



Biopathologischer Erklärungsversuch zur kardiovaskulären Mortalität bei affektiver Erkrankung

Hilscher M.¹, Weißflog L.¹, Scholz C.-J.², Reif A.^{1,3}, Kittel-Schneider S.^{1,3}

¹Zentrum für psychische Gesundheit, Universitätsklinikum Würzburg; ²IZKF Microarray Core Facility, Institut für Virologie und Immunbiologie, Universität Würzburg; ³Comprehensive Heart Failure Center, Universitätsklinikum Würzburg

Einleitung

Die bipolar-affektive Störung betrifft ca. 2 % der Bevölkerung weltweit. Nicht nur psychiatrische Komorbiditäten sind bei den bipolaren Patienten häufig, auch ist eine Assoziation zu Diabetes mellitus Typ II und kardiovaskulären Erkrankungen gezeigt worden [1]. Lithium ist der Goldstandard der phasenprophylaktischen Behandlung und es gibt Hinweise auf eine neuroprotektive und anti-inflammatorische Wirkung [2]. Die molekularen Pathomechanismen der bipolaren Störung, ihrer Assoziation mit somatischen Komorbiditäten und der Wirkungsweise von Lithium sind nach wie vor nicht vollständig geklärt. Das Ziel dieser präliminaren Studie war es in zwei unterschiedlichen peripheren Zellmodellen zu untersuchen, ob Unterschiede in der Genexpression zwischen bipolaren Patienten und gesunden Kontrollen mit und ohne Lithiumbehandlung festgestellt werden können auch in Hinblick auf die Entwicklung peripherer Biomarker für Differentialdiagnostik und Therapieresponse.

Ergebnisse

Die zunächst hypthesenfreie Expressionsanalyse mittels Microarray der Lymphoblasten erbrachte signifikant differentiell regulierte Gene aufgrund der Lithiumbehandlung und aufgrund der bipolaren Diagnose. Von diesen wurden *AIF-1*, *CD38*, *EPHB1*, *KCNK1*, *PRKCH-ε*, *SLC2A13*, *PLEKHA2* und *ST3GAL6* (alle adj. p-value < 1x10⁻⁵) für die verifizierende qRT PCR Analyse ausgewählt.

Mittels einer GEE Regression konnte bei den qRT PCR Resultaten der lymphoblastoiden Zellen nur für *PLEKHA2* (p<0,05) ein Behandlungseffekt für Lithium nachgewiesen werden, bei einzelnen Zeitpunkten gab es auch Lithiumeffekte (t-test) bei *KCNK1*. Allerdings konnten in *AIF-1*, *CD38*, *KCNK1*, *EPHB1*, *PRKCH-ε*, *SLC2A13* und *ST3GAL6* signifikante Unterschiede zwischen bipolaren Patienten und gesunden Kontrollen nachgewiesen werden (Tab. 1, Abb. 2)

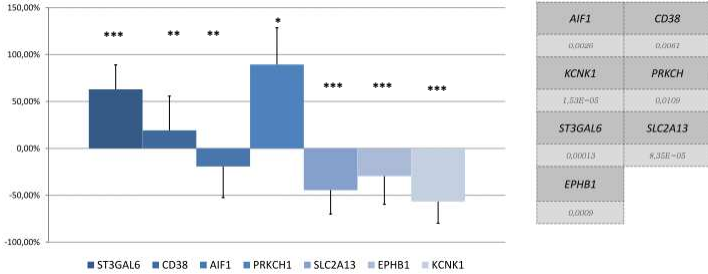


Abb. 1, Tab. 1: Signifikant differentiell regulierte Gene in lymphoblastoiden Zellen bei bipolaren Patienten im Vergleich zu gesunden Kontrollen. ***p<0,001, **p<0,01, *p<0,05.

