

Vorhaben

Teilprojekt 1 - Targetvalidierung: Herzschützendes Targeting von ERK (ERK CASTing) – Validierung der Zielstruktur bei Herzinsuffizienz, Krebs und RASopathien

Cardio Save Targeting of ERK
ERK-Casting

Förderkennzeichen

16GW0262K

Schlussbericht

01.08.2020 – 28.02.2023

(inkl. Verlängerung und Aufstockungen)

Leibniz-Institut für Analytische Wissenschaften – ISAS – e.V.
Bunsen-Kirchhoff-Straße 11
44139 Dortmund

Inhalt

I. Kurzbericht

1. Aufgabenstellung
2. Wissenschaftlicher und technischer Stand, an den angeknüpft wurde
3. Ablauf des Vorhabens
4. Wesentliche Ergebnisse
5. Zusammenarbeit mit anderen Forschungseinrichtungen (Projektpartner)

II. Eingehende Darstellung

1. Erzielte Ergebnisse
2. Wichtigste Positionen des zahlenmäßigen Nachweises
3. Notwendigkeit und Angemessenheit der geleisteten Arbeit
4. Voraussichtlicher Nutzen, insbesondere der Verwertbarkeit des Ergebnisses im Sinne des fortgeschriebenen Verwertungsplans
5. Während der Durchführung des Vorhabens dem ZE bekannt gewordener Fortschritt auf dem Gebiet des Vorhabens bei anderen Stellen
6. Erfolgte oder geplante Veröffentlichungen des Ergebnisses nach Nr.11

I. Kurzbericht

1. Aufgabenstellung

Die Dysregulation von ERK1/2 spielt bei vielen Erkrankungen eine zentrale Rolle, unter anderem bei Herzschwäche, Krebserkrankungen und genetischen Erkrankungen, den sogenannten RASopathien. Die Hemmung der Enzyme durch Arzneimittel, die bereits in der Krebstherapie Anwendung finden, kann schwere kardiale Nebenwirkungen hervorrufen. Da Krebspatienten eine immer höhere Lebenserwartung haben, gewinnen diese Arzneimittel-induzierten Nebenwirkungen an Aufmerksamkeit. Wir haben eine zentrale Schaltstelle im Wirkmechanismus der Enzyme gefunden, die spezifisch die pathologischen Effekte der Enzyme vermittelt und die gleichzeitig für Herzmuskelzellen überlebenswichtigen Funktionen dieser Enzyme nicht beeinträchtigt. Das Projekt hatte das Ziel, (i) die ERK-Dimer-Schnittstelle als therapeutisches Ziel bei Herzinsuffizienz, Krebs und RASopathien zu validieren, (ii) den ERK-Peptid-Komplex zu kristallisieren und zu modellieren, (iii) niedermolekulare Inhibitoren des ERK-Dimer-Komplexes zu entwickeln und (iv) geeignete Testverfahren für die künftige Optimierung von Wirkstoffen zu etablieren. Im Teilverhaben des ISAS sollte die Validierung der ERK-ERK-Interaktionsfläche als Target und als nebenwirkungsärmerer therapeutischer Ansatz im Vergleich zu Inhibitoren des Raf-MEK-ERK1/2 Signalweges erfolgen. *In vitro* und *in vivo* sollte das ERK-ERK Interface als Target validiert werden, im Herzinsuffizienzmodell, bei Tumorentitäten und bei einer genetischen Erkrankung, dem sogenannten Noonan-Syndrom. Zudem sollten potenzielle Nebenwirkungen der Strategie charakterisiert werden.

2. Wissenschaftlicher und technischer Stand an den angeknüpft wurde

Die Dysregulation des Raf/MEK/ERK1/2-Signalwegs ist bei verschiedenen Krankheiten krankheitsauslösend und ein bewährtes Ziel in der Krebstherapie. Inhibitoren dieser Kaskade haben sich in der Klinik als erfolgreich erwiesen, aber die Dauer ihrer Wirksamkeit ist durch Arzneimittelresistenz begrenzt und langfristige Nebenwirkungen wurden weitgehend vernachlässigt. Die gezielte ERK^{T188}-Phosphorylierung-/ERK-Dimerisierung ist ein vielversprechender Ansatz, um die derzeitigen Einschränkungen zu überwinden. Er verspricht,

- eine ERK-Targeting-Methode mit deutlich reduzierten kardialen Nebenwirkungen,
- das Potenzial der therapeutischen Hemmung der ERK1/2-Signalkaskade zu verbessern,
- neue Indikationen mit dringendem Bedarf zugänglich zu machen, wobei die Behandlung von Herzinsuffizienz, Krebs und RASopathien im Mittelpunkt steht,
- die Reduktion von gegenregulatorischen Resistenzmechanismen von Krebszellen.

