



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

**Über den Einfluss eines Polymorphismus des
Serotonintransporters auf dessen Antidepressiva-induzierte
Internalisierung und die Reaktion von Thrombozyten auf in vivo
induzierten Stress**

Autor: Matthias Richter
Institut / Klinik: Zentralinstitut für Seelische Gesundheit Mannheim (ZI)
Doktorvater: Prof. Dr. P. Schloss

Kardiovaskuläre Erkrankungen sind eine der häufigsten Todesursachen und Gesundheitsstörungen in der westlichen Welt und damit von großer gesundheitspolitischer und volkswirtschaftlicher Bedeutung. Bei der Pathogenese kommt unter anderem der Thrombenbildung durch Thrombozyten eine wichtige Rolle zu. Daher werden schon seit längerer Zeit Thrombozytenaggregationshemmer in der Therapie kardiovaskulärer Erkrankungen eingesetzt. Diese Medikamente entfalten ihre gerinnungshemmende Wirkung an Enzymen im Intrazellularraum der Thrombozyten oder an Oberflächenproteinen, wie zum Beispiel dem Glykoprotein GP IIb/IIIa-Rezeptor.

Die Thrombozytenfunktion lässt sich allerdings auch durch Medikamente verändern, die auf den Serotonintransporter (SERT) auf der Oberfläche der Thrombozyten wirken. Diese sogenannten Serotonin-Wiederaufnahmehemmer (SSRI), wie zum Beispiel Citalopram, die bei Depressionen eingesetzt werden, führen zu einer Blockierung sowie Internalisierung der Serotonintransporter und dadurch zu einer verringerten Serotoninaufnahme in die Thrombozyten. Daher wird bei der Aktivierung der Thrombozyten weniger Serotonin ausgeschüttet. Nach Aktivierung der Thrombozyten kommt es so zu einer lokal geringeren Serotoninkonzentration und damit zu einer Herabsetzung der gerinnungsfördernden Wirkung des Serotonins.

Das Gen SLC6A4 kodiert für den Serotonintransporter, in dessen Promotorregion ein Längenpolymorphismus (5-HTTLPR) vorkommt. Dieser lässt sich in kurz (S) oder lang (L) einteilen. Somit ergeben sich 3 Genotypen: S/S, S/L und L/L. Es wurde beschrieben, dass die Reaktion auf Serotonin-Wiederaufnahmehemmer vom jeweils vorhandenen Genotyp abhängt.

In der vorliegenden Arbeit wurde daher eine Methode gesucht, um diesen Einfluss auf den SERT auf der Oberfläche von Thrombozyten oder Thrombozyten-ähnlichen Partikeln zu untersuchen. Ein weiterer Fokus der Arbeit war herauszufinden, inwieweit sich Stress gemäß eines kürzlich entwickelten in vivo Stresstest auf die Aktivierung von Thrombozyten auswirkt, indem ausgewählte Aktivierungsmarker gemessen wurden.

Es wurde beobachtet, dass MEG-01 Zellen den L/L Genotyp aufweisen, während M-07 Zellen den S/S Genotyp besitzen. Dennoch stellen die M-07 Zellen kein geeignetes Modell zur Untersuchung des Einflusses des 5-HTTLPR auf die Wirkung von SSRIs auf den SERT an Plättchen-ähnlichen Partikeln dar. Dies liegt daran, dass sich, wie wir zeigen konnten, M-07 Zellen im Gegensatz zu MEG-01 Zellen nicht durch Inkubation mit VPA zu Plättchen-ähnlichen Partikeln differenzieren lassen, welche eine den Thrombozyten ähnliche Physiologie aufweisen. Zudem konnten wir zeigen, dass M-07 Zellen auf die Inkubation mit VPA, ATRA und IL-3 mit vermehrter Proliferation reagieren, anstatt wie MEG-01 Zellen zu Plättchen-ähnlichen Partikeln zu differenzieren.

Peripherenös gewonnene Monozyten exprimieren den SERT, können zu Neuronen differenziert werden und sind daher geeignet, den Einfluss des 5-HTTLPR zu studieren. Wir konnten zeigen, dass sich Poly-L-Ornithin (PLO) nicht zur Beschichtung von Zellkulturplatten eignet, während sich Poly-L-Lysin (PLL) gleichwertig zu nativen Zellkulturplatten verhält. Für die auszusiedelnde Anzahl an Zellen ergaben sich die stetigsten Ergebnisse mit 10.000 – 20.000 Zellen. Weiterhin konnten wir beobachten, dass Monozyten, die in der Pipettierreihenfolge zuletzt bearbeitet wurden, signifikant niedrigere Werte aufwiesen als jene, welche zuerst an der Reihe waren. Dies sollte beim Entwurf zukünftiger Studien beachtet werden. In einer Versuchsreihe mit Monozyten von 17 Probanden, die die 3 verschiedenen Genotypen des 5-HTTLPR aufwiesen, konnten wir keine signifikanten Unterschiede in der

Oberflächenexpression von SERT durch die vierstündige Inkubation mit dem SSRI Citalopram feststellen.

Stress erhöht das kardiovaskuläre Risiko unter anderem durch die Aktivierung von Thrombozyten. Bei einer Pilotstudie konnten wir zeigen, dass der kürzlich entwickelte in vivo Stresstest keine Auswirkung auf die ex vivo gemessene Oberflächenexpression der Aktivitätsmarker CD62P, CD63 und GP IIb/IIIa auf Thrombozyten hat. Dass die Thrombozyten grundsätzlich stimulierbar waren, konnten wir in vitro durch die Oberflächenexpression der Aktivitätsmarker nach Zugabe von cADP und dem PGH₂-Analogon U46619 nachweisen. Wir konnten die aktivierende Wirkung von cADP und U46619 bestätigen und darüber hinaus zeigen, dass der in vivo induzierte Stress keine Auswirkung auf die Reaktivität der Thrombozyten hat. In zukünftigen Studien, die die hier erprobte Methode verwenden, sollte bei der Messung der Thrombozytenaktivität und –reaktivität beachtet werden, dass das Zeitintervall zwischen Ende des Stresstests und der Blutentnahme so gering wie möglich gehalten werden sollte. Weiterhin empfiehlt es sich eine große Anzahl von Probanden zu untersuchen, da zu vermuten ist, dass die Oberflächenexpressionsänderungen der Aktivitätsmarker auf Thrombozyten durch akuten Stress nur gering sind.