



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

Die cholinerge Signaltransduktion in Megakaryozyten unter Beteiligung des nikotinischen Acetylcholinrezeptors alpha 7

Autor: Sabrina Besenfelder
Institut / Klinik: Institut für Transfusionsmedizin und Immunologie
Doktorvater: Prof. Dr. P. Bugert

Das cholinerge System ist sowohl neuronal als auch extra-neuronal von großer Bedeutung. In Vorarbeiten unserer Arbeitsgruppe wurde gezeigt, dass Thrombozyten den nikotinischen Acetylcholinrezeptor alpha 7 (nAChR α 7) exprimieren und einen funktionellen Kalziumkanal bilden. In einem megakaryoblastären Zellkulturmodell wurde außerdem gezeigt, dass cholinerge Substanzen die Zelldifferenzierung hemmen. Ziel der vorliegenden Arbeit war die Untersuchung von Signaltransduktionsmechanismen in megakaryoblastären und megakaryozytären Zelllinien (MEG-01, M07, Dami, CMK) unter dem Einfluss cholinergischer Substanzen mit besonderem Augenmerk auf die Beteiligung der nAChR α 7 und nAChR α 4 β 2. Im Mittelpunkt der Analysen stand die Phosphorylierung der Proteinkinase C alpha (PKC α) und Expression der nAChR Gene.

Die cholinergen Agonisten Acetylcholin, Nikotin und PNU-282987 führten zu einem Anstieg der intrazellulären Kalziumkonzentration in MEG-01 Zellen. Die Antagonisten α Bungarotoxin (α BGT) und Methyllycaconitin (MLA) blockierten diesen Effekt. Der Kalziumstrom ging mit einem Anstieg der PKC α Phosphorylierung (pPKC α) in den untersuchten Zelllinien MEG-01, M07 und Dami einher. Besonders deutlich waren die Effekte in den MEG-01 Zellen unter Verwendung des nAChR α 7-spezifischen Agonisten PNU-282987. Die Antagonisten α BGT und MLA blockierten wiederum die PNU-induzierte PKC α Phosphorylierung, was als weiterer Hinweis auf die Beteiligung des nAChR α 7 gewertet werden kann. Der Einfluss cholinergischer Substanzen auf die PKC α Phosphorylierung in Thrombozyten wurde auch in zwei in vivo Modellen untersucht: 1. Raucher (chronische Nikotinexposition, n=12 vs. Nichtraucher, n=12); 2. Alzheimer-Patienten (Störungen im cholinergen System, n=14 vs. gesunde Ehepartner, n=14). Die Thrombozyten von Rauchern und Nichtrauchern zeigten keine signifikanten Unterschiede der PKC α und pPKC α Konzentrationen. Im Vergleich war bei Nichtrauchern die PKC α Konzentration lediglich tendenziell erhöht und die pPKC α Konzentrationen erniedrigt. Die Konzentration der thrombozytären PKC α und pPKC α lag bei Alzheimer-Patienten signifikant höher als bei ihren Ehepartnern. Somit lieferten die in vivo Modelle weitere Hinweise auf die Beteiligung der thrombozytären PKC α an cholinergen Signalmechanismen.

Die pPKC α ist in der Lage andere Kinasen zu phosphorylieren oder in den Zellkern zu translozieren, wo ihre Zink-Finger Struktur Gene induzieren kann. Solche Geninduktionseffekte unter dem Einfluss cholinergischer Substanzen wurden in der vorliegenden Arbeit in den Zelllinien untersucht. Die Verwendung von Nikotin oder Acetylcholin führte zu uneinheitlichen Ergebnissen in den verschiedenen Zelllinien im Bezug auf die Regulation der nAChR Gene CHRNA4, CHRNB2 und CHRNA7. In MEG-01 Zellen verursachte der nAChR α 7-spezifische Agonist PNU-282987 eine signifikante Induktion der nAChR Gene und der Effekt konnte durch die Antagonisten α BGT und MLA aufgehoben werden. Die Ergebnisse korrelierten also mit den Daten der vorangegangenen Analyse der PKC α Phosphorylierung.

Der nAChR α 7 und die PKC α sind demnach im Sinne einer Autoregulation zumindest indirekt an der Regulation von nAChR Genen in der Megakaryopoese beteiligt. Ob auch Gene der megakaryozytären Differenzierung (z.B. CD61) reguliert werden, konnte an den Zellkulturmodellen nicht eindeutig gezeigt werden.