3. Ablauf des Vorhabens

Target-Validierung: Validierung der therapeutischen Zielstruktur, der ERK^{T188}-Phosphorylierung bzw. ERK-Dimerisierung, für verschiedene Schlüsselindikationen mit hohem therapeutischen Bedarf.

Evaluierung der Nebenwirkungen: Analyse der Nebenwirkungen der Targetstrategie sowie Etablierung von Kardiotoxizitätsassays und erste Analysen von identifizierten Substanzen.

Die Projektarbeiten (s. Tabelle 1) haben sich bedingt durch die Corona-Pandemie, aufgrund von



Verzögerungen in der Mauszucht und Durchführung der *in vivo*-Versuche sowie einer verspäteten Besetzung und des personellen Wechsels der Postdoktorandenstelle verschoben. Die geplanten *in vitro*-Versuche AP9 (Etablierung funktioneller Assays und Kardiotox-Assay) wurden aufgrund der Verzögerungen in den Mausstudien vorgezogen. Die Untersuchungen von AP1 (Validierung der Peptidstrategie in der

Herzinsuffizienz) und AP2 (Transfer der Peptidstrategie auf Tumorzellen) wurden teilweise erreicht, aufgrund der erfolgreichen Identifikation von kleinen Molekülen jedoch vergleichend mit der Peptidstrategie angesetzt, so dass diese Versuchsteile teilweise noch laufen bzw. sich in der Auswertung befinden. Mit Hilfe der kosteneutralen Verlängerung des Projektes konnten die Verzögerungen aufgeholt werden.

4. Wesentliche Ergebnisse

Im Teilprojekt des ISAS wurde die Etablierung von Assays zum Screenen für Kardiotoxizität auf 96-well Format etabliert (Zellviabilität, Arrhythmien, Schlagregelmäßigkeit). In diesen Assays und funktionellen *in vitro* Assays wurden die vom LDC identifizierten Substanzen charakterisiert. Zudem wurde eine Maus generiert, die das Peptid ubiquitär exprimiert und diese auf potenzielle Nebenwirkungen, u.a. auch Effekte in Entzündungszellen, untersucht. Als Kontrolle wurden Inhibitoren bei den Experimenten mitgeführt, die als MEK-Inhibitoren in der Klinik zum Einsatz kommen. Des Weiteren wurde im Hinblick auf mögliche Kontraindikationen untersucht, welche physiologischen Funktionen die ERK^{T188}-Phosphorylierung hat. Die *in vivo* und *in vitro* Untersuchungen unterstreichen die gute Verträglichkeit unseres therapeutischen Ansatzes. Von den 24 vorgescreerten Substanzen werden momentan diese ausgewählt, die eine mit dem Peptid vergleichbare Effizienz auf die ERK^{T188}-Phosphorylierung und Kardiomyozytenhypertrophie haben und keine Apoptose auslösen, um diese mit in die noch *laufenden in vivo* Studien zur Herzinsuffizienz und Darmkrebs einzuschließen. Im Hinblick auf die Anwendung der EDI-Interventionsstrategie in einem RASopathie-Modell sind die ersten Ergebnisse zudem positiv.

5. Zusammenarbeit mit anderen Stellen

Das Projekt wurde als Kooperationsprojekt mit dem LDC und der TU Dortmund durchgeführt. Alle Konsortialpartner haben in das Projekt ihre Kernexpertisen eingebracht. Das ISAS hat aufgrund seiner Expertise im kardiovaskulären Bereich die Analysen der ERK1/2-Signaltransduktion, der Validierung der therapeutischen Strategie, der Toxizitätstestung und funktionellen Testung von potenziellen Inhibitoren der ERK-Dimerisierung, sowie im Aufbau und der Durchführung verschiedener Assays zur Identifizierung und Charakterisierung potenzieller Inhibitoren der ERK-Dimerisierung durchgeführt.

Teil II: Eingehende Darstellung

1. Erzielte Ergebnisse

Die in diesem Bericht beschriebenen Arbeiten basieren auf Vorarbeiten der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. Kristina Lorenz (ISAS Dortmund), in denen als *Proof-of-Concept* die Verwendung des Peptids EDI zur Inhibition der ERK-Dimerisierung und der ERK^{T188}-Phosphorylierung genutzt wurde (Tomasovic et al. 2020). Hierauf aufbauend sollte in diesem Teilprojekt, das Target, die ERK-ERK Interaktionsfläche als therapeutisches Target bei Herzinsuffizienz validiert werden, sowie das Potenzial bei der Indikation Krebs und beim Noonan Syndrom getestet werden. In dem Kontext als therapeutisches Target sollten in diesem Teilprojekt auch mögliche Nebenwirkungen und kardiotoxische Effekte überprüft werden.

