



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

**Funktionelle Charakterisierung nikotinerger Acetylcholinrezeptoren
auf megakaryozytären Zellen**

Autor: Julian Starigk
Institut / Klinik: Institut für Transfusionsmedizin und Immunologie
Doktorvater: Prof. Dr. P. Bugert

In megakaryozytären Zellen und Thrombozyten konnte unlängst von dieser Arbeitsgruppe ein vollständiges cholinerges System identifiziert werden. Besonderes Augenmerk lag auf dem Nachweis verschiedener nikotinerger Rezeptoruntereinheiten, darunter $\alpha 4$, $\alpha 7$ und $\beta 2$. Typischerweise lagern sich diese Untereinheiten zu dem Homopentamer nAChR $\alpha 7$ und zum Heteropentamer nAChR $\alpha 4\beta 2$ zusammen und fungieren als ionotrope Rezeptoren. Das Ziel der vorliegenden Arbeit war es nunmehr, die Funktion der genannten Rezeptoren $\alpha 7$ und $\alpha 4\beta 2$ auf Megakaryozyten zu klären. Methodisch kamen dabei zwei Verfahren zum Einsatz:

Calciumimaging:

Die megakaryoblastischen Zelllinien CMK, DAMI, M07 und MEG-01 wurden mit dem Fluoreszenzfarbstoff FLUO-4 beladen und anschließend mit den cholinergen Agonisten Acetylcholin, Nikotin und PNU in verschiedenen Konzentrationen stimuliert. Grundsätzlich sollten zwei Fragen geklärt werden. Bewirkt die nikotinerge Stimulation einen kanalbedingten Einstrom von Calcium nach intrazellulär? Und kann durch cholinerge Agonisten eine Mobilisation cytoplasmatischer Calciumspeicher erreicht werden? Beide Fragen können auf Grundlage, der in dieser Arbeit erlangten Ergebnisse allerdings verneint werden.

Patch Clamp:

Ergänzend zu den angesprochenen Calciumströmungen wären beim Patch Clamp auch Natriumströme beispielsweise über den nAChR $\alpha 4\beta 2$ nachweisbar gewesen. Außerdem wurden die Zellen auf die Existenz spannungsabhängiger Kanäle untersucht. Die Messungen umfassten neben den genannten Zelllinien auch CBMK-Zellen. Als Agonisten kamen Nikotin, Acetylcholin und Carbamylcholin zum Einsatz. Es konnten keine agonisteninduzierten Transmembranströme an den Zellen nachgewiesen werden. Nicht überraschend indes war auch die Tatsache, dass die Suche nach potentialgesteuerten Kanälen erfolglos ausfiel.

Zusammenfassend ist also zu konstatieren, dass in Megakaryozyten ein cholinerges System inklusive der entsprechenden Rezeptoren zu existieren scheint. Die Funktion der Rezeptoren sich aber von der in anderen NNCSs unterscheidet. Das Vorhandensein funktionierender ionotroper Rezeptoren konnte nicht belegt werden. Ein möglicher Erklärungsansatz wäre eine abweichende Zusammensetzung der Rezeptoruntereinheiten mit veränderter Permeabilität. Des Weiteren scheint ein detaillierter Blick auf die Signaltransduktion innerhalb der Zelle vielversprechend. Neuesten Erkenntnissen zufolge wäre auch eine $\alpha 7$ -induzierte, aber JAK/STAT-vermittelte, von Calcium primär unabhängige Signalverarbeitung möglich. Auch die bislang recht gut erforschte Rolle von cholinergen Systemen an inflammatorischen Prozessen könnte der Schlüssel sein. So empfiehlt es sich aus meiner Sicht Zellen aus entzündlich verändertem Knochenmark auf den Einfluss des cholinergen Systems hin zu untersuchen. Das detaillierte Verständnis der Funktion der nAChRs inklusive der nachgeschalteten Signal-Pathways würde nicht nur mehr Klarheit in die Rolle des Acetylcholins während der Hämatopoese bringen sondern unter Umständen auch die Identifikation neuer therapeutischer Targets im Rahmen inflammatorischer Knochenmarksprozesse ermöglichen.