Die Microarray-Untersuchung der Fibroblasten ergab nur ein signifikant durch Lithiumbehandlung reguliertes Gen, *cFOS* (adj. p-value: 9,06x10⁻¹²), aber 312 hochsignifikant differentiell regulierte Gene zwischen bipolaren Patienten und gesunden Kontrollen, von diesen wurden *FGF9*, *GPX3*, *IL13RA2*, *MMP1*, *OXTR*, *PDE3A*, *TSPAN13*, *VCAM1* und *S100B* zur Verifizierung mit qRT PCR ausgewählt. Hier zeigte die qRT PCR doch einen Lithiumeffekt auf die *FGF9* Expression (Downregulation, GEE und gepaarte t-tests, p=0,03) (Tab. 2). Auch die signifikanten Gruppenunterschiede zwischen bipolaren Pat. und Kontrollen konnten bestätigt werden für *FGF9*, *IL13RA2*, *MMP1*, *OXTR*, *PDE3A*, und *TSPAN13*. *GPX3*, *PDE5A* und *VCAM1* wiesen in einzelnen Zeitpunkten mittels t-test errechnete signifikante Gruppen- und Interaktionseffekte auf, welche sich aber in der longitudinalen GEE Auswertung als nicht signifikant darstellten (Tab. 3, Abb. 4)

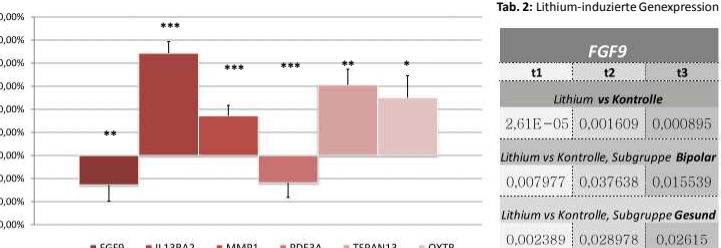
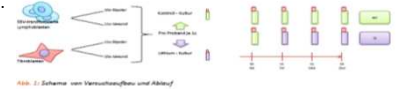


Abb. 3, Tab. 3: Signifikant differentiell regulierte Gene in Fibroblasten bei bipolaren Patienten im Vergleich zu gesunden Kontrollen. ***p<0,001, **p<0,01, *p<0,05.

Methoden

EBV-immortalisierte Lymphoblasten und Fibroblasten von bipolaren Patienten (n=10) und gesunden Kontrollen (n=10) wurden mit Lithiumchlorid (LiCl, c=1mMol/l) oder reinem Medium inkubiert. Zur Baseline und nach 1, 2 und 3 Wochen Behandlung wurde mRNA isoliert und zunächst eine hypthesenfreie Microarray-Analyse durchgeführt (Abb. 1). Die signifikantesten und bezüglich molekularen Signalwegen interessantesten Gene wurden mit quantitativer Real Time PCR weiter untersucht. Die Ergebnisse der qRT PCR wurden gegen housekeeping Gene normalisiert (*HPRT1*, *TBP1*, *TBP*, *GUSB*, *B2M*) mithilfe von LinReg und GeNorm Software. Die statistische Analyse erfolgte mit R und SPSS.

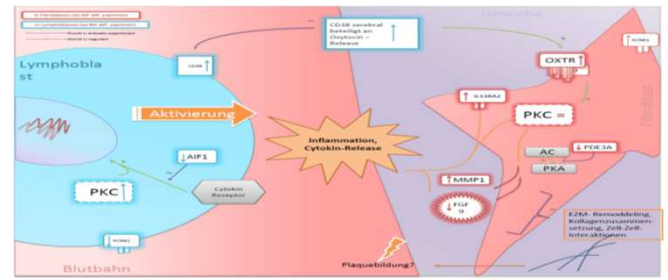


Diskussion

Unsere präliminare Studie erbrachte aus zwei verschiedenen peripheren Zellmodellen signifikante Expressionunterschiede zwischen bipolaren Patienten und gesunden Kontrollen. Zudem konnten wir Lithium-regulierte Gene unabhängig von der Diagnose finden. Zwar gab es wenig Überschneidungen zwischen den Expressionsmustern beider Zellmodellen bei den bisherigen Analysen, allerdings fällt auf, dass jeweils Gene bei den bipolaren Patienten differentiell reguliert waren, welche eine Rolle im Immunsystem- bzw. bei Inflamationsprozessen und der oxidativen Stressantwort spielen. Dies bestätigt Hinweise aus verschiedenen Studien, dass zumindest bei einer Subgruppe der bipolaren Patienten Dysregulationen im Immunsystem eine pathogenetische Rolle spielen könnten [3]. Auch bei kardiovaskulären Erkrankungen wird eine Mitbeteiligung inflammatorischer Prozesse diskutiert [4], so dass möglicherweise hier die Verbindung zur erhöhten kardiovaskulären Morbidität bei den bipolaren Patienten liegen könnte.