Im Folgenden sind die erzielten Ergebnisse im Vergleich zur Meilensteinplanung für die dieses Teilprojekt zugeordneten Arbeitspakete genauer dargestellt.

AP1: Validierung der Peptidstrategie in der Herzinsuffizienz (teil. erreicht, Auswertung läuft noch)

AP2: Transfer der Peptidstrategie auf Tumorzellen (teilw. erreicht, läuft noch)

AP3: pERKT188 und Peptidstrategie bei RASopathie (erreicht)

AP4: Charakterisierung der Toxizität der Peptidstrategie (erreicht)

AP9: Etablierung funktioneller Assays und Kardiotox-Assay (erreicht)

Arbeitspaket 1:

Die Validierungsstudien für die Indikation *Herzinsuffizienz* im Vergleich zu MEK-Inhibitoren sind noch nicht vollständig abgeschlossen. In die laufenden Studien werden die in AP9 identifizierten Substanzen mit aufgenommen und die Auswertung wird zusammen erfolgen.

Um generelle Nebenwirkungen/Toxizität der Interventionsstrategie bzw. die Wirkungen im Gesamtorganismus zu beurteilen und damit die potenzielle therapeutische Nutzung des Targets zu validieren, wurden Mäuse mit ubiquitärer Überexpression (CAG-Promoter; CAG-Peptid) des bisher erfolgreich verwendeten „Leitpeptids“, das nicht oral bioverfügbar ist, sondern bisher nur durch Transfektion/Transduktion in die Zielzellen eingebracht wurde, erfolgreich generiert. Die Analyse des Allgemeinbefindens mit Hilfe eines anerkannten Score-Verfahrens wurde erfolgreich abgeschlossen. In Abbildung 1 ist der Verlauf des Körpergewichts bei diesen Mäusen im Vergleich zu WT-Mäusen gezeigt. Unter basalen Bedingungen (ohne zusätzlich Behandlung oder Intervention) konnte keine Belastung der Tiere festgestellt werden. Auch diese Tiere wurden in die Herzinsuffizienzstudien inkludiert.

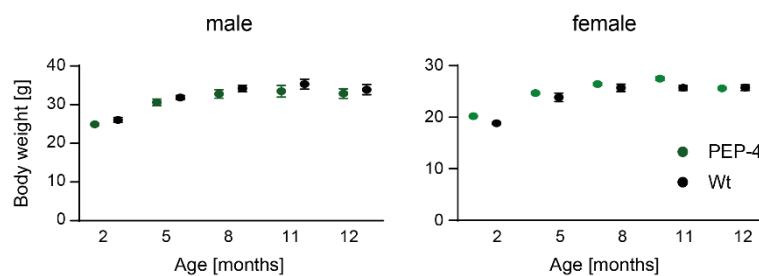


Abb. 1: Verlauf des Körpergewichts bei männlichen und weiblichen WT-Mäusen und Mäusen mit ubiquitärer Überexpression von EDI (hier PEP4 genannt) bis zu einem Alter von 12 Monaten.

Die Untersuchung der T-Zell-Subsets der Milz mittels FACS-Analyse zeigte, dass die relative Zahl der CD4+ und CD8+ T-Zellen von naiven Effektor- und Memmory-Zellen in EDI-transgenen und WT-Tieren ähnlich war (s. Abbildung 2).

