophien
  - ▷ Influence of Cryoenergy Application on Growing Myocardium
  - ▷ Biocompatibility Screening of Cardiovascular Implants
  - ▷ Metabolic Modulation and Molecular Regulation of Cardiac Energy Metabolism in Children with Cyanotic Heart Disease
  - ▷ Proteinase-activated receptors in necrotizing enterocolitis
  - ▷ 3D echo analysis of left ventricular dysfunction in patients with muscular dystrophy
-



**Abteilungsleiter** Head of Department

Prof. Dr. med. Thomas Paul

**Kontaktinformationen** Contact

Abteilung Pädiatrie III  
 UNIVERSITÄTSMEDIZIN GÖTTINGEN  
 Robert-Koch-Straße 40, D-37075 Göttingen  
 Telefon +49-551 / 39-6203, Fax +49-551 / 39-2561  
 tpaul@gwdg.de  
 www.kinderherzlinik.de

**Hochschullehrer/innen** Professors and Lecturers

+49-551 /

|                  |                |                 |         |
|------------------|----------------|-----------------|---------|
| Paul, Thomas     | Prof. Dr. med. | tpaul@gwdg.de   | 39-6203 |
| Sigler, Matthias | PD Dr. med.    | msigler@gwdg.de | 39-6270 |

**Arbeitsgruppenleiter/innen** Group Leaders

|                     |          |                                |          |
|---------------------|----------|--------------------------------|----------|
| Kriebel, Thomas     | Dr. med. | tkriebe@gwdg.de                | 39-22564 |
| Steinmetz, Michael  | Dr. med. | msteinm@gwdg.de                | 39-22567 |
| Seeliger, Stephan   | Dr. med. | seeliger@med.uni-goettingen.de | 39-6900  |
| Gravenhorst, Verena | Dr. med. | vgraven@gwdg.de                | 39-22550 |

## EINLEITUNG

Die Aufgaben der Abteilung Pädiatrische Kardiologie und Pädiatrische Intensivmedizin einschließlich Neonatologie liegen in Forschung, Lehre und Krankenversorgung. Die Forschung befasst sich mit fünf übergeordneten Themenschwerpunkten.

Erster Hauptschwerpunkt ist die Elektrophysiologie. Aktuell erfolgen hier zurzeit tierexperimentelle Untersuchungen unter dem Aspekt der Auswirkung der Cryoenergieapplikation (als Alternative zur Hochfrequenzstromablation) auf das wachsende Myokard. Hauptaugenmerk ist hier die Läsionsbildung unter Einbeziehung einer Analyse einer möglichen Affektion der Koronararterien.

Einen weiteren Forschungsschwerpunkt stellen die Biokompatibilitätsuntersuchungen von kardiovaskulären Implantaten dar. Hier hat sich das Forschungslabor der Abteilung als Referenzzentrum für den deutschsprachigen Bereich zur Einsendung von kardiovaskulären Implantaten profiliert. Hauptgegenstand der Untersuchung sind die Reaktionen der Gefäßoberfläche, hier insbesondere die Intimareaktion sowie die inflammatorischen Reaktionen. Auf der Grundlage dieser Untersuchungen sollte es möglich sein, hier zukünftig entsprechende Implantate mit abgeschwächter Gefäßreaktion zu entwickeln.

Der Arbeitsschwerpunkt Herzinsuffizienz untersucht die metabolische Modulation und molekulare Regulation des kardialen Energiestoffwechsels bei Kindern mit zyanotischen Herzfehlern.

Die Neonatologie ist ein weiterer klinischer und wissenschaftlicher Schwerpunkt der Abteilung. Mit der Aufklärung der Bedeutung von Proteinase-aktivierten Rezeptoren bei der Nekrotisierenden Enterokolitis sollen sowohl die Pathogenese untersucht als auch mögliche neue therapeutische Ansätze gefunden werden.

Schließlich bildet auch die Echokardiographie einen Forschungsschwerpunkt. Hier soll mit Hilfe der dreidimensionalen Funktionsanalyse des linken Ventrikels eine Methode zur Früherkennung der Herzbeteiligung bei Patienten mit neuromuskulären Erkrankungen am Beispiel der Muskeldystrophien vom Typ Duchenne und Becker etabliert werden.

## PREFACE

The department of Paediatrics III with Focus on Paediatric Cardiology and Intensive Care Medicine is responsible for research, training and education, and patient care. The research encompasses five major topics.

The first project in clinic and research is electrophysiology. Presently, we are investigating the effects of cryoenergy application at growing myocardium in an animal model. The main emphasis is put on lesion formation in regard to the adjacent coronary arteries.

A further major topic is the biocompatibility screening of cardiovascular implants. In this respect, the research laboratory of the department has acquired the status of a reference centre for evaluation of cardiovascular explants in the German speaking countries. Major emphases after the technical work-up are put on the reactions of the vascular surface, in particular intimal and inflammatory reac-

tions. On the basis of these investigations it should then be possible to develop optimised cardiovascular implants in the future.

The research project 'heart failure' studies the metabolic modulation and the molecular regulation of the cardiac energy metabolism in children with cyanotic heart defects.

The main research focus in neonatology is concerned with the role of Proteinase-activated receptors in necrotizing enterocolitis. Aim is a better understanding of the pathogenesis as well as identification of new therapeutic targets in patients with necrotizing enterocolitis.

