



Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg
Medizinische Fakultät Mannheim
Dissertations-Kurzfassung

**Molekularbiologische Untersuchungen zu den Pathomechanismen
des Aspirin-like Defekts**

Autor: Iris Klaus
Institut / Klinik: Institut für Transfusionsmedizin und Immunologie
Doktorvater: Prof. Dr. P. Bugert

Der Arachidonsäure-Metabolismus ist ein wichtiger Stoffwechselweg im Rahmen der Thrombozytenaggregation. Das Endprodukt ist Thromboxan A_2 , welches aus den Blutplättchen freigesetzt wird und durch Bindung an den Thromboxan A_2 -Rezeptor einen wichtigen Beitrag zur Aggregationsreaktion leistet. Eine Störung des Arachidonsäure-Stoffwechsels, sei es durch Medikamente wie die Acetylsalicylsäure oder durch einen angeborenen Defekt verursacht, führt somit zu einer defizitären zellulären Gerinnung. Eine solche angeborene Erkrankung mit Symptomen einer Thrombozytenfunktionsstörung stellt der Aspirin-like Defekt dar. Aufgrund seines laborchemischen Phänotyps, welcher dem nach Einnahme von Aspirin[®] ähnelt, wird eine Störung im Arachidonsäure-Stoffwechsel oder im Angriffspunkt dessen Endprodukts, dem Thromboxan A_2 -Rezeptor, vermutet.

Ziel dieser Arbeit war es, Polymorphismen in den Genen der am Arachidonsäure-Stoffwechsel beteiligten Enzyme und des Thromboxan A_2 -Rezeptors zu identifizieren und zu überprüfen, ob diese Polymorphismen in Verbindung mit dem Aspirin-like Defekt stehen.

Zunächst sequenzierten wir die Exons mit den angrenzenden Bereichen der Introns. Dabei identifizierten wir zahlreiche Polymorphismen. Anschließend entwickelten wir zur Typisierung des Patientenkollektivs und der Kontrollgruppe PCR-SSPs für die gefundenen *missense*-SNPs sowie für einige im Promotor des TBXA2R-Gens liegende Polymorphismen. Wir konnten keinen direkten Zusammenhang der untersuchten Polymorphismen mit dem klinischen und laborchemischen Bild des Aspirin-like Defekts nachweisen. Allerdings lassen sich durchaus einzelne Polymorphismen innerhalb einer Familie mit dem Auftreten des ALD-Phänotyps in Zusammenhang bringen. So scheint in einer Familie der SNP 1441G>A im COX-1-Gen über eine dominante Vererbung mit dem Aspirin-like Defekt in Verbindung zu stehen. In einer weiteren Familie lässt sich der 1348G>A Polymorphismus im TBXAS1-Gen über einen rezessiven Vererbungsmodus mit dem ALD-Phänotyp in Zusammenhang bringen.

Als nächstes führten wir mRNA-Analysen mittels Microarrays durch. Die ermittelten Daten zeigten, dass das TBXA2R-Gen bei Probanden mit erniedrigter Aggregationsreaktion auf Arachidonsäure signifikant weniger exprimiert wird als bei Probanden mit normalen Werten.

Die RNA-Daten bezüglich TBXA2R wurden auf Proteinebene mittels Western Blot weiter untersucht. Es konnte bei Probanden mit Aspirin-like Defekt eine relativ verminderte Proteinmenge des Thromboxan- A_2 -Rezeptors nachgewiesen werden. Zwei Polymorphismen (1052T>C und -532A>G) konnten mit der verminderten Expression des TXA₂-Rezeptors in Verbindung gebracht werden.

Wegen hoher interexperimenteller Variationen im Western Blot sollten durchflusszytometrische Untersuchungen zur TBXA2R-Oberflächenexpression etabliert werden. Leider steht bislang kein diagnostischer Antikörper zur Messung des für die Thrombozytenfunktion wichtigen TXA₂ Rezeptors zur Verfügung.

Insgesamt lässt sich sagen, dass der Aspirin-like Defekt vermutlich nicht durch eine einzelne Mutation oder in allen Fällen durch den gleichen Defekt eines bestimmten Proteins hervorgerufen wird. Vielmehr kommen weiterhin alle Enzyme des Arachidonsäure-Stoffwechsels und der Thromboxan- A_2 -Rezeptor in Frage, einen ALD-Phänotyp zu bedingen. Auch scheint insgesamt ein Zusammenhang zwischen der Aggregationsfähigkeit der Thrombozyten auf Arachidonsäure und der Expression des Thromboxan- A_2 -Rezeptors zu bestehen.

Im Rahmen der Projektfortsetzung sollen die bisherigen Daten durch weitere Analysen erweitert werden. Ziel ist zum einen die exaktere Definition der Untergruppen des Aspirin-like Defekts und zum anderen die Etablierung von Untersuchungsmethoden zur schnellen Diagnosestellung.