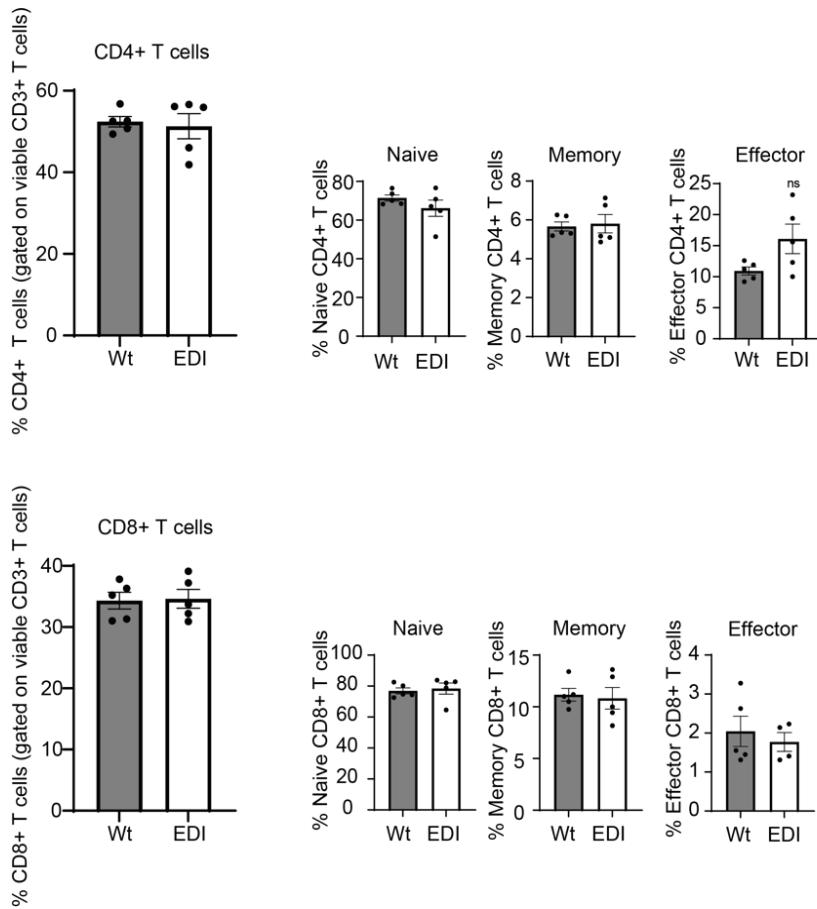


Abb. 2: Durchflusszytometrie-Charakterisierung von T-Zellen in der Milz von EDI-transgenen und WT- Mäusen. Aufgetragen ist die relative Anzahl der CD4+ und CD8+ T-Zellen von naiven (CD44- CD62L+), T-Effektorzellen (CD44+ CD62L- und zentralen T-Gedächtniszellen (CD44+ CD62L+) in der Milz von EDI-transgenen und WT-Mäusen.

Zudem zeigte sich in weiteren Versuchen sogar, dass EDI eine antiinflammatorische Wirkung zu haben scheint, eine Funktion, die sich sowohl bei Herzinsuffizienz als auch Krebserkrankungen positiv auswirken kann.

Arbeitspaket 2:

Die Untersuchungen der Interventionsstrategie in Krebszellen (SCLC; small cell lung carcinoma) und nicht-kleinzeligen Lungenkarzinomzellen (NSCLC; non-small cell lung carcinoma) sowie verschiedenen Melanomen sind erfolgreich durchgeführt worden.

Das Vorkommen der ERK^{T188}-Phosphorylierung in humanen *Tumoren* wurde für SCLC und NSCLC nachgewiesen, ebenso in verschiedenen Melanomen und entsprechende Proliferationsassays wurden erfolgreich durchgeführt. Das heißt, das Peptid (EDI) wurde in H1703 Zellen (nicht kleinzellige Lungenkrebszelllinie, NSCLC; H1703) und in einer kleinzelligen Lungenkrebszelllinie (kleinzellige Lungenkrebszelllinie, SCLC; H196) getestet. Diese beiden Zelllinien unterscheiden sich in ihrer Abhängigkeit vom ERK1/2-Signalweg. Während dieser Signalweg bei H1703-Zellen eine zentrale Rolle spielen soll, soll die H196 Zelllinie weniger von diesem Signalweg abhängen. Mit diesen Zellen wurden Proliferationsassays und Western Blots durchgeführt. Während H1703-Zellen effizient mit einem

Proliferations-hemmenden Effekt auf die Behandlung mit dem Peptid (EDI) reagierten, konnte dieser Effekt bei H196-Zellen nicht beobachtet werden. Entsprechend hemmte das Peptid pERK^{T188} in H1703 aber nicht in H196 Zellen. Diese Daten stützen unsere Annahme, dass EDI das Potential hat, Krebszellwachstum zu vermindern, wenn die MAPK-Kaskade pathophysiologisch involviert ist.

Für die Translation der Ergebnisse in ein humanes bzw. *in vivo*-Modell wurden in Kooperation mit Armin Wiegering (Universitätsklinikum Würzburg) humane Kolonkarzinom-Organoide etabliert, Lentiviren hergestellt und die Testungen werden nun zusammen mit den in AP9 identifizierten Substanzen durchgeführt.