Finally, automated 3D echocardiography analysis is employed for early detection of left ventricular dysfunction in patients with Duchenne and Becker's muscular dystrophy.

### 1. Auswirkungen der Cryoenergieapplikation auf das wachsende Myokard

Die Hochfrequenzstromablation des anatomischen Substrates von supraventrikulären Tachykardien bei Kindern und Jugendlichen ist inzwischen aufgrund der hohen Effektivität und der geringen Zahl von Nebenwirkungen ein etabliertes Behandlungsverfahren. Tierexperimentelle Untersuchungen unserer und anderer Arbeitsgruppen haben jedoch gezeigt, dass die Applikation von Hochfrequenzstrom am wachsenden Myokard zu Obstruktionen der Koronarien und zu einer Zunahme der Läsionsgröße mit dem Wachstum der Tiere führen kann. Die klinische Relevanz dieser tierexperimentellen Daten wird durch zahlreiche Fallberichte unterstrichen, in denen eine Stenosierung bzw. ein Verschluss einer Koronararterie oder eines Koronararterienastes nach Hochfrequenzstromapplikation beschrieben wurde.

Die Cryoenergie-technik scheint eine sichere und effektive Alternative zur Hochfrequenzstromablation von arrhythmogenen Substraten bei erwachsenen und pädiatrischen Patienten darzustellen. Entsprechende klinische Daten wurden bereits von unserer Arbeitsgruppe veröffentlicht.

Ziel des aktuellen Forschungsprojektes ist es, die Gewebefeffekte der Cryoenergieapplikation einschließlich eines potentiellen Größenwachstums der induzierten Läsionen und eine mögliche Beteiligung der Wandschichten der Koronararterien am wachsenden Schweinemyokard systematisch zu untersuchen.

Dazu wurden bei jungen Schweinen Cryoenergie-läsionen am atrialen Ansatz des Trikuspidalklappenannulus sowie am atrialen und ventrikulären Ansatz des Mitralklappenannulus induziert. Zur Erfassung einer eventuellen Affektion der Koronararterien erfolgten wiederholte Koronarangiographien und intrakoronare Ultraschalluntersuchungen. Die Auswertungen dieser Untersuchungen zeigten im Gegensatz zur Hochfrequenzstromapplikation keine Intima-plaques oder Stenosierungen der Koronararterien.

Die Cryoenergie-läsionen werden zurzeit im histopathologischen Labor der Abteilung zur Volumetrie anhand von seriellen Schnitten und zur Erfassung der Gewebefeffekte sowie von eventuellen Veränderungen der Koronararterien aufgearbeitet. Ebenfalls

werden immunhistochemische Färbungen zur Charakterisierung der Entzündungsreaktion nach Cryoenergieapplikation durchgeführt. Mit den gewonnenen Ergebnissen wird ein unmittelbarer Vergleich der Daten mit den Ergebnissen unserer Arbeitsgruppe nach Hochfrequenzstromapplikation möglich sein. Basierend auf diesem Vergleich wäre unter Umständen eine Empfehlung hinsichtlich der primär zu wählenden Energiequelle zur Ablation von arrhythmogenen Substraten bei Kindern möglich.

In einer zweiten tierexperimentellen Versuchsreihe soll die inzwischen übliche „double freeze“ Technik, die Induktion einer Sicherheitsapplikation an einer erfolgreichen Ablationsstelle, seriell untersucht werden.

## 1. Influence of Cryoenergy Application on Growing Myocardium

Radiofrequency (RF) catheter ablation of the anatomical substrate of supraventricular tachycardia in children and adolescents has become the treatment of choice due to high efficacy and due to a low complication rate. Animal studies of our group and others have demonstrated that radiofrequency current application at growing myocardium may result in coronary artery obstruction and in late lesion enlargement as the animals grow. The clinical relevance of these animal data is emphasised by a series of case reports in which stenosis or occlusion of a coronary artery or of a coronary artery branch has been reported after radiofrequency current application.

Cryoenergy application has proved to be a safe and effective alternative for catheter ablation of arrhythmogenic substrates in adult and paediatric patients. A relevant clinical study by our group has recently been published.

Aim of the present study is the systematic investigation of tissue effects after cryoenergy application with special regard to potential growth of the induced lesions and to possible involvement of the coronary arteries at growing porcine myocardium.

In piglets cryoenergy lesions have been induced at the atrial aspect of the tricuspid valve annulus and at the atrial and ventricular aspect of the mitral valve annulus, respectively. Repeated selective coronary artery angiography and intracoronary ultrasound studies were performed in order to detect possible affection of the coronary arteries. In contrast to radiofrequency current application there was no evidence of coronary artery obstruction or intimal plaque formation early and late after cryoenergy application. At the present time, the induced cryoenergy lesions are processed at our histopathological laboratory for exact volumetry, for registration of tissue effects, and for possible coronary artery involvement. Immunohistopathological staining is performed for additional characterisation of the cryoenergy lesions. With these data a direct comparison with the results of our group after radiofrequency current application will be possible. Based on this comparison a potential recommendation can be made regarding the choice of the primary energy source for ablation of arrhythmogenic substrates in children.

In a consecutive study the “double freeze” technique with the induction of a second safety lesion at the successful ablation site, will be addressed.

