

Anstieg immunmodulatorischer Signalmoleküle als Folge von akuten und chronischen Veränderungen der elektrischen Aktivität im Herzen

Cyril Neiß¹, Dr. med. Johanna Tennigkeit^{1,2,3}, Dr. rer. nat. Gregor Sachse^{1,3}, Prof. Dr. med. Oliver Ritter^{1,2,3}

¹Medizinische Hochschule Brandenburg, ²Universitätsklinikum Brandenburg an der Havel – Innere Medizin/ Kardiologie, ³ZTM – Zentrum für Translationale Medizin Brandenburg

Hintergrund

Aktuelle Forschungsergebnisse haben gezeigt, dass residente kardiale Makrophagen vermehrt im AV-Knoten vorkommen und dort über Connexin 43-haltige Gap-Junctions elektrisch mit Kardiomyozyten gekoppelt sind (1). Diese elektrische Kopplung moduliert das Membranpotential sowohl der Makrophagen als auch der Kardiomyozyten und fördert die Reizleitung. Der Verlust dieser Verbindung erhöht die Wahrscheinlichkeit für das Auftreten von AV-Blockierungen ersten bis dritten Grades.

Bisherige Untersuchungen haben sich auf die Signalübertragung und Beeinflussung residenter kardialer Makrophagen auf Kardiomyozyten und damit auf das Herzleitungssystem konzentriert (1). Wir stellen die Hypothese auf, dass die direkte Verbindung via Gap-Junctions auch dazu dienen kann, Signale in entgegengesetzter Richtung zu übertragen. Folglich könnte eine Veränderung der elektrischen Aktivität der Kardiomyozyten zu einer Aktivierung der Makrophagen und zur Freisetzung von immunmodulierenden Botenstoffen führen.

