



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

**Molekulare und funktionelle Charakterisierung genetischer
Varianten von CD154 und CD62P**

Autor: Kathrin Stamer
Institut / Klinik: Institut für Transfusionsmedizin und Immunologie
Doktorvater: Prof. Dr. P. Bugert

CD154 und CD62P gelten als wichtige Moleküle, die auf der Oberfläche aktivierter Thrombozyten vorkommen und von diesen als lösliche Form ins Plasma freigesetzt werden. Sie spielen daher vor allem bei Erkrankungen, die mit einer veränderten Thrombozytenfunktion einhergehen, eine wichtige Rolle. Dazu zählen sowohl atherosklerotische Manifestationen wie die koronare Herzkrankheit und die Herzinsuffizienz als auch das auf einer autoimmunologischen Genese beruhende und mit gehäufterem Auftreten von Thromboembolien assoziierte Lupus-Antikoagulans.

Das Ziel dieser Arbeit war es, Polymorphismen im CD154-Gen zu identifizieren und zu überprüfen, ob diese SNPs („single nucleotid polymorphism“) sowie die CD62P-Variante P715 in Verbindung mit kardiovaskulären Erkrankungen und ihren Risikofaktoren stehen oder als Prädiktor für Thromboembolien bei Patienten mit Lupus-Antikoagulans herangezogen werden könnten. Außerdem sollte die Frage geklärt werden, ob ein Zusammenhang zwischen den CD154-Polymorphismen und der CD154-Expression auf Thrombozyten besteht.

Zunächst wurden mit Hilfe einer Exon-Resequenzierung in kodierenden Bereichen und Bereichen der Promotorregion des CD154-Gens folgende vier SNPs identifiziert: -122/-123A>C (Promotor), 148T>C (Exon 1) und -13T>C (Intron 4). Anschließend entwickelten wir zur Typisierung aller Patienten und Kontrollen für diese Polymorphismen und den in der Literatur beschriebenen Promotor-Polymorphismus -3459A>G sowie für den CD62P-Polymorphismus T715P allelspezifische PCR-Systeme (PCR-SSP). Ergänzend untersuchten wir einen aus CA-Einheiten bestehenden „short tandem repeat“-Polymorphismus (STR-Polymorphismus) in der 3'UTR von CD154. Ein weiterer Schritt umfasste die durchflusszytometrische Messung der Oberflächenexpression von CD154 auf unstimulierten und stimulierten Thrombozyten.

Wir konnten keinen Zusammenhang der untersuchten Polymorphismen mit dem Auftreten einer Herzinsuffizienz oder einer koronaren Herzkrankheit (KHK) nachweisen. Allerdings scheint der STR-Polymorphismus in der 3'UTR des CD154-Gens sowohl beim Vorliegen einer positiven Familienanamnese als auch bei Rauchern das Risiko für die Entwicklung einer KHK zu erhöhen. Für die übrigen Risikofaktoren fand sich kein Zusammenhang mit den überprüften SNPs.

Bei den Patienten mit Lupus-Antikoagulans stellten wir eine schützende Funktion der CD62P-Variante P715 für die Entwicklung einer arteriellen Thrombose fest. Auf der anderen Seite zeigte sich ein signifikant erhöhtes Risiko für die Entwicklung einer arteriellen Thrombose bei Vorliegen des CD154-Genotyps mit ausschließlich CA₂₄-Allelen in der 3'UTR. Darüber hinaus fanden wir erhöhte Plasmaspiegel von sCD62P bei Patienten mit venöser, aber nicht bei Patienten mit arterieller Thrombose. Die sCD62P-Spiegel waren bei Trägern des P715-Allels niedriger als bei Nicht-Trägern. Aufgrund der höheren Anzahl von P715-Trägern unter den Patienten mit venöser Thrombose würde man bei diesem Krankheitsbild niedrigere sCD62P-Spiegel erwarten. Tatsächlich fanden wir aber höhere sCD62P-Spiegel, die sich mit einer länger andauernden leichten Aktivierung von Thrombozyten nach einer venösen Thrombose erklären lassen könnten. Die Expressionsstärke von CD154 auf Thrombozyten gesunder Probanden wurde nicht von den untersuchten Polymorphismen im CD154-Gen beeinflusst.

Zusammenfassend konnte im Rahmen dieser Arbeit ein STR-Polymorphismus im CD154-Gen identifiziert werden, der bei Vorliegen einer positiven Familienanamnese oder dem Risikofaktor Rauchen das Risiko für die Entwicklung einer KHK erhöht. Bei Patienten mit Lupus-Antikoagulans könnte dieser Polymorphismus ebenso wie der CD62P-Polymorphismus T715P zusammen mit weiteren Markern für eine Abschätzung des individuellen Thromboserisikos einzelner Patienten herangezogen werden und so eine gezielte medikamentöse Prophylaxe ermöglichen.