### Arbeitsgruppenleiter/innen Group Leaders

Dr. med. Thomas Kriebel

Dr. med. Heike Schneider

Prof. Dr. med. Thomas Paul

### Kooperationen Cooperations

PD Dr. med. Wolfgang Schillinger, Abteilung Kardiologie und Pneumologie, Universitätsmedizin Göttingen, Universität Göttingen

Prof. J. Philip Saul, Section of Pediatric Cardiology, Department of Pediatrics, Medical University of South Carolina, Charleston, USA

### Ausgewählte Publikationen Selected Publications

Kriebel T, Hermann HP, Schneider H, Kroll M, Selle J, Overwaul A, Sigler M, Paul T. Cryoablation at growing myocardium: No evidence of coronary artery obstruction or intimal plaque formation early and late after energy application. *Pacing Clinical Electrophysiol* 2009, im Druck.

Kriebel T, Broistedt C, Kroll M, Sigler M, Paul T (2005) Efficacy and safety of cryoenergy in the ablation of atrioventricular reentrant tachycardia substrates in children and adolescents. *J Cardiovasc Electrophysiol*, 16:960-6.

Paul T, Kakavand B, Blaufox AD, Saul JP (2003) Complete occlusion of the left circumflex coronary artery after radiofrequency catheter ablation in an infant. *J Cardiovasc Electrophysiol*, 14: 1004-6.

Schneider HE, Kriebel T, Gravenhorst VD, Paul T. Incidence of coronary artery injury immediately after catheter ablation for supraventricular tachycardias in infants and children. *Heart Rhythm*. 2009, 6:461-7.

Sturm M, Hausmann D, Bökenkamp R, Bertram H, Wibbelt G, Paul T (2004) Incidence and time course of intimal plaque formation in the right coronary artery after radiofrequency current application detected by intracoronary ultrasound. *Z Kardiol*, 93 (11): 884-9.

## 2. Biokompatibilitätsuntersuchungen von kardiovaskulären Implantaten

In der Funktion eines nationalen Referenzzentrums für die histopathologische Aufarbeitung zur Untersuchung der Biokompatibilität von kardiovaskulären Implantaten werden im Labor der pädiatrischen Kardiologie eine Vielzahl von Explantaten (human und tierexperimentell), die aus dem In- und Ausland zugesandt werden, standardisiert aufgearbeitet und ausgewertet. Schwerpunkte der Untersuchungen bilden dabei Gewebereaktionen auf:

- ▷ Gefäßstents,
- ▷ Okkluder für den Verschluss von Septumdefekten des Herzens,
- ▷ Pulmonalis-Conduits und
- ▷ Polyester-Implantate (aorto-pulmonale Shunts, Mustard-Baffles, Fontan-Tunnel).

Zur Aufarbeitung werden neben der Schleif-Schnitt-Technik nach Kunstharzeinbettung der Präparate auch die Elektronenmikroskopie sowie Materialanalyseverfahren angewandt. Durch die Etablierung von immunhistochemischen Färbungen an Präparaten nach Kunststoffeinbettung ist neben einer histomorphometrischen auch eine qualitative Gewebeanalyse möglich.

Die Ergebnisse der standardisierten Aufarbeitung von kardiovaskulären Implantaten nach Explantation zu den Aspekten

- ▷ Endothelialisierung,
- ▷ lokalen Entzündungsreaktionen und
- ▷ Gewebeneubildung

bilden die Grundlage für die Weiterentwicklung von Implantaten in Zusammenarbeit mit werkstoffkundlichen Instituten und industriellen Partnern.

## 2. Biocompatibility Screening of Cardiovascular Implants

Interest in information on biocompatibility of cardiovascular implants after interventional implantation is increasing. We evaluate explants (human and experimental) that were sent for diagnostic work-up. Special attention is paid to

- ▷ vascular stents,
- ▷ occlusion devices for closure of septal defects of the heart,
- ▷ pulmonary conduits, and
- ▷ implants containing polyester (aorto-pulmonary shunts, Mustard-baffles, Fontan-tubes).

Serving as a national reference centre, explanted cardiovascular implants are worked-up using a standard protocol. Specimen are embedded in methylmethacrylate and processed by sectioning with a diamond cutter and grinding, thus leaving the implant within the tissue context and saving the tissue/implant interface for detection of local reactions. New methacrylate resins and embedding techniques allow for specific immunohistochemical staining. Furthermore, we employ scanning electron microscopy as well as special techniques for material analysis.

With an optimal work-up of cardiovascular implants, in-growth and endothelialisation as well as inflammatory reactions in the surrounding tissue can be characterized. This information serves as valuable basis for optimisation of biocompatibility by implant modification.