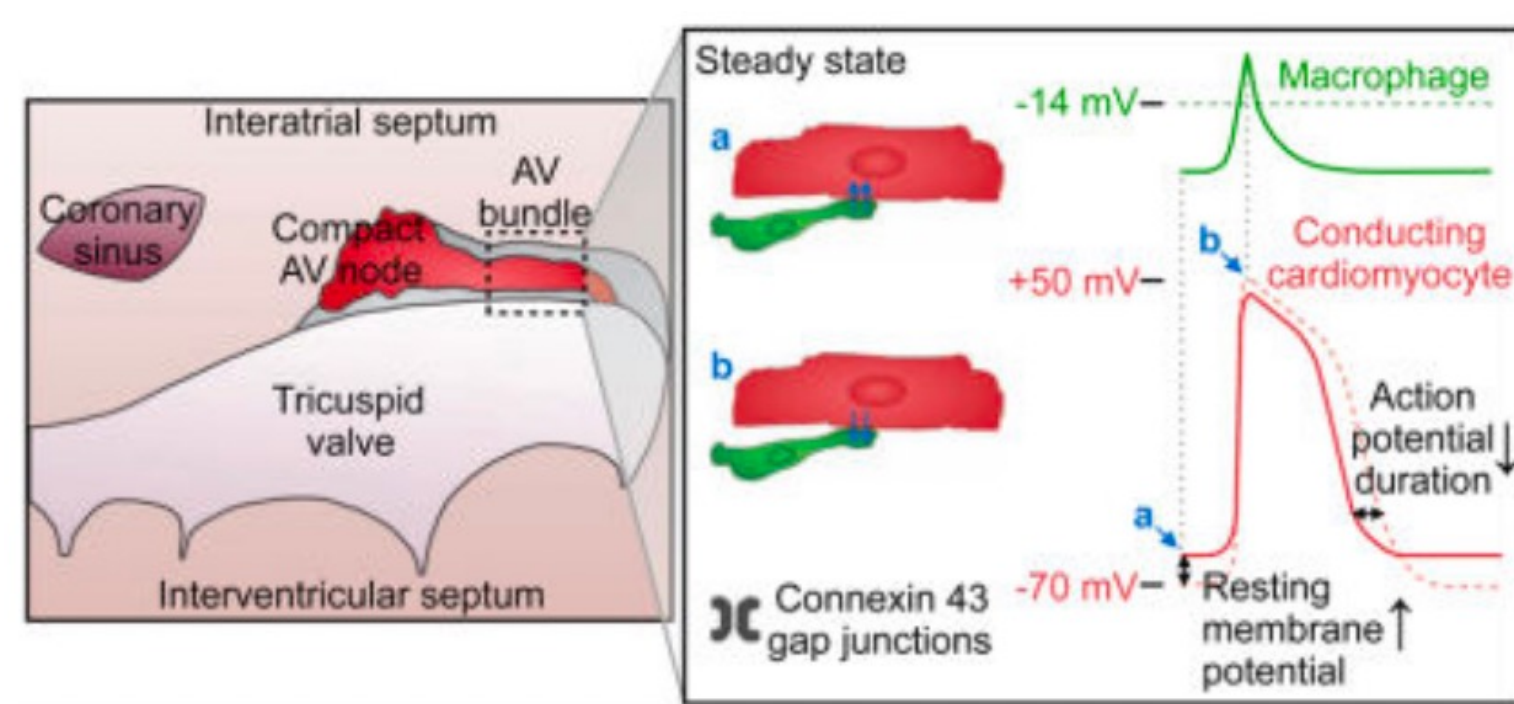


Abb. 1: Makrophagen-Kardiomyozyten-Kopplung im AV-Knoten: Potentialaufzeichnung mittels Whole-Cell Patch-Clamp Technik (1)

Projektziel:

Untersuchung der Auswirkungen akuter und chronischer Veränderungen der elektrischen Aktivität von Herzmuskelzellen auf die Freisetzung Makrophagen-assoziiierter Signalmoleküle

Methodik

Im Rahmen regulärer elektrophysiologischer Untersuchungen haben wir Blutproben von 33 Patient:innen gewonnen. Die Blutentnahmen erfolgten aus der Vena femoralis (peripher) und dem Koronarvenensinus (intrakardial), jeweils vor und nach intrakardialer elektrischer Stimulation (rapid pacing via Herzkatheter). Mit Hilfe eines Immunofluoreszenz-basierten Multiplex Assays wurden 13 makrophagen-assoziierte Signalmoleküle im Blutplasma gemessen. Die Konzentrationen der folgenden Signalmoleküle wurde versucht zu quantifizieren: Arginase, IL-1RA, IL-6, IL-10, IFN- γ , IL-12p40, IL-12p70, IL-1 β , IL-23, IL-4, IP-10, TARC und TNF- α . Verglichen wurden erstens die Plasmakonzentrationen normofrequenter Patient:innen (n=20) vor und nach elektrischer Stimulation und zweitens die Plasmakonzentrationen normofrequenter Patient:innen mit solchen die an chronisch tachykarden Herzrhythmusstörungen (n=13) leiden.

Einschlusskriterien: volljährige Patient:innen des Universitätsklinikum Brandenburg, die im Rahmen der leitliniengerechten Diagnostik eine elektrophysiologische Untersuchung erhalten

Ausschlusskriterien: Ablehnung der Studienteilnahme, < 18 Jahre, aktive Tumorerkrankung, aktive Autoimmunerkrankung, bestehende Immunsuppression, serologische oder klinische Infektionszeichen bei Aufnahme, CRP > 50 mg/l, Fieber > 37,4 °C, PCT > 0,5 ng/ml