Arbeitspaket 3:

In diesem Arbeitspaket wird der Effekt des Peptids auf *RASopathien* untersucht. Mäuse mit einer Mutation im Raf1-Gen (RafL613V) wurden mittels AAV9-EDI behandelt bzw. wurden diese mit der EDI-Maus mit ubiquitärer EDI-Expression gekreuzt. Diese Tiere wurden longitudinal verfolgt und ihr Überleben analysiert und zudem wurden einige der Tiere einer TAC-OP unterzogen als zusätzlichen Hypertrophiestimulus. Die Ergebnisse sind vielversprechend, d.h. die Raf-Mäuse weisen ein signifikant höheres Herzgewicht nach TAC im Vergleich zu Kontrolltieren auf und die mit EDI gekreuzten Tiere ein reduziertes Herzgewicht. Die histologischen Untersuchungen und funktionellen Parameter, befinden sich noch in der Auswertung, sie sehen aber vielversprechend aus. Die Studie hat eine Kooperation mit dem Uniklinikum in Göttingen initiiert, wo wir EDI und die vielversprechenden Substanzen nun auch in den entsprechenden iPS-CM für weitere *in vivo* Studien vorscreenen können.

Arbeitspaket 4 und 9:

In diesem AP sollte die Toxizität der Peptidstrategie bzw. der ERK-Dimerisierungshemmung untersucht werden. 2022 wurden zu dieser Fragestellung, EDI (adenoviral) und niedermolekulare Verbindungen auf ihre Auswirkungen auf Herzmuskelzellen verglichen. Diese Substanzen stammen aus dem Projektteil des Projektpartners LDC. DEL-22379, eine Substanz, die von einer anderen Gruppe veröffentlicht wurde und für die Anwendung bei Tumorerkrankungen vorgeschlagen wurde, weist zwar ähnlich wie EDI eine antihypertrophe Wirkung auf und hemmt die ERK^{T188}-Phosphorylierung, ist aber mit sehr starken antiarrhythmischen Effekten in Herzmuskelzellen verbunden. Zusammen mit dem LDC werden daher aktuell Verbindungen gesucht, die die protektiven Eigenschaften von EDI in einem niedermolekularen Molekül widerspiegeln. Mit Hilfe einer Impedanzbasierten Messung kann der Einfluss von verschiedenen Verbindungen auf die Viabilität und das Schlagverhalten von neonatalen Kardiomyozyten analysiert werden. Durch dieses Messverfahren wurden die LDC-Substanzen 576, 188, 189, 088 und 542 als nicht toxisch identifiziert, d.h. diese beeinflussen das Schlagverhalten der Kardiomyozyten sowie deren Viabilität nicht negativ.

In die Analyse wurden hierbei primär Substanzen eingeschlossen, die nach den Testungen des LDC unauffällig im hERG-Assay waren. Zwei Substanzen (LDC139088, LDC151726) wurden jedoch inkludiert, die in diesem Test ein positives Resultat ergaben. Interessanterweise zeigte der Vergleich, dass LDC139088 die Kardiomyozyten und ihr Schlagverhalten nicht beeinflusste, während LDC151726 starke Arrhythmien induzierte. Dies legt die Vermutung nahe, dass entweder der hERG-Assay nicht ein zuverlässiger Assay zur Vorcharakterisierung der Kardiotoxizität ist oder dass das Impedanz-basierte System mit neonatalen Primärzellen nicht alle Arrhythmien erfassen kann. Eine Kombination aus Kardiotox-Assays scheint aufgrund dieser Ergebnisse sinnvoll. Das Ergebnis wird in *in vivo* Studien mit Telemetriesendern in Mäusen weiterverfolgt, da es für die Einschätzung von Kardiotoxizität relevant ist um eine zuverlässige Prädiktoren zu haben.

Insgesamt wurden 10 niedermolekulare ERK-Dimerisierungsinhibitoren, einschließlich DEL-22379, auf ihren Einfluss auf neonatale Mauskardiomyozyten bezüglich Schlagverhalten und Viabilität charakterisiert. 5 Substanzen wurden aufgrund toxischer Einflüsse, u.a. Induktion von arrhythmischen Schlagverhalten, deutliche Verringerung der Schlagfrequenz und Reduktion der Basis Impedanz, für weitere Versuche ausgeschlossen.

5 selektierte Inhibitoren wurden in verschiedenen Experimenten eingesetzt, um die funktionalen Effekte der ERK-Dimerisierungshemmung in den verschiedenen *in vitro*-Modellen getestet.

Die Ergebnisse des Hypertrophie-Assays mit neonatalen Mauskardiomyozyten konnte für die ersten Substanzen durchgeführt werden und zeigen vielversprechende Ergebnisse für einige der Inhibitoren.

Es konnten hiermit Substanzen ermittelt werden, die auf niedermolekularer Ebene ebenso die ERK-Dimerisierung hemmen, aber, im Gegensatz zu DEL-22379, keine kardiotoxischen Effekte hervorrufen. Zur Bestimmung des Einflusses von Inhibitoren der MAPK-Kinase-Kaskade, insbesondere der Inhibition der ERK-Dimerisierung, im Herzen wurde ein Tierversuch gestartet (s.o.).