### Arbeitsgruppenleiter/innen Group Leaders

PD Dr. med. Matthias Sigler

### Kooperationen Cooperations

I. Michel-Behnke, Kinderkardiologie, Medizinische Universität Wien, Österreich

R. Kozlik-Feldmann, Kinderkardiologie, Ludwig-Maximilians-Universität München

P. Ewert, Deutsches Herzzentrum Berlin

M. Vogt, Deutsches Herzzentrum München

N. Wilson, Pediatric Cardiology, The John Radcliffe, Oxford, UK

A. Koch, Kinderkardiologie, Universitäts-Klinikum Erlangen

M. Schneider, P. Zartner, Deutsches Kinderherzzentrum, St. Augustin

Dr. phil. Peter Schwartz, Abteilung Anatomie mit Schwerpunkt Embryologie, Universitätsmedizin Göttingen, Universität Göttingen

### Ausgewählte Publikationen Selected Publications

Foth R, Quentin T, Michel-Behnke I, Vogt M, Kriebel T, Kreisler A, Ruschewski W, Paul T, Sigler M: Immunohistochemical characterization of neo-tissues and tissue reactions to septal defect occlusion devices. *Circulation Cardiovasc Intervent* 2009;2:90-96

Quentin T, Poppe A, Bär K, Sigler A, Foth R, Michel-Behnke I, Paul T, Sigler M: A novel method for processing resin embedded specimens with metal implants for immunohistochemical labelling. *Acta Histochemica* 2008 Jun 11. [Epub ahead of print]

Sigler M, Jux C: Biocompatibility of septal defect closure devices. *Heart* 2007;93:444-449

Zartner P, Büttner M, Singer H, Sigler M: The first biodegradable metal stent in a child with congenital heart disease: evaluation of macro and histopathology. *Catheter Cardiovasc Interv* 2007;69(3):443-446

Sigler M, Paul T, Grabitz RG (2005) Biocompatibility of cardiovascular implants. *Z Kardiol*, 94(6):383-91.

Sigler M, Schneider K, Meissler M, König K, Schneider MB (2005) Breakable stent for interventions in infants and children: an animal study and histopathological findings. *Heart*, 92(2):245-8.

## 3. Metabolische Modulation und molekulare Regulation des kardialen Energiestoffwechsels bei Kindern mit zyanotischen Herzfehlern

Kinder mit angeborenen zyanotischen Herzfehlern leben mit einer reduzierten system-arteriellen Sauerstoffsättigung, welche zum Teil nur 70-80 % betragen kann. Das Herz - als besonders ischämie- und hypoxiesensibles Organ - muss oftmals für viele Jahre mit diesem reduzierten Sauerstoffangebot arbeiten. Dies hat eine unphysiologische Adaptation des postnatalen kardialen Energiestoffwechsels zur Folge. Nach palliativen oder korrigierenden Operationen unter Einsatz der Herz-Lungen-Maschine (HLM) sind die an Hypoxie adaptierten Kardiomyozyten mit einem veränderten Sauerstoffangebot konfrontiert. Dies führt akut zu einer Veränderung der enzymatischen Aktivität der Kardiomyozyten mit einer Steigerung der Fettsäureoxidation, mittel- und langfristig erfolgt eine Modifikation der myokardial-metabolischen Genexpression.

Bei Ischämie-Reperfusion-Zuständen - welche z.B. nach HLM Operationen auftreten können - ist die Fettsäureoxidation im Vergleich zur Glucoseoxidation nachteilig: Pro produziertem ATP verbraucht die  $\beta$ -Fettsäureoxidation mehr Sauerstoff als die Glucoseoxidation. Die Folge sind ein Missverhältnis zwischen Sauerstoffangebot und -bedarf auf zellulärer Ebene, eine erhöhte Protonenlast, Zellnekrosen und klinisch die akute Herzinsuffizienz bzw. der Myokardinfarkt. Eine Steigerung der Glucoseoxidation bzw. Hemmung der Fettsäureoxidation nach Ischämie-Reperfusion erscheint vorteilhaft.

Ziel unseres Projektes ist ein genaueres Verständnis des kardialen Energiestoffwechsels in hypoxisch-ischämischen Situationen mit Augenmerk auf zwei zentrale Regulatoren, die AMP aktivierte Protein Kinase (AMPK) und die Transkriptionsfaktoren der Peroxisome Proliferator Activated Receptors (PPAR) Familie.

Der Einfluss verschiedener Faktoren auf die AMPK, die PPARs und assoziierte Co-Regulatoren wird in kultivierten neonatalen Ratten-Kardiomyozyten untersucht. Unter anderem werden die Zellen hypoxischen Bedingungen ausgesetzt, mit chemischen AMPK Aktivatoren (z.B. Metformin) oder Inhibitoren behandelt, sowie über Gentransfer und si-RNA einzelne Regulatoren verstärkt exprimiert oder inhibiert. Methodisch kommen proteinchemische und mole-

kulargenetische Verfahren wie Western-Blot, Immunhistochemie, Polymerase Chain Reaction, Luciferase-Reportergene-Assay, adenoviraler Gentransfer, si-RNA und DNA-Chip Analysen zum Einsatz. Die in der Zellkultur gewonnenen Erkenntnisse werden außerdem im sog. „isolated working heart“, sowie in Myokardproben von Kindern mit angeborenen Herzfehlern überprüft.

Basierend auf den gewonnenen Einsichten kann möglicherweise die Therapie von Kindern mit zyanotischen Herzfehlern in Zukunft durch gezielte kardiale Stoffwechselmodulation optimiert werden.