Im Hinblick auf die einzelnen Gene könnten folgende Zusammenhänge und Auswirkungen postuliert werden:

- Die Heraufregulierung von PRKCH, IL13RA2 und MMP1 und die Herabregulierung von AIF1 bei den bipolaren Patienten spricht für eine erhöhte Immunantwort und -sensibilität [6].
- Auch Oxytocin scheint mit der Immunantwort bzw. oxidativer Stressantwort assoziiert zu sein, Fibroblasten mit einem OXTR-Knockdown zeigten erhöhte Sauerstoffradikalbildung und verminderte Konzentration an Glutathion. CD38 hingegen reguliert die Oxytocin-Sekretion [7,8].
- Die Aktivität von Phosphodiesterase 3 wird unter anderem mit der Entstehung von Arteriosklerose in Verbindung gebracht. Eine chronische PDE3A Downregulation führte in einer in-vitro Studie zu erhöhter Apoptoserate bei Myozyten, dies könnte in Zusammenhang mit der erhöhten kardialen Mortalität bei bipolaren Patienten gebracht werden [9,10].
- In Hinblick auf lithium-induzierte Expressionsänderungen konnte hier der bereits bekannte Einfluss auf den Phosphatidyl-Inositol-Second-Messenger Signalweg bekräftigt werden (PLEKHA2) und die Regulation des Transkriptionsfaktors FOS, welcher allerdings auch von verschiedenen anderen Substanzen beeinflusst wird [11]. Die Lithiumwirkung auf FGF9 Expression könnte mit dem ROCK2/GSK-3β/β-catenin pathway in Zusammenhang stehen [12].



Referenzen

- Smith, DJ et al. Multimorbidity in bipolar disorder and undertreatment of cardiovascular disease: a cross sectional study, BMC Med. 2013; 11: 263.
- Yatham, L.N., et al., Canadian Network for Mood and Anxiety Treatments (CANMAT) and International Society for Bipolar Disorders (ISBD) collaborative update of CANMAT guidelines for the management of patients with bipolar disorder: update 2013. Bipolar Disord. 2013; 15(1): p. 1-44
- Stertz, L., P.V. Magalhães, and F. Kapczinski. Is bipolar disorder an inflammatory condition? The relevance of microglial activation. Curr Opin Psychiatry, 2013. 26(1): p. 19-26
- Fernandez-Velasco, M. et al. Involvement of monocytes/macrophages as key factors in the development and progression of cardiovascular diseases. Biochem J. 2014 Mar 1;458(2):187-93.
- Tian, Ying; Jain, Sarbati; Kelemen, Sheri E.; Autieri, Michael V.: AIF-1 expression regulates endothelial cell activation, signal transduction, and vasculogenesis. In: Am. J. Physiol. Cell Physiol. 2009, 296 (2), S. C256-66.
- Deininger, Martin H.; Meyermann, Richard; Schluessener, Hermann J.: The allograft inflammatory factor-1 family of proteins. FEBS Lett. 2002 514 (2-3), S. 115-121
- Deing, V. et al. Oxytocin modulates proliferation and stress responses of human skin cells: implications for atopic dermatitis. Exp Dermatol, 2013 Jun;22(6):399-405.
- Logartina et al., The roles of oxytocin and CD38 in social or parental behaviors. Front Neurosci 2013 Jan 11:6:182.
- Okawa et al., Cyclic nucleotide phosphodiesterase 3A1 protects the heart against ischemia-reperfusion injury. J Mol Cell Cardiol 2013 Nov;64:11-9.
- Nagaoika, T., et al. Cyclic nucleotide phosphodiesterase 3 expression in vivo: evidence for tissue-specific expression of phosphodiesterase 3A or 3B mRNA and activity in the aorta and adipose tissue of atherosclerosis-prone insulin-resistant rats. Diabetes, 1998 Jul;47(7):1135-44.
- Issy AC, Del EA. 7-Nitroindazole blocks the prepuise inhibition disruption and c-fos increase induced by methylphenidate. Behav Brain Res. 2014 Apr 1;262:74-83.
- Boukui, S., et al., ROCK2 regulates bFGF-induced proliferation of SH-SY5Y cells through GSK-3β and β-catenin pathway. Brain Res 2013 Jan 25;1492.