

Nikola Andrea Fritz  
Dr. med.

*“The role of the serotonin reuptake transporter gene SLC6A4 and serotonin type 3 receptor variants in Irritable Bowel Syndrome”*

Fach/Einrichtung: Humangenetik  
Doktorvater: Herr Prof. Dr. med. Christian Schaaf

Das Reizdarmsyndrom ist eine chronische multifaktoriell bedingte Erkrankung, die von dem Symptomkomplex abdominelle Schmerzen in Kombination mit schmerzhafter Defäkation und Veränderung der Stuhlgewohnheiten geprägt ist. Basierend auf dem vorherrschenden Stuhlverhalten lässt sich die Krankheit in die Subgruppen mit vornehmlich Diarrhoe, mit vornehmlich Obstipation, mit beidem im Wechsel und in eine unspezifizierte Form einteilen. Frauen erkranken etwa zwei- bis dreimal häufiger als Männer. Betroffene Patient\*innen leiden unter erheblichen Einschränkungen ihres täglichen Lebens, nicht zuletzt auf Grund von chronischen Schmerzen und in Ermangelung dauerhaft wirksamer Therapieoptionen. Daher besteht ein großer Bedarf die multifaktorielle Ätiologie und Pathogenese dieser Erkrankung zu entschlüsseln und so langfristig den Weg hin zur Entwicklung neuer individualisierter medikamentöser Therapieoptionen zu öffnen.

Neben Geschlecht, Alter und Umweltfaktoren (wie beispielsweise die Ernährung) haben genetische Faktoren zweifelsfrei einen Einfluss auf das Erkrankungsrisiko und die Ausprägungsform des Reizdarmsyndroms. Serotonin stellt einen der bedeutendsten Botenstoffe für die Darmfunktion und -regulation beim Menschen dar. Die Forschungsergebnisse der letzten Jahre weisen darauf hin, dass eine Schlüsselrolle bei der Entstehung des Reizdarmsyndroms genetischen Veränderungen im Serotonintransporter Gen *SLC6A4* sowie Varianten der Serotonin Typ 3-Rezeptor Familie zukommt. Diese Veränderungen führen dann zu gestörter serotonerg vermittelter Darmfunktion und tragen somit zu den typischen Krankheitssymptomen bei.

Der Serotonintransporter beendet die serotonerge Signalweiterleitung indem der Neurotransmitter Serotonin über diesen Transporter aus dem synaptischen Spalt in das präsynaptische Neuron, die Epithelzellen und die Enterozyten aufgenommen wird. Bislang wurden zwei verschiedene Promotoren von *SLC6A4* beschrieben, P1 und P2, wobei vorwiegend der P2-Promotor die Expression im Magen-Darm-Trakt zu steuern scheint. Die *SLC6A4*-Expression im zentralen Nervensystem unterliegt dagegen eher der Regulation durch P1. Mittels Expressionsanalysen an Dünndarmbiopsien von Patient\*innen und gesunden Kontrollindividuen konnte ich die Hypothese bestätigen, dass der P2-Promotor die *SLC6A4* Expression in der Mukosa des menschlichen Dünndarms steuert. Die weitere Analyse ergab allerdings keine signifikanten Unterschiede der Transkriptlevel im Vergleich zwischen Patient\*innen und gesunden Kontrollen. Eine Expression des P1-getriebenen Transkripts war in meinen Experimenten nicht nachweisbar.

Die Sequenzierung der P2 Region hatte in der Vergangenheit mehrere Einzelnukleotid-Polymorphismen enthüllt, die mit dem Reizdarmsyndrom mit Obstipation assoziiert waren. Die *SLC6A4* Variante rs2020938 wurde für meine Dissertation zur Validierung der vorbeschriebenen Assoziation mit dem Reizdarmsyndrom ausgewählt. Um weitere Erkenntnisse über die Auswirkungen dieser Variante auf die Regulierung der Genexpression zu gewinnen, habe ich den entsprechenden Polymorphismus aus denselben Gewebeproben sowie aus zusätzlichen Blutproben von Reizdarmsyndrom-Patient\*innen und gesunden Kontrollpersonen genotypisiert. Die Korrelation von Genotyp und

Genexpressionslevel ergab signifikant reduzierte *SLC6A4* Transkriptlevel in Jejunumproben von homozygoten Trägern des majoren T Allels, eine Assoziation mit dem Reizdarmsyndrom-Erkrankungsrisiko konnte aber nicht beobachtet werden. Insbesondere konnte die in der Vergangenheit propagierte Genotyp-Phänotyp-Assoziation, nämlich ein protektiver Einfluss des C Allels auf das Risiko an einem Reizdarmsyndrom mit Obstipation zu erkranken, in der hier vorliegenden Kohorte nicht repliziert werden. Nachdem die hier untersuchte Stichprobe sehr klein war und nur wenige Patient\*innen der Untergruppe mit Obstipation beinhaltete, sollte eine Validierung anhand einer größeren Studienpopulation angestrebt werden.