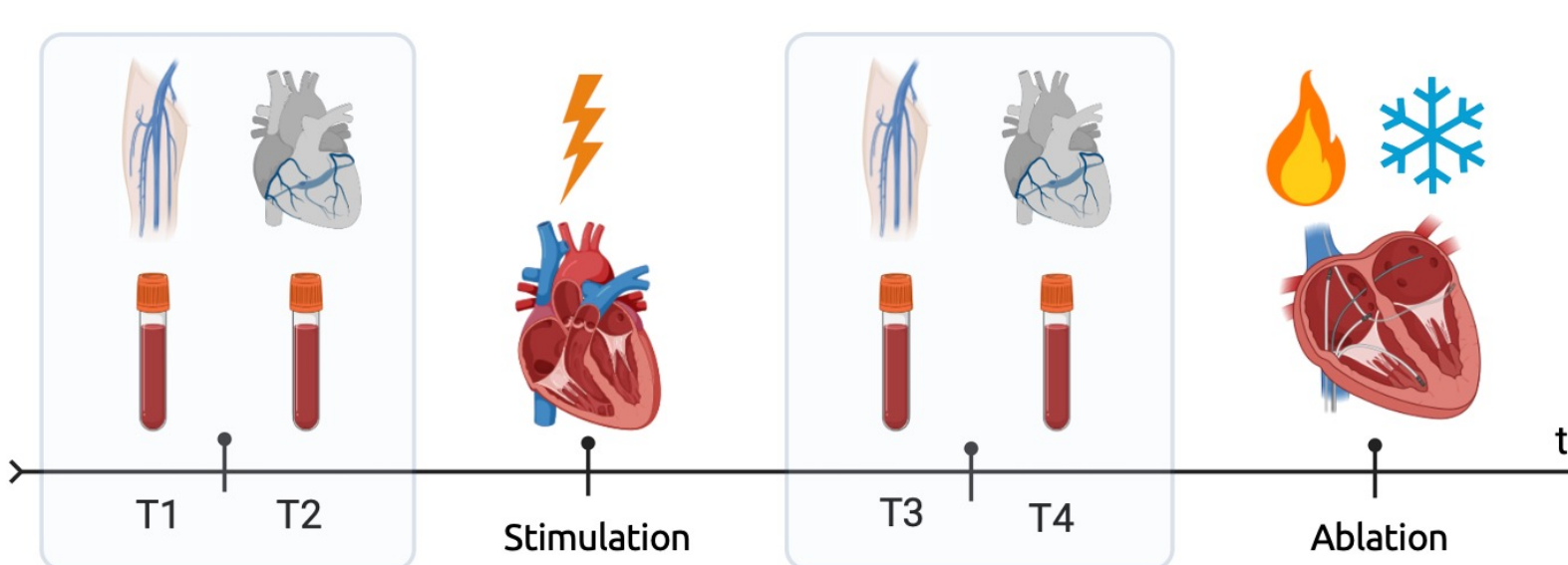


Abb. 2: Schematische Darstellung der Blutprobenentnahmen während der elektrophysiologischen Untersuchung. Periphere Blutproben vor (T1) und nach (T3) elektrischer Stimulation; intrakardiale Blutproben vor (T2) und nach (T4) elektrischer Stimulation.

