



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

**Regulation der Serotoninausschüttung und der
Oberflächenexpression des Serotonintransporters auf
serotonergen Neuronen durch Glucocorticoide**

Autor: Felix Alexander Heimann
Institut / Klinik: Zentralinstitut für Seelische Gesundheit Mannheim (ZI)
Doktorvater: Prof. Dr. P. Schloss

Serotonerge Neurone des zentralen Nervensystems sind an der Steuerung verschiedener neuronaler Systeme beteiligt. Eine Störung der zentralen serotonergen Neurotransmission ist unter anderem ein Aspekt der Pathogenese der Depression. Serotonerge Neurone sind durch die Expression der Tryptophanhydroxylase (TPH) in der Lage Serotonin (5-HT) zu synthetisieren, dieses zu speichern und bei Aktivierung in die extrazelluläre Flüssigkeit (EZF) auszuschütten. Nach Ausschüttung wird die serotonerge Neurotransmission durch Wiederaufnahme von 5-HT über den Serotonintransporter (SERT) beendet. Diese Funktionen werden unter anderem durch Stress und seine neuroendokrinen Mediatoren, wie z.B. Glucocorticoide (GC), modifiziert. Diese Modifikationen wurden in der Vergangenheit meist im Tierversuch untersucht, in den letzten Jahren wurden aber einige suffiziente *in vitro* Systeme als Alternative beschrieben. Hierbei kommen besonders serotonerg differenzierte murine Teratokarzinomzellen der 1C11 Zelllinie oder serotonerg differenzierte embryonale Stammzellen (ESZ) zum Einsatz.

Ziel dieser Arbeit war die Untersuchung der Wirkung von Dexamethason (Dex), einem synthetischen GC, auf die Oberflächendichte des SERT bzw. die 5-HT Konzentration in der EZF serotonerger Neurone *in vitro*. Diese Effekte wurden auf serotonerg differenzierten 1C11 Teratokarzinomzellen bzw. serotonerg differenzierten murinen B6 ESZ untersucht. Dazu musste zunächst ein Protokoll zur serotonergen Differenzierung von R1 Stammzellen zur Differenzierung von transgenen B6 ESZ modifiziert werden.

Die nach diesem Protokoll differenzierten serotonergen B6 Neuronen synthetisieren zu ca. 80% den neuronalen Marker MAP2a und die serotonergen Marker SERT, TPH und 5-HT. Bei serotonerger Differenzierung des B6K3 Stammzellklon lässt sich bei etwa 70% der neuronalen Zellen die Expression der transgenen CreER^{T2} Rekombinase nachweisen. Bei der Untersuchung der Oberflächendichte des SERT von serotonergen 1C11 Neuronen wurde bei 0,2nM Dex eine Internalisierung und 6,0nM Dex eine Externalisierung des SERT beobachtet. Diese Effekte wurden nicht durch den Translationshemmer Cycloheximid (Cyc) unterdrückt. Bei serotonergen B6 Neuronen wurde nur eine Externalisierung des SERT mit steigenden Dex Konzentrationen (0,2nM - 26,0nM) beobachtet. Die Externalisierung des SERT bei beiden Zelllinien nicht aber die Internalisierung bei 1C11 Neuronen wurde durch den GR Antagonisten Mifepriston (Mif) unterdrückt. Bei der Untersuchung der 5-HT Konzentration im Überstand serotonerger 1C11 Neurone nach Dex Behandlung mit ELISA konnte kein verwertbares Ergebnis ermittelt werden. Bei serotonergen B6K3 Neuronen konnte ein konditionaler Glucocorticoidrezeptor (GR) Knockout (KO) durch 4-Hydroxytamoxifenbehandlung induziert werden.

Das Protokoll zur Differenzierung von B6 ESZ zu serotonergen Neuronen stellt ein neues *in vitro* Modell für serotonerge Neurone zur Verfügung und belegt die relativ einfache Übertragbarkeit des Protokolls zur serotonergen Differenzierung von R1 Zellen auf andere murine ESZ. Bei den Effekten von Dex auf die Oberflächendichte des SERT von serotonergen 1C11 und B6 Zellen handelt es sich aufgrund der mangelnden Hemmbarkeit durch Cyc um nicht genomische Steroideffekte. Dabei lässt sich die Externalisierung durch Mif hemmen und ist daher wahrscheinlich über den cytosolischen GR vermittelt. Die Internalisierung bei 0,2nM bei 1C11 Zellen lässt sich nicht durch Mif hemmen und wird daher eher nicht über den cytosolischen GR vermittelt.