Der Längenpolymorphismus „*Serotonin Transporter Gene-Linked Polymorphic Region*“ in P1 wurde in der Vergangenheit ebenso vielfach mit dem Reizdarmsyndrom in Zusammenhang gebracht. Dieser Polymorphismus scheint einen funktionellen Effekt zu haben und das kurze s Allel korrelierte mit einer geringeren Transkriptionsaktivität und war mit dem Reizdarmsyndrom assoziiert worden. Im Rahmen meiner Arbeit konnten diese Zusammenhänge auf Grund fehlender P1 regulierter *SLC6A4*-Expression im Dünndarm nicht repliziert werden. So bleibt der kausale Zusammenhang der vorbeschriebenen Assoziation ungeklärt. Da das Reizdarmsyndrom als eine Störung der Darm-Hirn-Achse zu verstehen ist, bei der Schwere und Form der Symptome auch durch serotonerge Signalwege im zentralen Nervensystem moduliert werden, bleibt ein indirekter Einfluss dieses Längenpolymorphismus auf das Reizdarmsyndrom-Erkrankungsrisiko plausibel.

Über Serotonin Typ 3-Rezeptoren werden unter anderem die Peristaltik des Darmes, gastrointestinale Sekretionsprozesse und das viszerale Schmerzempfinden gesteuert. Einzelnukleotid-Polymorphismen in den für die Serotonin Typ 3-Rezeptor Untereinheiten kodierenden Genen *HTR3A* c.-42C>T (rs1062613), *HTR3B* c.386A>C (rs1176744), *HTR3C* c.489C>A (rs6766410) und *HTR3E* c.\*76G>A (rs56109847) wurden in der Vergangenheit mit einem erhöhten Reizdarmsyndrom-Erkrankungsrisiko assoziiert. Klinisch wird sich dieser Zusammenhang bereits in der Therapie des Reizdarmsyndroms zu Nutze gemacht. Patienten mit überwiegend Diarrhoe erfahren oft eine deutliche Symptomlinderung durch die medikamentöse Therapie mit Serotonin Typ 3-Rezeptor-Antagonisten.

Meine Expressionsanalysen an Proben aus vier verschiedenen Darmregionen (Jejunum, Ileum, Kolon und Sigma) von Reizdarmsyndrom-Patient\*innen und gesunden Kontrollen führten zu dem Ergebnis, dass *HTR3E* das einzige Serotonin-Rezeptor Untereinheit kodierende Gen ist, welches in allen untersuchten Darmregionen zuverlässig exprimiert wird. Meine weiteren Analysen ergaben signifikant reduzierte *HTR3E* Transkriptlevel in Sigmaproben von Reizdarmsyndrom-Patient\*innen, insbesondere bei Patient\*innen mit Diarrhoe. Das unterstreicht die besondere Bedeutung von *HTR3E* in der Pathogenese des Reizdarmsyndroms. Darüber hinaus konnte ich die Variante *HTR3E* c.\*76G>A als Risikofaktor für das Reizdarmsyndrom bei weiblichen und männlichen Patient\*innen bestätigen, wobei der Effekt interessanterweise bei männlichen Patienten mit wechselweise Obstipation und Diarrhoe am deutlichsten war. Ebenso bestätigten sich Assoziationen der Varianten *HTR3A* c.-42C>T, *HTR3B* c.386A>C und *HTR3C* c.489C>A mit dem Reizdarmsyndrom. Da die betreffenden Untereinheiten jedoch keine robuste Expression im Dünn- und Dickdarm aufwiesen, bleibt ihr genauer Einfluss auf die Krankheitsentstehung fraglich und sollte Gegenstand weiterer Untersuchungen sein.

Zusammenfassend lieferte meine Arbeit weitere Belege dafür, dass *SLC6A4* und die Varianten des Serotonin Typ 3-Rezeptors, vorrangig die Variante c.\*76G>A in *HTR3E*, eine Schlüsselrolle in der Pathogenese und klinischen Manifestation des Reizdarmsyndroms spielen.