

Rolle des Serotoninsystems in der Embryonalentwicklung

Zusammenfassung

In dieser Doktorarbeit werden neue Aspekte von TPH für verschiedene Tiermodelle beschrieben:

- ***Drosophila melanogaster***

Ein neues Gen, das für Tryptophan-Hydroxylase (CG9122; *DmTPH*) kodiert, wurde als neues, drittes Gen in der Familie der aromatischen Aminosäure-Hydroxylasen (AAAH) in *Drosophila melanogaster* neben Tyrosin-Hydroxylase (TH) und Phenylalanine-Hydroxylase (PAH oder Henna) kloniert. Bisher dachte man, dass Henna die beiden Enzymaktivitäten von PAH und TPH besitzt. Die Enzymaktivität von *DmTPH* Trp zu 5OH-Trp zu hydroxylieren, ist höher als die von Henna, und Trp ist ein passenderes Substrat für *DmTPH* als für Henna.

- **Maus**

Das TPH2-Gen wurde in ES-Zellen gezielt verändert, um Knock-Out-Mäuse zu erzeugen, aber die ES-Zellen generierten nur chimäre Mäuse ohne Keimbahngängigkeit wahrscheinlich aufgrund einer wichtigen Rolle von TPH2 in der Spermatogenese. Dem entsprechend wurde die Expression von TPH2, aber nicht TPH1, im Hoden von Mäusen, Ratten und Menschen entdeckt.

- **Zebrafisch**

Drei Isoformen von TPH wurden im Zebrafisch im Gegensatz zu zwei Isoformen bei anderen Wirbeltieren kloniert, was die Hypothese einer Genom-Verdoppelung während der Evolution des Fisches bestätigt, wenn man den Verlust eines vierten TPH-Gens annimmt.

5HT wurde in frühen Stadien von Zebrafischembryonen in (8-Zellembryonen, Blastula-, Gastrula-, und 1dpf-Stadien) gefunden, was auf eine Rolle von 5HT während der Embryogenese auch vor der Neuronenentwicklung schließen lässt. In späteren Stadien wurde 5HT in der "Hatching"-Drüse, in Geruchsneuronen und im *Raphe nucleus* gefunden, dort zusammen mit der Expression von TPH2 und 5HTT. In der Epiphyse

wurde 5HT parallel mit der Expression von TPHD1 und, überraschend, auch mit der Expression von TPH2 gefunden.

5HT wurde auch in Zellen gefunden, die 5HT-Einzelzellen genannt wurden, im Darm, den dorsalen Wurzelganglien, den Kiemenbögen und der Haut. Durch Ausschaltung von Genen, die für die Entwicklung von Subpopulationen von Neuralleistenzellen verantwortlich sind, wurden diese Zellen als Ursprung der 5HT-Einzelzellen identifiziert. Ausschaltung von Sox10 reduzierte die 5HT-Einzelzellen in der Haut, und von Foxd3 die Zellen im Darm, den Wurzelganglien, und Kiemenbögen.

Erstmal wurde auch der 5HT2B-Rezeptor des Zebrafisches kloniert, und dessen Expression wurde in den Herz und Kiemenbögen gefunden wurde, ähnlich wie bei der Maus.

TPH2-"Knock down"-Fische wurden unter dem Einsatz von Morpholino-Antisense-Oligonucleotiden erzeugt. Sie zeigten viele Entwicklungsdefekte in von Neuralleisten abgeleiteten Geweben wie den Kiemenbögen, dem peripheren und enterischen Nervensystem und dem Herz.

Die Spezifizierung von Neuralleistenzellen war in TPH2-"Knock down"-Fischen nicht betroffen, wie durch die Expression von verschiedenen frühen Markern gezeigt wurde. 5HT-Einzelzellen waren in der Haut und in den Kiemenbögen in TPH2-"Knock down"-Fischen nicht nachweisbar.

Pharmakologische und genetische Versuche zum Funktionsverlust von 5HT2B-Rezeptoren zeigten Defekte in der Funktion des Herzens und in der Entwicklung der Kiemenbögen, was dem Expressionsmuster in beiden Geweben entspricht.