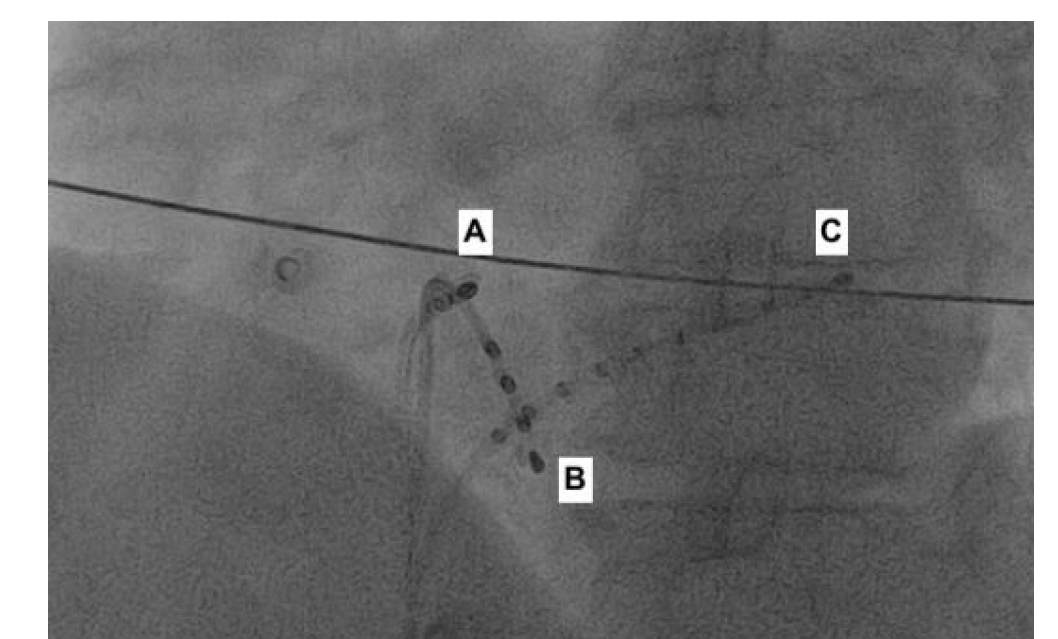


Abb. 3: Röntgenansicht der intrakardialen Katheter (LAO-Projektion 30°). A) Ablationskatheter in HIS-Position, B) Rechtsventrikulärer Stimulationskatheter, C) Koronarvenensinuskatheter mit Multipurposekatheter.

Ergebnisse

Die Plasmakonzentrationen von IL-1RA, IFN- γ , IL-12p40, IL-12p70, IL-1 β , IL-23, IL-4, IL-10 und TNF- α lagen größtenteils unterhalb der Nachweisgrenzen und wurden daher von der Analyse ausgeschlossen.

Dargestellt sind die peripher (Abb. 4) und intrakardial (Abb. 5) gemessenen Plasmakonzentrationen von IL-6, IP-10 und Arginase normofrequenter Patient:innen vor (Normofrequenz) und nach (Post-Stimulation) intrakardialer Stimulation, sowie die Konzentrationen von Patient:innen mit tachykarden Herzrhythmusstörungen (chr. Tachykardie), die keine elektrische Stimulation erhalten haben. Klinisch konnten einzelne Probenabnahmen nicht durchgeführt werden, aufgrund dessen weichen die Probengrößen teilweise von der tatsächlich untersuchten Gesamtzahl der Patient:innen ab.

Signifikante Unterschiede

- ein p-Wert von 0,031 wurde für die Differenz der peripheren IL-6 Plasmakonzentrationen normofrequenter Patient:innen vor und nach elektrischer Stimulation berechnet (Abb. 4a)
- ein p-Wert von 0,013 wurde für den Unterschied der peripheren IL-6 Plasmakonzentrationen zwischen normofrequenter und chronisch tachykarder Patient:innen berechnet (Abb. 4a)
- ein p-Wert von 0,021 wurde für die Differenz der peripheren IP-10 Plasmakonzentrationen normofrequenter Patient:innen vor und nach elektrischer Stimulation berechnet (Abb. 4b)
- ein p-Wert von 0,045 wurde für den Unterschied der peripheren IP-10 Plasmakonzentrationen zwischen normofrequenten Patient:innen und solchen, die an chronisch tachykarden Herzrhythmusstörungen leiden berechnet (Abb. 4b)
- ein p-Wert von 0,044 wurde für den Unterschied der intrakardialen IL-6 Plasmakonzentrationen zwischen normofrequenten und chronisch tachykarden Patient:innen berechnet (Abb. 5a)
- ein p-Wert von 0,012 wurde für die Differenz der intrakardialen Arginase Plasmakonzentrationen normofrequenter Patient:innen vor und nach elektrischer Stimulation berechnet (Abb. 5c)

Die Vergleiche der übrigen Plasmakonzentrationen von IL-6, IP-10, Arginase und dem nicht dargestellten TARC wiesen keine signifikanten Unterschiede auf.