### 3. Metabolic Modulation and Molecular Regulation of Cardiac Energy Metabolism in Children with Cyanotic Heart Disease

Children with congenital cyanotic heart defects have to live with reduced systemic arterial oxygen saturation. In some patients oxygen saturations are as low as 70-80%. The heart is an organ that is very sensitive to ischemia and/or hypoxia. It often has to work with this reduced oxygen supply for years. This entails a non-physiologic adaptation of cardiac energy metabolism after birth. Following a palliative or corrective surgery with extracorporeal circulation, hypoxia-adapted cardiomyocytes face a change in oxygen supply. This causes acute changes at the enzymatic level leading to an increased fatty acid oxidation. The long-term effect is a modification of myocardial-metabolic gene expression patterns.

After ischemia-reperfusion - which might occur after heart surgery - energy supply from fatty acid oxidation is detrimental: the more ATP is produced, the more oxygen is consumed in the  $\beta$ -oxidation pathway compared to glucose oxidation in the Krebs cycle. This results in a mismatch of oxygen supply and demand on a cellular level, an increased proton load, cell necrosis and may clinically lead to acute heart failure or even myocardial infarction. Increasing glucose oxidation or inhibiting fatty acid oxidation after ischemia-reperfusion appears to be beneficial according to previous studies.

The aim of our project is to better understand cardiac energy metabolism in hypoxic-ischemic situations with a focus on two important regulators: the AMP activated protein kinase (AMPK) and the transcription factor peroxisome proliferator activated receptor (PPAR).

We study the impact of different factors on AMPK and PPARs as well as their associated co-factors in cultivated neonatal rat cardiomyocytes. Among other treatments, we employ hypoxia, chemical AMPK activators (e.g. metformin) or inhibitors, si-RNA and adenoviral gene transfer to over-express activating or inhibiting regulators. Methods used include protein chemistry and molecular genetics such as western blot analysis, immunohistochemistry, polymerase chain reaction, luciferase reporter gene assay, adenoviral gene transfer technique, si-RNA and DNA-chip array analysis. Our results are further studied in an "isolated working heart" model and in myocardial biopsies from children with congenital heart defects.

The results of our studies could serve as the basis for an optimised therapy of children with congenital cyanotic heart disease by specific modulation of cardiac energy metabolism in the future.

#### Arbeitsgruppenleiter/innen Group Leaders

Dr. med. Michael Steinmetz

#### Kooperationen Cooperations

Dr. J.R.B. Dyck, Cardiovascular Research Group, University of Alberta, Edmonton, Kanada  
Dr. Ralf Krätzner, Abteilung Pädiatrie II, Neuropädiatrie und Stoffwechselerkrankungen, Universitätsmedizin Göttingen

Prof. Dr. Ralf Knoell, Arbeitsgruppe Kardiovaskuläre Molekulargenetik, Herzzentrum, Universitätsmedizin Göttingen

Dr. Tim Seidler, Abteilung Kardiologie und Pneumologie, Universitätsmedizin Göttingen

Prof. Dr. G.D. Lopaschuk, Cardiovascular Research Group, University of Alberta, Edmonton, Kanada

#### Drittmittelförderung Funding

Deutsche Gesellschaft für Pädiatrische Kardiologie (DGPK), Forschungsförderpreis 2007

#### Ausgewählte Publikationen Selected Publications

Steinmetz M, Quentin T, Krause U, Poppe A, Jux C, Paul T. (2006) Regulation of PPAR $\alpha$  activity and expression by metformin in cardiomyocytes: Involvement of the AMP-activated protein kinase. *J Mol Cell Cardiol* 49 (6), 934

Steinmetz M, Quentin T, Poppe A, Paul T, Jux C (2005) Changes in expression levels of genes involved in fatty acid metabolism: upregulation of all three members of the PPAR family (alpha, gamma, delta) and the newly described adiponectin receptor 2, but not adiponectin receptor 1 during neonatal cardiac development of the rat. *Basic Res Cardiol*, 100: 263-9.

Steinmetz M, Quentin T, Poppe A, Paul T, Jux C (2005) Metformin, a possible approach to metabolic modulation of heart failure in children? Increase in mRNA expression of genes involved in fatty acid metabolism upon treatment with metformin. *Cardiol Young*, 15 (suppl. 2): 13.

Sambandam N, Steinmetz M, Chu A, Altarejos JY, Dyck JR, Lopaschuk GD (2004) Malonyl-CoA decarboxylase (MCD) is differentially regulated in subcellular compartments by 5'AMP-activated protein kinase (AMPK). Studies using H9c2 cells overexpressing MCD and AMPK by adenoviral gene transfer technique. *Eur J Biochem*, 271: 2831-40.

