

**AG Salama****Arbeitsgruppenleiter:**

Prof. Dr. Abdulgabar Salama  
Institut für Transfusionsmedizin  
Charité Universitätsmedizin Berlin  
Augustenburger Platz 1  
13353 Berlin  
Tel: ++49 (0)30 553012  
Fax: ++49 (0)30 553932  
E-Mail: [abdulgabar.salama@charite.de](mailto:abdulgabar.salama@charite.de)

**Genutzte Räume:**

Hessische Str.: 3113-03-01/02

**Wissenschaftliche Mitarbeiter im Forschungshaus Hessische Straße:**

Julian Kamhieh-Milz, Viktor Sterzer, Sahime Celik und weitere  
Tel. 450-565804  
Fax. 450-565904

**Homepage:**

<http://www.trans.charite.de>

**Forschungsthemen:****1. Autoimmunthrombozytopenie**

Die idiopathische thrombozytopenische Purpura (ITP), auch Autoimmunthrombozytopenie genannt ist eine Erkrankung, die durch einen beschleunigten Thrombozytenabbau charakterisiert ist. Bei knapp 60% der Patienten sind Autoantikörper gegen thrombozytäre Antigene nachweisbar. Der Grund für die Entstehung der Thrombozytopenie ist bislang unbekannt. Hauptforschungsziel ist die Aufklärung der Pathomechanismen, die in der Autoimmunthrombozytopenie involviert sind.

Die interzelluläre Kommunikation von möglicherweise dysregulierten Immunzellen erfolgt über sekretierte Proteine (Interleukine, Zytokine, Wachstumsfaktoren, etc). Aus diesem Grund wurde mit Hilfe eines Antikörper Mikroarrays 750 sekretorische Proteine von 40 ITP Patienten und gesunden Spendern quantitativ untersucht. Die Ergebnisse werden baldig veröffentlicht. Im Fokus des letzten Jahres standen auch die Identifizierung neuer/weiterer Autoantigene mit Hilfe zweier komplementärer Verfahren (AMIDA (MS-basiertes Verfahren) Protein Arrays). Die Befunde können aus patentrechtlichen Gründen hier noch nicht offengelegt werden. Derzeit befinden wir uns bei der Downstream-Validierung. Die Veröffentlichung der Ergebnisse ist bis Mitte des Jahres anvisiert. Als Nebenbefund sind wir jedoch darauf aufmerksam geworden, das *de novo* Mutation im Myosin-9 Gen (MYH9) mit Thrombozytopenien assoziiert werden. Wir haben daher ein Sceningverfahren auf der Basis der Immunfluoreszenzmikroskopie entwickelt um Mutationen durch Proteinaggregate in Neutrophilen nachzuweisen. In der Tat wurden bei knapp 15% der ITP Patienten mögliche Mutationen nachgewiesen. Diese Befunde müssen jedoch erst noch genetisch mit Hilfe von RNA-Sequencing (Illumina HiSeq 2000) bestätigt werden. Es sind für dieses Jahr auch noch mRNA und miRNA Expressionsstudien geplant.

**2. Stammzellforschung**

Hämatopoetische Stamm-und Progenitorzellen (HSPC) sind durch ihre Fähigkeit definiert, sich selbst zu regenerieren und sich in alle Zelltypen des blutbildenden Systems zu entwickeln. Sie bilden die Grundlage der Zelltherapie zur Behandlung zahlreicher maligner und nicht-maligner hämatopoetischer Erkrankungen. Darüber hinaus stellen sie ein vielversprechendes Ziel der

Gentherapie dar, wodurch möglicherweise eine Vielzahl von Krankheiten behandelt werden könnte. Zu den wichtigsten Einschränkungen derartiger Behandlungen zählen u.a. die häufig geringe Anzahl verfügbarer Zellen sowie das unzureichende Engraftment transplanteder Stammzellen. Die experimentellen *ex vivo* Kultivierungen von HSPC dienen als Basis zur Erfindung weiterer Maßnahmen zur Steigerung der Zellzahl und des Engraftmentpotenzials der zu transplantierenden Stammzellen. In diesem Zusammenhang ist die Ko-kultur mit Feederzellen ein vielversprechendes Werkzeug. Humane Endothelzellen aus der Nabelschnurvene (HUVEC) sind dafür bekannt, zahlreiche Zytokine zu produzieren, die bekanntermaßen eine wichtige Rolle bei der Proliferation und Differenzierung der hämatopoetischen Progenitorzellen spielen. Um die Faktoren zu identifizieren, die für die hämatopoetischen Effekt verantwortlich sind, wurden bereits qualitative sowie ein quantitative Transkriptom- und Proteomicsstudien durchgeführt. Die Ergebnisse deuten darauf hin, dass extrazelluläre Vesikel (EVs) für den horizontalen Informationstransfer verantwortlich sein könnten. Um dieser Vermutung nachzukommen, arbeiten wir derzeit ein DFG Antrag aus.