Statistische Methodik

Die statistische Signifikanz der nicht-parametrischen Datensätze wurde mittels des Wilcoxon-Vorzeichen-Rangtests für gepaarte Werte und des Mann-Whitney-U-Tests für ungepaarte Werte berechnet. Ein Signifikanzniveau von $p < 0,05$ wurde festgelegt.

Schlussfolgerung und Ausblick

Die Ergebnisse der ersten 33 Patient:innen deuten auf eine Signalmolekülfreisetzung infolge akut und chronisch veränderter elektrischer Aktivität im Herzen hin und unterstützen die Hypothese einer Gap-Junction-vermittelten Aktivierung kardialer Makrophagen.

Die erhöhten Interleukin-6 (IL-6) und Interferon-gamma induced protein 10- (IP-10) Konzentrationen, weisen auf eine vornehmlich proinflammatorische Antwort (2). Es konnte gezeigt werden, dass Interleukin-6 die Expression von Connexin im Herzen vermindert (3). Dies könnte auf einen möglichen Desensibilisierungsmechanismus deuten. Arginase (Arg1, Arg2) ist klassischerweise ein intrazelluläres Enzym des Harnstoffzyklus. In Makrophagen übernimmt es sowohl pro- als auch anti-inflammatorische Funktionen: Arginase 2 fördert bspw. die Produktion von Zytokinen, wie TNF- α und IL-6 (4). Im Gegensatz dazu weist Arginase 1 eine eher dämpfende Wirkung auf die Immunantwort auf (4). Untersuchungen haben gezeigt, dass sowohl IL-6 und IP-10 als auch Arginase im Zusammenhang mit der Entstehung und dem Fort-