Da sich die Mausstudien unter den Corona-Bedingungen stark verzögert haben, wurden zwischenzeitlich die Auswirkungen der ERK^{T188}-Phosphorylierung auf die Embryotoxizität untersucht und dafür das Zebrafischmodell gewählt, in dem die Entwicklung des Herzens sehr gut verfolgt werden kann. Für das Modell wurden Splice-Morpholinos in Zebrafisch-Eier kurz nach deren Befruchtung injiziert. Das verwendete Morpholino wurde so konstruiert, dass das Splicing von ERK verhindert wurde und ein dysfunktionales Protein entstand (ERKsplice). Zudem wurde RNA injiziert, die entweder ERK2 Wildtyp kodiert (ERK wt), eine an T188 phosphorylierungsdefiziente Mutante (ERK2 T188A) oder RNA, die ERK mit einer konstanten Phosphorylierung an T188 simuliert (ERK2 T188D). 3 Tage nach der Injektion, wenn sich aus dem befruchteten Ei eine Larve entwickelt hat, wurde die Herzfunktion mittels Videoaufnahmen analysiert. In der Funktionsanalyse der Herzen wurde beobachtet, dass die Ausbildung von nicht-funktionalem ERK (ERK splice) eine Reduktion der Schlagfrequenz zur Folge hat, die durch Injektion von ERKwt RNA wieder erhöht werden konnte. Interessanterweise konnte die Injektion mit

phosphorylierungsdefizientem ERK (T188A) diesen Effekt nicht bewirken, während eine Injektion mit ERK2-T188D die Funktion annähernd normalisierte. Dies legt die Vermutung nahe, dass die ERK^{T188}-Phosphorylierung eine wichtige Funktion bei der Entwicklung des Herzens haben könnte. Dieser Hypothese wird durch Daten zur Verkürzungsfraktion des Herzens unterstützt: ERK2-T188D konnte auch diese nahezu normalisieren im Gegensatz zur phosphorylierungsdefizienten Mutante (ERK2-T188A). Auffällig waren zudem Veränderungen im Phänotyp der Larven nach Injektionen unter den oben genannten Bedingungen (siehe Abb.3). Es erfolgte ein Scoring der einzelnen Fische nach den nachfolgenden Kriterien, um den Einfluss der ERK2-T188D und ERK2 T188A-Mutante im Vergleich zum Wildtyp zu charakterisieren.

Sichtbare und erfasste Phänotypen

- Ödeme (präkardial, Dottersack)
- Ventrikel-Deformität
- Looping Defekt
- Schlauchherz (= keine morphologische Unterscheidung zwischen Ventrikel und Atrium möglich)
- Arrhythmie
- Schwanzdeformität
- immense morphologische Auffälligkeiten (e.g. Körperform, Körpergröße, Körperachse, Kopfödem etc.)



Abb. 3: Repräsentative Fischlarven 72 hpf. Links ein gesunder Fisch, in der Mitte und rechts Fischlarven mit Deformationen des Schwanzes und Ödemen.

Es zeigte sich hierbei, dass die Splice-Inhibition von ERK zu einem stark ausgeprägten Phänotyp führt, welcher weder durch ERK-wt noch durch ERK2-T188A wiederhergestellt werden konnte. Jedoch führte die Expression von ERK2-T188D zu einer signifikanten Reduktion der abnormalen Phänotypen. Dies zeigte sich besonders deutlich in einer deutlich weniger häufigen Ausbildung eines Schlauchherzens durch die Expression der ERK2-T188D-Mutante.

Diese Ergebnisse deuten darauf hin, dass die ERK-Phosphorylierung an T188 einen wichtigen Effekt in der Entwicklung der Zebrafische und der embryonalen Herzentwicklung hat und damit eine gewisse Embryotoxizität bei Raf-MEK-ERK1/2-Inhibitoren, aber auch bei der geplanten Targeting-Strategie der ERK-Dimerisierungshemmung zu erwarten ist, die bei einer potenziellen therapeutischen Anwendung beachtet werden muss.

2. Wichtigste Positionen des zahlenmäßigen Nachweises

Es wurden alle bewilligten Projektmittel für die gemäß Projektplan geplanten Arbeiten verausgabt (s. zahlenmäßiger Verwendungs nachweis).

