



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

**Identifikation des cholinergen Systems während der  
Megakaryopoese**

Autor: Kerstin Kaiser  
Institut / Klinik: Institut für Transfusionsmedizin und Immunologie  
Doktorvater: Prof. Dr. P. Bugert

Das nicht neuronale cholinerge System (NNCS) und dessen Signalstoff Acetylcholin (ACh) vermitteln verschiedene Zellfunktionen von der Immunmodulation bis zur Zelldifferenzierung und Proliferation. Komponenten des NNCS wurden auch bei der Megakaryopoese und Thrombozyten nachgewiesen, darunter die Acetylcholinesterase (AChE), ACh selbst oder die nikotinischen Acetylcholinrezeptoren (nAChR)  $\alpha 4$ ,  $\alpha 7$ ,  $\beta 1$  und  $\beta 2$ . Unsere Arbeitsgruppe hat insbesondere die Funktion des nAChR $\alpha 7$  in Thrombozyten gezeigt und hat cholinerg vermittelte Einflüsse auf die Differenzierung der megakaryozytären Zelllinie Meg-01 gefunden. Bislang sind jedoch die zugrundeliegenden physiologischen Prozesse und regulatorischen Elemente noch nicht ausreichend verstanden. Die Identifizierung weiterer Bestandteile des NNCS in megakaryozytären Zellen, insbesondere Zellen des primären Systems, stand bislang noch aus.

In der vorliegenden Arbeit wurden die Rezeptoren nAChR  $\alpha 4$ ,  $\alpha 7$ ,  $\beta 1$  und  $\beta 2$  in allen vier megakaryozytären Zelllinien (CMK, Dami, M-07, Meg-01), sowie weitere Faktoren des NNCS untersucht. Hierzu zählen die ChAT, der Cholintransporter (CHT1), die nAChR  $\alpha 9$ ,  $\alpha 10$  und die muskarinischen AChR (M1- M5). Als primäres Zellmodell wurden CD34+-Zellen aus Nabelschnurblut gewonnen und in Zellkultur zur megakaryozytären Differenzierung gebracht. Die Genexpressionsuntersuchungen wurden zunächst mittels qRT-PCR durchgeführt. Es folgten Proteinanalysen mittels Westernblot-Hybridisierung. Es konnten im Rahmen dieser Doktorarbeit die cholinergen Rezeptoren nAChR  $\alpha 4$ ,  $\alpha 7$ ,  $\beta 1$ ,  $\beta 2$  und mAChR M4, M5 bei den megakaryozytären Zelllinien als auch im primären Zellmodell identifiziert werden. Der Nachweis für ChAT und CHT1 war in allen Zellen negativ. Für alle cholinergen Rezeptoren war während der megakaryozytären Differenzierung keine signifikante Änderung der Expression feststellbar. Dies zeigte sich auch für die AChE, die während der 20-tägigen Differenzierung der Primärzellen eine gleichbleibende Expression aufwies. Am stärksten exprimiert wurde, wider Erwarten, von Beginn an die AChE-R-Isoform. Auch die Verhältnisse der Isotypenexpression zueinander veränderten sich im Differenzierungszeitraum nicht wesentlich.

Zudem konnte in der vorliegenden Arbeit für Thrombozyten gezeigt werden, dass ACh gespeichert vorliegt und dies durch Aktivierung freigesetzt wird. Unklar bleibt jedoch, ob Thrombozyten das ACh durch die Carnitinacetyltransferase (CarAT) selbst synthetisieren oder über das offene kanalikuläre System (engl. OCS) aus dem Plasma aufnehmen. In jedem Fall wäre denkbar, dass freigesetztes ACh sowohl autokrin, als auch parakrin an der Aktivitätsregulierung der Thrombozyten beteiligt ist und auch immunmodulatorische Funktion besitzt.

Mit den Ergebnissen der vorliegenden Arbeit, reiht sich die thrombozytäre Zelllinie als eine weitere Komponente der bislang zahlreichen nachgewiesenen NNCS, in ein bedeutendes basales Regulationssystem der Organisation und Kommunikation von Zellfunktionen ein. Mit weiterführender Forschung könnte das NNCS in Thrombozyten und deren Vorläufer der weiteren Erforschung der Pathophysiologie von Erkrankungen des inflammatorischen Formenkreises dienen und als potentielles Ziel zur Entwicklung neuer therapeutischer Ansätze genutzt werden.