### 4.

#### Rolle der Proteinase-aktivierten Rezeptoren bei der Nekrotisierenden Enterokolitis

Proteinase-aktivierte Rezeptoren (PARs) stellen eine Unterfamilie G-Protein gekoppelter Rezeptoren mit sieben transmembranären Domänen dar. Diese Unterfamilie ist durch einen einzigartigen Aktivierungsmechanismus über die proteolytische Spaltung verschiedener Serinproteasen (Thrombin, Trypsin, Tryptase, Cathepsin G, Proteinase-3, bakterielle Proteasen, Hausstaubmilbenallergene) gekennzeichnet. Eine Beteiligung von PARs konnte bei akuten und chronischen Entzündungen wie Pankreatitis, chronischen Darmerkrankungen, Entzündungen der Haut, Orchitis und rheumatoider Arthritis gezeigt werden. PAR2 wird von verschiedenen Zellen exprimiert, die unmittelbar an Entzündungs- und Immunreaktionen beteiligt sind. In den Studien stellte sich heraus, dass PAR2 die Zytokinproduktion und die Expression von Zelladhäsionsmolekülen sowohl auf humanen Neutrophilen als auch auf mikrovaskulären Endothelzellen beeinflusst. PAR2 Agonisten bewirkten eine signifikant höhere Motilität von humanen Neutrophilen im 3 D-Kollagen-Assay. Weiter konnte herausgearbeitet werden, dass PAR2 die Expression von CD62L auf neutrophilen Granulozyten direkt beeinflusst. Andererseits ist über die genaue Funktion von PAR2 und PAR4 bei Schlüsselfunktionen wie den Interaktionen von humanen Leukozyten und Endothel (bei Prozessen wie Apoptose, Abtötung von Bakterien und Phagozytose) sowie dem Prozess der transendothelialen Migration von Leukozyten sehr wenig bekannt. Diese Leukozytenfunktionen sind z. B. bei akuten entzündlichen Krankheitsprozessen wie der Sepsis wichtig.

Ziel dieses Projektes ist es, die Rolle von Proteinase-aktivierten Rezeptoren zu untersuchen am Beispiel der nekrotisierenden Enterokolitis (NEC) des Früh- und Neugeborenen, dessen Entstehung und genaue Ätiologie bis jetzt nicht vollständig geklärt ist. In einem ersten Ansatz wird anhand histologischer humaner Proben die Expression dieser Rezeptoren in den unterschiedlichen Stadien der NEC untersucht und mit klinischen Daten korreliert. In einem weiteren Ansatz wird mittels eines Tiermodells der Einfluss auf die Überlebensraten von Mäusen und einer eventuellen Organschädigung durchgeführt. Dafür sollen PAR1, PAR2 und PAR4 Gen-defiziente Mäuse verwendet werden. Diese Ergebnisse werden uns Rückschlüsse bezüglich der Rolle von Proteinase-aktivierten Rezeptoren in der Entstehung der NEC erlauben. Die Einflussnahme auf diese Reaktionswege könnte zur Entdeckung neuer Behandlungsstrategien bei Entzündung und Infektion führen.

#### 4. Proteinase-activated receptors in necrotizing enterocolitis

Proteinase-activated receptors (PARs) belong to a novel G-protein-coupled receptor subfamily with seven putative transmembrane domains, which can be activated by specific proteolytic cleavage. Different serine proteases (trypsins, trypsinase, elastase, kallikreins, and pathogen-derived proteases) are capable of activating PARs. PARs are expressed by various cells involved in immunity and inflammation such as eosinophils, monocytes, macrophages, neutrophils, epithelial and endothelial cells. Recently, we were able to demonstrate that PAR2 agonists enhance neutrophil motility in a 3-D collagen assay and delay neutrophil apoptosis. Moreover, PARs were demonstrated to play a significant role in both acute and chronic inflammatory diseases such as pancreatitis, chronic colitis, cutaneous inflammation, and rheumatoid arthritis. In further studies evidence was accumulated that PAR2 influences the production of cytokines and the expression of cell adhesion molecules of human granulocytes and endothelial cells. Furthermore it was shown that PAR2 has a direct influence on the expression of CD62L on neutrophil granulocytes. Unfortunately, knowledge of the function of PAR2 and PAR4 in central aspects of human leucocyte/ endothelial cell interaction (i.e. apoptosis, killing of bacteria and phagocytosis) or the receptors' involvement in trans-endothelial migration of leucocytes is limited. These leucocyte functions display key features for the development of acute inflammation as found e.g. in patients suffering from sepsis.

The aim of this project will be to investigate the role of proteinase-activated receptors in necrotizing enterocolitis (NEC) in pre- or term newborns. Until today the origin of NEC remains an enigma. We will analyze the expression of PAR-receptors in human tissues at various NEC stages. Results will be correlated with clinical data. Furthermore, an NEC animal model will be applied to investigate the influence of PARs on the survival rate of PAR1, PAR2 and PAR4 knock-out mice vs. wildtype mice. The implication of proteinase-activated receptors in the aetiology of NEC may facilitate to develop new strategies for the treatment of this disease.

#### Arbeitsgruppenleiter/innen Group Leaders

Dr. med. Stephan Seeliger

#### Kooperationen Cooperations

Prof. Dr. Dr. Martin Steinhoff, Department of Dermatology, Ludwig Boltzmann Institute for Cell and Immunobiology of the Skin, Von-Esmarch Straße 58, 48149 Münster and Department of Dermatology, University of San Francisco, USA

#### Ausgewählte Publikationen Selected Publications

Varga G, Ehrchen J, Tsianakas A, Tenbrock K, Rattenholl A, Seeliger S, Mack M, Roth J, Sunderkoetter C. Glucocorticoids induce an activated, anti-inflammatory monocyte subset in mice that resembles myeloid-derived suppressor cells. *J Leukoc Biol.* 2008 Sep;84(3):644-50. Epub 2008 Jul 8.