3. Notwendigkeit und Angemessenheit der geleisteten Arbeit

Die durchgeführten Forschungsarbeiten im Projekt sowie die dafür aufgewandten Ressourcen waren notwendig und angemessen, da sie der im Projektantrag formulierten Planung entsprachen und alle wesentlichen im Arbeitsplan formulierten Aufgaben erfolgreich bearbeitet wurden.

4. Voraussichtlicher Nutzen, insbesondere der Verwertbarkeit des Ergebnisses im Sinne des fortgeschriebenen Verwertungsplans

Mit den Daten aus diesem Projekt wird die Relevanz der Therapiestrategie weiter gestärkt und mit den in diesem Projekt identifizierten Verbindungen stehen Kandidaten für die Entwicklung von Inhibitoren der ERK-Dimerisierung zur Verfügung, welche nach weiterer positiver Entwicklung gute Aussichten auf Kommerzialisierbarkeit hätten. Diese Aktivitäten könnten z.B. im Rahmen eines weiteren Förderprojektes finanziert werden.

5. Während der Durchführung des Vorhabens dem ZE bekannt gewordener Fortschritt auf dem Gebiet des Vorhabens bei anderen Stellen

Es sind keine Ergebnisse von dritter Seite bekannt, die für die Durchführung des Vorhabens relevant waren.

6. Erfolgte oder geplante Veröffentlichungen des Ergebnisses

Folgende Veröffentlichungen bzw. folgender Preis wurden im Verlauf des letzten Jahres im Zusammenhang mit ERK-Casting veröffentlicht/gewonnen:

- Harnessing RKIP to Combat Heart Disease and Cancer.
Lorenz K, Rosner MR. Cancers (Basel). 2022 Feb 9;14(4):867. doi: 10.3390/cancers14040867.
- ERK1/2 Activity Is Critical for the Outcome of Ischemic Stroke.
Schanbacher C, Bieber M, Reinders Y, Cherpokova D, Teichert C, Nieswandt B, Sickmann A, Kleinschnitz C, Langhauser F, Lorenz K. Int J Mol Sci. 2022 Jan 9;23(2):706. doi: 10.3390/ijms23020706.
- Protective Effects of Thyroid Hormone Deprivation on Progression of Maladaptive Cardiac Hypertrophy and Heart Failure.
Kerp H, Hönes GS, Tolstik E, Hönes-Wendland J, Gassen J, Moeller LC, Lorenz K, Führer D. Front Cardiovasc Med. 2021 Jul 30;8:683522. doi: 10.3389/fcvm.2021.683522. eCollection 2021.
- CARS Imaging Advances Early Diagnosis of Cardiac Manifestation of Fabry Disease.

Tolstik E, Ali N, Guo S, Ebersbach P, Möllmann D, Arias-Loza P, Dierks J, Schuler I, Freier E, Debus J, Baba HA, Nordbeck P, Bocklitz T, Lorenz K. *Int J Mol Sci.* 2022 May 11;23(10):5345. doi: 10.3390/ijms23105345.

- Raman and fluorescence micro-spectroscopy applied for the monitoring of sunitinib-loaded porous silicon nanocontainers in cardiac cells.
Tolstik E, Gongalsky MB, Dierks J, Brand T, Pernecker M, Pervushin NV, Maksutova DE, Gonchar KA, Samsonova JV, Kopeina G, Sivakov V, Osminkina LA, Lorenz K. *Front Pharmacol.* 2022 Aug 9;13:962763. doi: 10.3389/fphar.2022.962763.
- Multi-omics approaches to study platelet mechanisms.
Solari FA, Krahn D, Swieringa F, Verhelst S, Rassaf T, Tasdogan A, Zahedi RP, Lorenz K, Renné T, Heemskerk JWM, Sickmann A. *Curr Opin Chem Biol.* 2023 Apr;73:102253. doi: 10.1016/j.cbpa.2022.102253.
- The Microenvironment of the Pathogenesis of Cardiac Hypertrophy.
Bazgir F, Nau J, Nakhaei-Rad S, Amin E, Wolf MJ, Saucerman JJ, Lorenz K, Ahmadian MR. *Cells.* 2023 Jul 4;12(13):1780. doi: 10.3390/cells12131780.
- The potential of remdesivir to affect function, metabolism and proliferation of cardiac and kidney cells in vitro.
Merches K, Breunig L, Fender J, Brand T, Bätz V, Idel S, Kollipara L, Reinders Y, Sickmann A, Mally A, Lorenz K. *Arch Toxicol.* 2022 Aug;96(8):2341-2360. doi: 10.1007/s00204-022-03306-1.

▪ **Jessica Pfeiffer, Kristina Lorenz.**

Murine models for heart failure: Their creation and applicability to human still require critical and careful considerations, *IJC Heart & Vasculature*, Volume 34, 2021, 100781, ISSN 2352-9067, <https://doi.org/10.1016/j.ijcha.2021.100781>.

