



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

**Der Einfluß aktivierter Thrombozyten auf die Genregulation in
neutrophilen Granulozyten**

Autor: Nathalie Himpele
Institut / Klinik: Institut für Transfusionsmedizin und Immunologie
Doktorvater: Prof. Dr. P. Bugert

Entzündungsmechanismen sind bereits intensiv untersucht und die Therapie der Entzündung gehört im klinischen Alltag zur Routine. Dennoch können Entzündungen letal enden oder die Folgen den Patienten ein Leben lang beeinträchtigen. Des Weiteren sind zahlreiche chronische Krankheiten bekannt, deren Genese wahrscheinlich oder bewiesenermaßen inflammatorische Prozesse beinhaltet. Dies gilt auch für einen großen Teil der malignen Erkrankungen. Ein besseres Verständnis der molekularen Mechanismen einer Inflammation kann daher auch dazu beitragen diese Krankheiten besser therapierbar zu machen. Unter den vielen zellulären und löslichen Komponenten einer Entzündungsreaktion sind im Zusammenhang mit der vorliegenden Arbeit insbesondere die Thrombozyten (PLT, Plättchen) und neutrophilen Granulozyten (PMN, polymorphkernige Leukozyten) zu nennen. So werden PLT bei der Blutgerinnung und der Wundheilung benötigt, welche immer mit einer, wenn auch leichten Entzündungsreaktion einhergeht. PMN werden durch Chemokine zu entzündetem Gewebe gelockt in welches sie per Diapedese einwandern um dort ihre Arbeit als Phagozyten zu leisten.

Ziel der vorliegenden Arbeit war die Wechselwirkung zwischen PLT und PMN auf molekularer Ebene zu untersuchen. Dabei lag der Fokus auf der Beschreibung genregulatorischer Ereignisse in den PMN, die durch die Wechselwirkung mit aktivierten PLT hervorgerufen wird. Die Experimente wurden an Blutproben gesunder Probanden (n=13) durchgeführt, woraus zunächst die PLT und die PMN isoliert wurden. Die PLT wurden daraufhin aktiviert und anschließend autolog mit den PMN für 30 Minuten kokultiviert. Es folgten vergleichende RNA-Analysen unter Verwendung von Whole Genome Microarrays um zu erkennen welche Gene aktiviert und welche inhibiert wurden. Auf diese Weise konnten von 9.880 untersuchten Genen insgesamt 12 signifikant aktivierte und 22 signifikant inaktivierte Gene identifiziert werden. Zu den aktivierten Genen gehörten unter anderem der Folatezeptor 3 (FOLR3) und die Gluthationperoxidase 4 (GPX4). Die Verifizierung der RNA-Daten auf Proteinebene erfolgte durch Westernblot-Nachweis der FOLR-Expression und durch Messung der GPX-Enzymaktivität in den Zelllysaten. Dazu wurden ebenfalls das die RNA-Analysen beschriebene in vitro Modell zu Kokultivierung von PLT und PMN verwendet, allerdings mit auf zwei Stunden verlängerter Inkubationszeit. Der Anstieg der FOLR-Expression in PMN bei Kokultivierung mit aktivierten PLT konnte im Westernblot bestätigt werden. Hingegen konnte im Peroxidase-Assay keine Zunahme der GPX-Aktivität gefunden werden.

In der vorliegenden Arbeit konnte mit Hilfe eines in vitro Modells der akuten Entzündung (Kokultivierung von aktivierten PLT mit PMN) und der Microarray-Analyse insgesamt 34 regulierte Gene identifiziert werden. Die Interaktion von PLT mit PMN führt unter anderem zu einer Aktivierung proinflammatorischer und antioxidativer Mechanismen. Gleichzeitig waren auch durch die signifikante Inaktivierung der TLR8 und PELI1 Gene antiinflammatorische Mechanismen zu erkennen, die möglicherweise dazu dienen, eine Überreaktion der Zellen zu verhindern. Die Abschaltung proinflammatorischer Gene könnte ein Schutzmechanismus vor ausufernden Entzündungsreaktionen darstellen.

Die in dieser Arbeit identifizierte Aktivierung der FOLR-Expression im Rahmen der akuten Entzündung sollte in weiteren in vitro und in vivo Studien charakterisiert werden. Der Folatestoffwechsel könnte demnach auch ein neues therapeutisches Ziel zur Behandlung entzündlicher Erkrankungen darstellen.