Pivarcsi A, Müller A, Hippe A, Rieker J, van Lierop A, Steinhoff M, Seeliger S, Kubitzka R, Pippirs U, Meller S, Gerber PA, Liersch R, Buenemann E, Sonkoly E, Wiesner U, Hoffmann TK, Schneider L, Piekorz R, Enderlein E, Reifenberger J, Rohr UP, Haas R, Boukamp P, Haase I, Nürnberg B, Ruzicka T, Zlotnik A, Homey B. Tumor immune escape by the loss of homeostatic chemokine expression. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2007 Nov 27;104(48):19055-60. Epub 2007 Nov 19. PubMed PMID: 18025475.

Seeliger S, Shpacovitch V M, Huber-Lang M, Balkow S, Feld M, Hollenberg M D, Sarma V J, Ward A P, Strey A, Gerke V, Sommerhoff C P, Vergnolle N, Steinhoff M. Agonists of Proteinase-activated Receptor-2 Affect Transendothelial Migration and Apoptosis of Human Neutrophils. *Exp Dermatol.* 2007 Oct;16(10):799-806.

Rattenholl A, Seeliger S, Buddenkotte J, Schon M, Schon MP, Stander S, Vergnolle N, Steinhoff M. Proteinase-Activated Receptor-2 (PAR(2)): A Tumor Suppressor in Skin Carcinogenesis. *J Invest Dermatol.* 2007 Sep;127(9):2245-52. Epub 2007 May 3.

Stander S, Stander H, Seeliger S, Luger TA, Steinhoff M. Topical pimecrolimus and tacrolimus transiently induce neuropeptide release and mast cell degranulation in murine skin. *Br J Dermatol.* 2007 May;156(5):1020-6. Epub 2007 Mar 28.

#### 5. Dreidimensionale Funktionsanalyse des linken Ventrikels zur Früherkennung der Herzbeteiligung bei Patienten mit neuromuskulären Erkrankungen am Beispiel der Muskeldystrophien vom Typ Duchenne und Becker

Die Muskeldystrophien vom Typ Becker und Duchenne sind erbliche degenerative Muskelerkrankungen, die häufig mit der Entwicklung einer dilatativen Kardiomyopathie einhergehen. Neben dem bisher üblichen zweidimensionalen echokardiographischen Screening auf systolische Funktionsstörungen sollen in dieser Studie neue Parameter auf ihre Bedeutung als mögliche Prädiktoren der Herzbeteiligung überprüft werden. 50 junge Patienten mit Muskeldystrophie sollen mittels quantitativer 3D-Echokardiographie und „strain“ sowie „strain rate“-Analyse im Gewebedoppler auf systolische und diastolische Funktionseinschränkungen und intraventrikuläre Dyssynchronie des linken Ventrikels untersucht und mit selbst generierten Referenzwerten von herzgesunden Kindern verglichen werden. Zusätzlich sollen die Herzfrequenzvariabilität und das Herzfrequenzniveau im 24h-Langzeit-EKG als mögliche Zeichen einer Sympathikusaktivierung, die Breite des Kammerkomplexes im Standard-EKG sowie der Laborparameter NT-Pro-BNP bestimmt werden, für den bereits eine enge Korrelation mit myokardialen Funktionseinschränkungen belegt ist.

## 5. Early detection of left ventricular dysfunction in patients with Duchenne and Becker's muscular dystrophy using automated 3D echo analysis

Duchenne and Becker's muscular dystrophy belong to a group of genetic hereditary muscle diseases that weaken the skeletal muscles. They are multi-system disorders with manifestation in the heart resulting in dilated cardiomyopathy. At the present time the standard method for cardiac screening in order to detect left ventricular dysfunction is conventional 2D echocardiography. The aim of our study is to analyze new echocardiographic parameters with their impact as predictors of cardiac dysfunction. In 50 young patients with muscular dystrophy 2D and 3D echocardiographic studies and tissue doppler (strain and strain rate imaging) will be performed followed by automated 3D echo analysis in order to detect systolic and diastolic left ventricular dysfunction and dyssynchrony. The results will be compared to age-matched reference values established in our institution in healthy children. In addition standard electrocardiogram and Holter monitoring will be performed in order to analyze QRS complex duration, heart rate, and heart rate variability as markers of sympathetic activity as well as serum NT-proBNP. All these parameters have already been validated to correlate appropriately with left ventricular dysfunction.

### Arbeitsgruppenleiter/innen Group Leaders

Dr. med. Verena Gravenhorst

### Drittmittelförderung Funding

Fördergemeinschaft Deutsche Kinderherzzentren e. V.

### Ausgewählte Publikationen Selected Publications

Bushby K, Muntoni F, Bourke JP. 107th ENMC International Workshop: The management of cardiac involvement in muscular dystrophy and myotonic dystrophy. 7<sup>th</sup>-9<sup>th</sup> June 2002, Naarden, the Netherlands

Politano L, Palladino A, Nigro G, Scutifero M, Cozza V.: Usefulness of heart rate variability as a predictor of sudden cardiac death in muscular dystrophies. Acta Myol. 2008;3:114-22

Corrado G, Lissoni A, Beretta S, et al. Prognosis value of electrocardiograms, ventricular late potentials, ventricular arrhythmias and left ventricular systolic dysfunction in patients with Duchenne muscular dystrophy. Am J Cardiol 2002;89:838-841

Kapetanakis S, Kearney MT, Siva A, Gall N et al. Real-Time Three-Dimensional Echocardiography. A novel technique to quantify global left ventricular mechanical dyssynchrony. Circulation. 2005;112:992-1000

## Anhang Appendix

### Habilitationen

Sigler M, Untersuchungen der Biokompatibilität kardiovaskulärer Implantate als Grundlage für die Entwicklung neuer Therapieverfahren für die Anwendung bei Kindern. Habilitation Universität Göttingen 2008.