### 3. Einfluss von Lagerschäden bei Blutprodukten auf das klinische Outcome.

Als Forscher am Institut für Transfusionsmedizin gehört es auch dazu, transfusionsassoziierte Projekte durchzuführen. Dennoch bleiben wir mit unseren Untersuchungen im Bereich Immunologie. Eine in der Literatur stark kontrovers diskutierte Meinung ist, dass länger gelagerte Blutprodukte mit einem schlechteren klinischen Outcome assoziiert sein sollen als frische Erythrozytenkonzentrate (EKs). Man nennt diesen Mechanismus auch Transfusionsassoziierte Immunmodulation (TRIM). Um die TRIM *in vivo* in Abhängigkeit der Lagerungszeit von Erythrozytenkonzentraten (EKs) zu überprüfen, haben wir die erste randomisierte, prospektive Studien in Kooperation mit der Anästhesiologie m.S. operative Intensivmedizin sowie mit dem Institut für Hämatologie und Onkologie vor kurzem gestartet. Untersucht werden primär Änderungen auf zellulärer Ebene (Immunstatus, Tregs, etc.) und Änderungen auf Sekretomebene (Zytokinprofiling) jeweils vor- und zu verschiedenen Zeitpunkten nach der OP. Parallel dazu haben wir bereits mögliche Lagerungsschäden hinsichtlich stärkerer Komplementaktivierung und beschleunigter Phagozytoserate länger gelagerter EKs untersucht. Die Befunde deuten auf eine hohe Qualität unserer Blutprodukte an der Charité hin. Dennoch scheinen längergelagerte Erythrozyten empfindlicher für eine Komplementaktivierung zu werden, wenn man eine Transfusion *in vitro* simuliert. Eine stärkere Phagozytoserate konnte jedoch nicht beobachtet werden.

Thrombozyten werden oft als langweilige Zellfragmente, ja nicht einmal als vollwertige Zellen gewertet. Dennoch haben Sie eine fundamentale Bedeutung für das Immunsystem. Sie erkennen Pathogene über Toll-like Rezeptoren (TLRs), können nach Aktivierung spezifisch eine Vielzahl von Zytokinen sekretieren, sind (obwohl kernlos) zur *de novo* Proteinbiosynthese befähigt und können sogar als Antigen-präsentierenden Zellen (APCs) Antigene über MHC Klasse I Moleküle präsentieren. Es ist bekannt, dass die Thrombozytenaktivierung über die Lagerungszeit (bis zu 5 Tagen) stetig zunimmt. Allerdings ist auch bekannt, dass die Zytokinsekretion (eventuell auch pro-inflammatorische Zytokine) stark positiv mit der Voraktivierung korreliert. Dennoch beschäftigen sich alle Forschungsgruppen mit den Zellveränderungen der Thrombozyten selbst, schenken dem Sekretom jedoch keine Aufmerksamkeit, wobei das Sekretom doch mit transfundiert wird. Aus diesem Grund profilieren wir derzeit mit MS-basierten Verfahren und Zytokin Arrays das Sekretom von TKs über die Lagerungszeit. Darüber hinaus könnten auch Mikropartikel für ein schlechteres klinisches Outcome für bestimmte Patientengruppen assoziiert sein. Aus diesem Grund wird nun multizentrisch an der Ausarbeitung und Validierung eines Konsensusprotokolls gearbeitet. Alle notwendigen Einstellungen für die Mikropartikelanalytik mit Hilfe der MegaMix Kalibratorbeads wurden am FACS Canto II in der Hessischen Straße vorgenommen und stehen somit auch anderen Arbeitsgruppen zur Verfügung.

**Projekte am Standort Hessische Str.:**

a) Autoimmunthrombozytopenie

b) Stammzellexpansion

c) Immunologische Untersuchungen (in vivo und in vitro) zu Lagerschäden von Blutprodukten

**Multiuser Geräte:**

Biorad iQ5 Real Time Thermocycler

Geldokumentationsgerät

**Ausgewählte Publikationen:**

1. Emmerich F, Bal G, Barakat A, Milz J, Mühle C, Martinez-Gamboa L, Dörner T, **Salama A**. High-level Serum B-cell activating factor and promoter polymorphisms in patients with idiopathic thrombocytopenic purpura. *Br J Haematol*. 2007; 136(2):309-14.

2. Moldenhauer A, Genter G, Lun A, Bal G, Kiesewetter H, and **Salama A** Hematopoietic progenitor cells and interleukin-stimulated endothelium: expansion and differentiation of myeloid precursors *BMC Immunol*. 2008; 9: 56.

3. Moldenhauer A, Futschik M, Lu H, Helmig M, Götze P, Bal G, Zenke M, Han W, **Salama A**. Interleukin 32 promotes hematopoietic progenitor expansion and attenuates bone marrow cytotoxicity. *Eur J Immunol*. 2011 Jun;41(6):1774-86. Epub 2011 May 13. PubMed PMID: 21469100.

4: Bal G, Kamhieh-Milz J, Futschik M, Haupt T, **Salama A**, Moldenhauer A. Transcriptional profiling of the hematopoietic support of interleukin-stimulated human umbilical vein endothelial cells (HUVECs). *Cell Transplant*. 2011 Jun 7. PubMed PMID: 21669038.

5. Bal G, Kamhieh-Milz J, Sterzer V, Al-Samman M, Debski J, Klein O, Kamhieh-Milz S, Bhakdi S, **Salama** (2011). Proteomic profiling of the hematopoietic support of interleukin-stimulated human umbilical vein endothelial cells. *Cell Transplant*. 2012 Oct 1. PubMed PMID: 23031318

6. Kamhieh-Milz J, Bal G., Sterzer V., Kamhieh-Milz S, Arbach O and **Salama A**. Reduced antioxidant capacities in platelets from patients with autoimmune thrombocytopenia purpura (ITP). *Platelets*. 2011 Sep 13. PubMed PMID: 21913810.

**Drittmittelprojekte:**

Deutsche Forschungsgemeinschaft (SA 405 4-1)

Human Genome Sciences Inc., Rockville.

Immucor, 89778006, Diamed, Nr.89771049