



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

**Einfluss von Serotonin auf Differenzierung und Funktion kultivierter
Megakaryozyten und Thrombozyten, sowie nativer humaner
Blutplättchen**

Autor: Nina Patricia Schweinfurth
Institut / Klinik: Zentralinstitut für Seelische Gesundheit Mannheim (ZI)
Doktorvater: Prof. Dr. P. Schloss

Die vorliegende Arbeit beschreibt erstmalig eine kostengünstige und leicht zu applizierende Alternativmethode zur megakaryozytären Differenzierung der MEG-01 Zelllinie. Bisher zum Einsatz kamen der Phorbolester PMA, bzw. sehr kostenintensive Wachstumsfaktoren wie Thrombopoietin. Das beschriebene MEG-01^{VPA/ATRA} System erlaubt durch eine physiologischerere Maturierungsinduktion nebst Generierung funktioneller PLT-ähnlicher Partikel die Untersuchung der Expression neuronaler Monoamintransporter nicht alleine während, bzw. als Folge von Transkriptions- und Translationsvorgängen, sondern auch im Zuge von Protein-Trafficking. Ein zukünftiger Schritt stellt potentiell das Einbeziehen des physiologischen Flüssigkeitsstroms der Knochenmarksinsuloide dar, in welche die Pre-, bzw. Pro-Plättchen (PLT) protrudieren und abgeschilfert werden.

Mehr und mehr Studien legen einen sog. „PLT-Link“ zwischen Depression und kardiovaskulärem Risiko nahe. Da Blutplättchen den Serotonintransporter (SERT) exprimieren, welcher ein Hauptangriffsziel der selektiver Serotoninwiederaufnahmehemmer (SSRIs), der am häufigsten verordneten medikamentösen Therapie bei Depression, darstellt, bestand ein weiteres Ziel der vorliegenden Arbeit in der Untersuchung des SERT Expressionsmusters im Entwicklungsverlauf der MEG-01 Zellen, sowie dessen Expression auf abgeschilferten PLT-ähnlichen Partikeln. Zum Vergleich wählten wir den Dopamintransporter (DAT) als weiteren Monoamintransporter, dessen Expression erst kürzlich auf Blutplättchen beschrieben worden war. Die Expression beider Transporter nahm auf behandelten MEG-01 Megakaryozyten im zeitlichen Verlauf zu. Der Expressionsverlauf von DAT auf induzierten MEG-01 Zellen zeigte sich nicht abhängig von der Differenzierungsmethode (VPA vs ATRA). Dessen Signal konnte nach 3-wöchiger Behandlungsdauer mit einem Anstieg um etwa 300% im Vergleich zu nativen MEG-01 Zellen detektiert werden. Die Expression von SERT hingegen stieg deutlicher in MEG-01^{VPA} Zellen an und erreichte nach 3 Wochen eine Verachtfachung des Ausgangsniveaus, wohingegen es unter Behandlung mit ATRA lediglich zu etwa einer Verdreifachung der Ausgangsniveaus kam. Ähnlich verhielt es sich bei der Transporterexpression abgeschilfterer PLT-ähnlicher Partikel. Die Expressionslevel von DAT gemessen an Tag 14, bzw. 21 unterschieden sich nicht zwischen ATRA und VPA induzierten Partikeln. Demgegenüber zeigte sich an Tag 21 eine Versechsfachung des SERT Signals bei VPA Behandlung im Vergleich zu einem Anstieg um etwa das 2,5-Fache bei Induktion mit ATRA. Außerdem ähnelten die SERT und DAT Signale der PLT-ähnlichen Partikel beider Induktionsansätze an Tag 14 jener frisch präparierter humaner PLTs. Auch zeigte sich in MEG-01^{VPA} Zellen eine intrazelluläre Kodistribution von SERT und α -Tubulin, was darauf schließen lässt, dass die PLT-ähnlichen Partikel SERT bereits von ihren Mutterzellen übernehmen.

Ferner gaben die bisherigen Resultate Anlass zur Untersuchung einer Korrelation von SERT und dem prokoagulatorischen Marker CD62P auf der PLT-Oberfläche, bzw. zur Vereinfachung der simultanen Messung der beiden Strukturen auf PLTs.

Hierzu wurde bei 21 gesunden freiwilligen Probanden nach einer Ruhephase Blut entnommen. Sowohl bei Stimulation der PLTs mit unterschiedlichen Agonisten, als auch unstimuliert konnte hier die kürzlich mittels kombinierter Radioligandenbindungstechnik und FACS Analyse gezeigte Korrelation von SERT und CD62P erstmalig mittels alleiniger Durchflusszytometrie bestätigt werden.