Jux C, Biodegradierbare Implantate zur interventionellen Therapie von Herzscheidewanddefekten. Habilitation Universität Göttingen 2007.

### Medizinische Dissertationen (Dr. med.; Dr. med. dent.)

#### Doctorate Theses (Dr. med.; Dr. med. dent.)

Heinrich S, Dr. med., Regionale Lungenventilation bei spontan atmenden und beatmeten Früh-/Neugeborenen und Säuglingen - Einfluss der Körper- und Kopfgröße. Dissertation Universität Göttingen 2007.

Alpers V, Dr. med., Kardiopulmonale Leistungsfähigkeit und neurohumorale Aktivierung bei Jugendlichen und jungen Erwachsenen nach operierten angeborenen Herzfehlern. Dissertation Universität Göttingen 2008.

Frenzel I, Dr. med., Vergleich aktiver und passiver Atemgasklimatisierung bei Neugeborenen und Säuglingen anhand der Zytokinkonzentration im Trachealsekret. Dissertation Universität Göttingen 2008.

Hagendorf J, Dr. med., Vergleich zwischen Schütteltrauma und Schädel-Hirn-Trauma akzidenteller Genese im Säuglings- und Kleinkindalter (Retrospektive Studie). Dissertation Universität Göttingen 2008.

Kreischer A, Dr. med., Biokompatibilitätsuntersuchung an Implantaten zur interventionellen Therapie von angeborenen Herzfehlern. Dissertation Universität Göttingen 2008.

Lüers F, Dr. med., Die Wirkung von Isoprenalin auf die Herzfunktion im Verlauf der Ontogenese - Eine Untersuchung am isoliert antegrad perfundierten Kaninchen-Herzen. Dissertation Universität Göttingen 2008.

Arnhold J, Dr. med., Beta-Blocker-Therapie der Herzinsuffizienz bei Jugendlichen und Erwachsenen mit angeborenen Herzfehlern. Dissertation Universität Göttingen 2007.

Seehase M, Dr. med., Veränderungen in der Genexpression des Natrium-Kalzium-Austauschers, der Sarkoendoplasmatisches-Retikulum-Kalzium-ATPase 2a und des Calsequestrins in neonatalen und adulten Herzen nach „myocardial stunning“. Dissertation Universität Göttingen 2006.

### Wissenschaftliche Tagungen Scientific Meetings

2007: Forth Charleston Symposium on „Interventional Pediatric Electrophysiology“, Prof. Thomas Paul und J. Philip Saul, MD, Kiawah Island, South Carolina, USA

### Preise und Auszeichnungen Prizes and Awards

Dr. M. Steinmetz

Deutsche Gesellschaft für Pädiatrische Kardiologie (DGPK), Forschungsförderpreis 2007

### Mitgliedschaften und Mitarbeit in wissenschaftlichen Gremien und Kommissionen Memberships and Activities in Scientific Boards and Committees

Prof. Dr. med. Thomas Paul

Mitglied der „European Society of Cardiology task force for the interpretation of the neonatal electrocardiogram“

Mitglied der Kommission für Arzneimittelsicherheit der Deutschen Gesellschaft für Kinderheilkunde und Jugendmedizin

### Fachgutachtertätigkeit Function as Expert Consultant

Prof. Dr. med. Thomas Paul

Deutsche Forschungsgemeinschaft

### Herausgebtertätigkeit Editorial Work

Prof. Dr. med. Thomas Paul

Mitherausgeber der Zeitschrift Klinische Pädiatrie

### Internationale wissenschaftliche Kooperationen

#### International Scientific Cooperations

Dr. J.R.B. Dyck, Cardiovascular Research Group, University of Alberta, Edmonton, Kanada

Prof. Dr. G.D. Lopaschuk, Cardiovascular Research Group, University of Alberta, Edmonton, Kanada

Prof. J. Philip Saul, Section of Pediatric Cardiology, Department of Pediatrics, Medical University of South Carolina, Charleston, USA

I. Michel-Behnke, Kinderkardiologie, Medizinische Universität Wien, Österreich

N. Wilson, Pediatric Cardiology, The John Radcliffe, Oxford, UK

### Firmenkooperationen Industrial Cooperations

Firma Cryocath Technologies Inc., Quebec, Kanada (FSP 1)

Firma pfm AG, Köln (FSP 2)

### Vorhandene forschungsrelevante Großgeräte

#### Specialised Research Equipment

BicorPlus / T.O.P. (Fa. Siemens), Anlage für Cardioangiographie und Intervention mit Hicor Bildverarbeitungssystem und Cathcor Messplatz

CardioLab (Prucka Engineering, Inc), Elektrophysiologischer Messplatz

Localisa (Medtronic), Intrakardiales Navigations System

EnSite EC3000 (Endocardial Solutions), Elektrophysiologischer Messplatz mit 3D-Darstellung

Philips IE 33, 3-D Echokardiographie