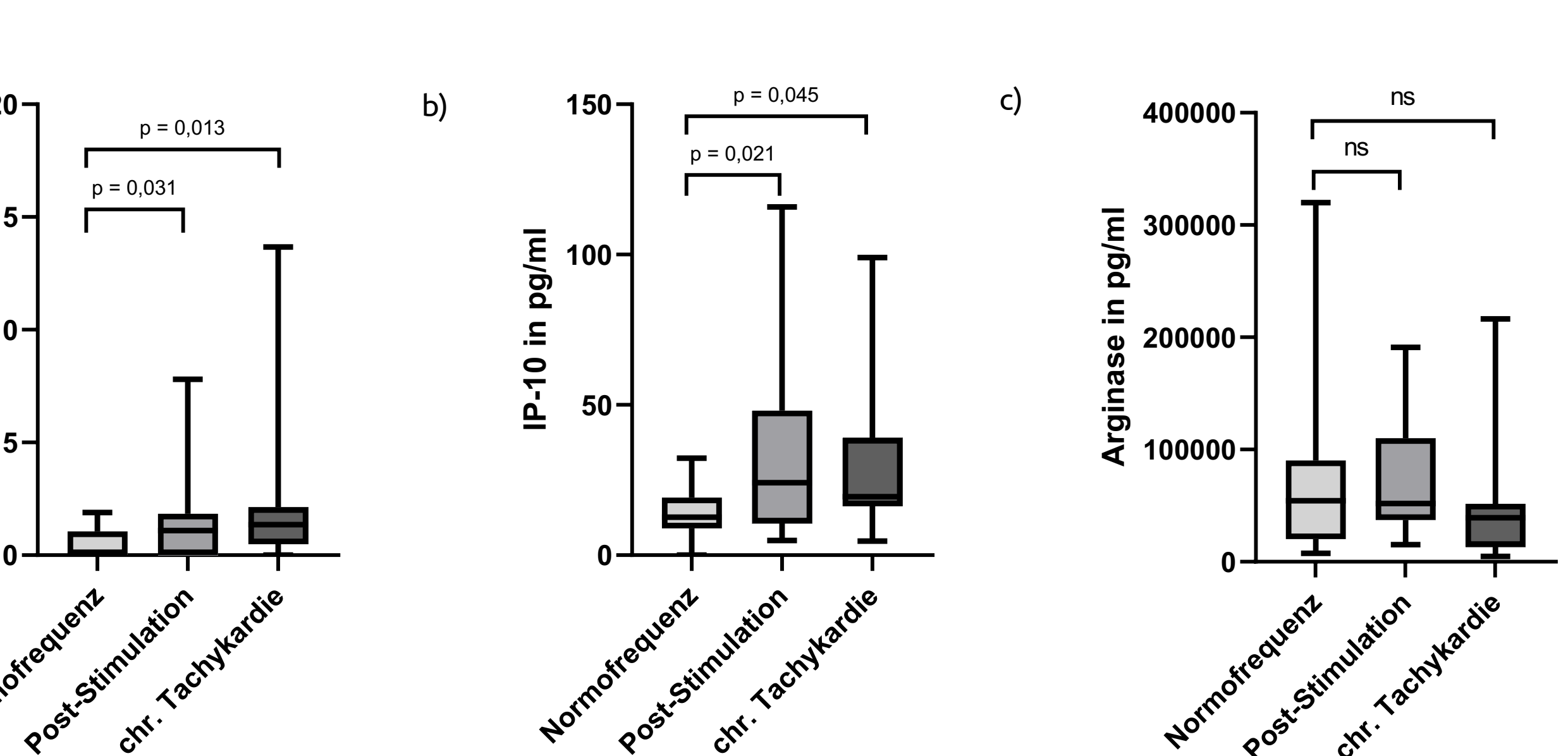


Abbildung 4: Periphere Plasmakonzentrationen von a) IL-6, b) IP-10, c) Arginase. Normofrequenz/ Post-Stimulation, n = 12, chronische Tachykardie n = 13