"Cardiac multiscale bioimaging: from nano- through micro- to mesoscales," has been accepted by *Trends in Biotechnology*. Authors: Elen Tolstik, Stephan E. Lehnart, Christian Soeller, Kristina Lorenz, Leonardo Sacconi.

- Phoenix Wissenschaftspreis 2021 für Kristina Lorenz.

Berichtsblatt

1. ISBN oder ISSN	2. Berichtsart (Schlussbericht oder Veröffentlichung) Schlussbericht
3. Titel „ERK-CASTing - HERZSCHÜTZENDES TARGETING VON ERK“	
Teilprojekt 1 - Targetvalidierung: Herzschützendes Targeting von ERK (ERK CASTing) - Validierung der Zielstruktur bei Herzinsuffizienz, Krebs und RASopathien	
Teilprojekt 2 - Kristallisation und Modelling des ERK-Peptid-Komplexes und Drug-Design (TU Dortmund, Prof. Dr. Daniel Rauh)	
Teilprojekt 3 - Entwicklung von Testverfahren zur Substanzcharakterisierung (LDC, Lead Discovery Center GmbH)	
4. Autor(en) [Name(n), Vorname(n)] Teilvorhaben 1: ISAS, Prof. Dr. Kristina Lorenz	5. Abschlussdatum des Vorhabens 28.02.2023
Teilvorhaben 2: TU Dortmund, Prof. Dr. Daniel Rauh	6. Veröffentlichungsdatum 31.08.2023
Teilvorhaben 3: LDC, Lead Discovery Center GmbH	7. Form der Publikation TIB
8. Durchführende Institution(en) (Name, Adresse) 1. Leibniz-Institut für Analytische Wissenschaften – ISAS – e.V.	9. Ber. Nr. Durchführende Institution -
2. Technische Universität Dortmund	10. Förderkennzeichen 16GW0262K
3. Lead Discovery Center GmbH	11. Seitenzahl 11
12. Fördernde Institution (Name, Adresse) Bundesministerium für Bildung und Forschung (BMBF) 53170 Bonn	13. Literaturangaben 10
	14. Tabellen 1
	15. Abbildungen 3
16. Zusätzliche Angaben -	
17. Vorgelegt bei (Titel, Ort, Datum) -	
18. Kurzfassung Die Dysregulation der extrazellulär-regulierten Kinassen 1 und 2 (ERK1/2) spielt bei vielen Erkrankungen eine zentrale Rolle, unter anderem bei Herzschwäche, Krebserkrankungen und genetischen Erkrankungen, den sogenannten RASopathien. Die Hemmung der Enzyme durch Arzneimittel, die bereits in der Krebstherapie Anwendung finden, kann schwere kardiale Nebenwirkungen hervorrufen. Da Krebspatienten eine immer höhere Lebenserwartung haben, gewinnen diese Arzneimittel-induzierten Nebenwirkungen an Aufmerksamkeit. Wir haben eine zentrale Schaltstelle im Wirkmechanismus der Enzyme gefunden, die spezifisch die pathologischen Effekte der Enzyme vermittelt und die gleichzeitig für Herzmuskelzellen überlebenswichtigen Funktionen dieser Enzyme nicht beeinträchtigt. Das Projekt hatte das Ziel, (i) die ERK-Dimer-Schnittstelle als therapeutisches Ziel bei Herzinsuffizienz, Krebs und RASopathien zu validieren, (ii) den ERK-Peptid-Komplex zu kristallisieren und zu modellieren, (iii) niedermolekulare Inhibitoren des ERK-Dimer-Komplexes zu entwickeln und (iv) geeignete Testverfahren für die künftige Optimierung von Wirkstoffen zu etablieren. Im Teilvorhaben „Targetvalidierung: Herzschützendes Targeting von ERK (ERK CASTing) - Validierung der Zielstruktur bei Herzinsuffizienz, Krebs und RASopathien“ aus dem Verbundprojekt „ERK-CASTing – Herzschützendes Targeting von Erk“ innerhalb der Fördermaßnahme „Targetvalidierung für die pharmazeutische Wirkstoffentwicklung“ wurden bzw. werden noch Studien zur Validierung der Peptid-Targeting-Strategie bei Mäusen zur Behandlung von Herzhypertrophie und Herzinsuffizienz (Validierung von explorativen „Präventions“-Studien und Analyse von Patientenproben), Krebs (in vitro, humanen Gewebeproben und Organoiden) und RASopathien durchgeführt.	
19. Schlagwörter	
20. Verlag +	21. Preis +