Intrakardial

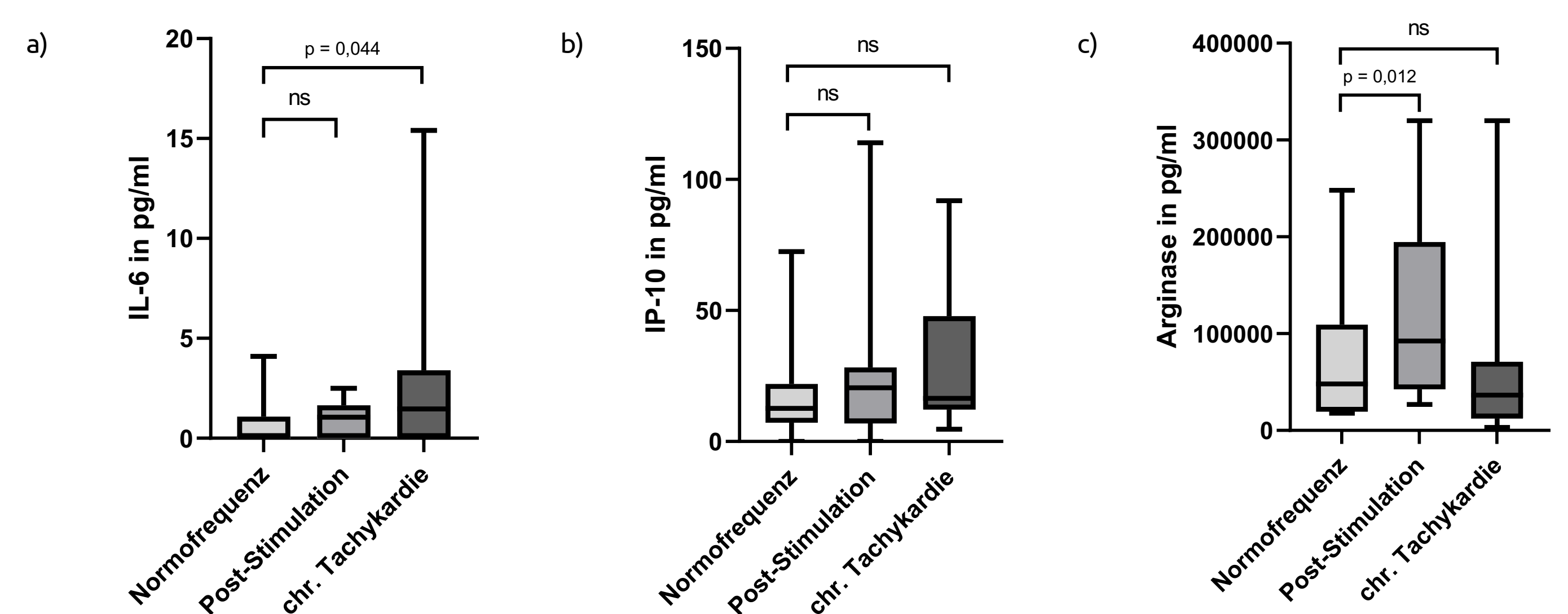


Abbildung 5: Intrakardiale Plasmakonzentrationen von a) IL-6, b) IP-10, c) Arginase. Normofrequenz/ Post-Stimulation n = 12, chronische Tachykardie n = 11

*chr. = chronische

schreiten kardiovaskulären Erkrankungen stehen (2, 4). In unseren Untersuchungen wiesen die intrakardialen IL-6- und IP-10-Konzentrationen keine signifikanten Unterschiede auf (ausgenommen intrakardiales IL-6 bei chronisch tachykarden Patient:innen). Da die Veränderungen der peripheren und intrakardialen IL-6 und IP-10-Konzentrationen im Median gleich sind, erwarten wir bei Erweiterung der Probengröße eine statistische Signifikanz. Sobald die Stichprobengröße ausreichend groß ist, sind Regressionsanalysen zur Identifikation von Faktoren, die einen Einfluss auf die Plasmakonzentrationen nehmen könnten – wie bspw. das Alter, Gewicht oder Vorerkrankungen – vorgesehen. Darüber hinaus gilt es den zellulären Ursprung der Signalmoleküle herauszufinden. Dafür ist im ersten Schritt eine immunhistochemische Anfärbung von Schweineherzen mit tachykarden Herzrhythmusstörungen geplant. Zusätzlich bedarf es umfassender Untersuchungen des vermuteten Aktivierungsmechanismus residenter kardialer Makrophagen. Hier sind eine Calcium-induzierte Aktivierung über Gap-Junctions, oder eine Aktivierung über mechanosensitive Ionen-Kanäle denkbar (5, 6).

Referenzen

1. Hulsmans M, Clauss S, Xiao L, Aguirre AD, King KR, Hanley A, u. a. Macrophages Facilitate Electrical Conduction in the Heart. Cell. April 2017;169(3):510-522.e20.
2. Wei T, Zhu Z, Liu L, Liu B, Wu M, Zhang W, u. a. Circulating levels of cytokines and risk of cardiovascular disease: a Mendelian randomization study. Front Immunol. Mai 2023;14:1175421.
3. Lazzerini PE, Laghi-Pasini F, Acampa M, Srivastava U, Bertolozzi I, Giabbanini B, u. a. Systemic Inflammation Rapidly Induces Reversible Atrial Electrical Remodeling: The Role of Interleukin-6-Mediated Changes in Connexin Expression. J Am Heart Assoc Cardiovasc Cerebrovasc Dis. August 2019;8(16):e011006.
4. Li Z, Wang L, Ren Y, Huang Y, Liu W, Lv Z, u. a. Arginase: shedding light on the mechanisms and opportunities in cardiovascular diseases. Cell Death Discov. 8. Oktober 2022;8:413.
5. Zhou X, Li Z, Wang Z, Chen E, Wang J, Chen F, u. a. Syncytium calcium signaling and macrophage function in the heart. Cell Biosci. März 2018;8:24.
6. Wong NR, Mohan J, Kopecky BJ, Guo S, Du L, Leid J, u. a. Resident Cardiac Macrophages Mediate Adaptive Myocardial Remodeling. Immunity. September 2021;54(9):2072-2088.e7.

Kontakt: Cyril Neiß, Medizinische Hochschule Brandenburg, cyril.neiss@mhb-fontane.de