

Raphaela Elisabeth Tschada

Dr. med.

## **Molekulare Mechanismen der Leukozytenrekrutierung bei Frühgeborenen**

Fach: Kinderheilkunde

Doktorvater: Prof. Dr. med. Dipl. chem. Johannes Pöschl

Teile des Immunsystems sind bei Neugeborenen, besonders bei Frühgeborenen unreif. Dadurch erhöht sich die Infektanfälligkeit, was zu einer gesteigerten perinatale Mortalität und Morbilität führt. Da beschrieben wurde, dass im Erwachsenenalter RAGE genauso wie ICAM-1 an leukozytäre  $\beta_2$ -Integrine wie MAC-1 bindet und somit direkt an der Leukozytenrekrutierung im Rahmen von Entzündungsprozessen beteiligt ist, wurde die Rolle von RAGE für die Leukozytenrekrutierung bei Reif- und Frühgeborenen untersucht.

Neutrophile Granulozyten wurden aus Nabelschnurblut von reifen Neugeborenen (>35. SSW), Frühgeborenen zwischen der 30. und 35. SSW und Frühgeborenen vor der 30. SSW mittels Dichtezentrifugation isoliert und fluoreszenzmarkiert. Die Leukozytenadhäsion wurde mit Hilfe von Mikroflussskammern, die mit den Adhäsionsmolekülen P-Selektin (4  $\mu\text{g/ml}$ ), IL-8 (10  $\mu\text{g/ml}$ ), ICAM-1 oder löslichem RAGE (sRAGE) (4  $\mu\text{g/ml}$ ) beschichtet waren, untersucht. Gleichzeitig wurde anhand von durchflusszytometrischen Messungen die Expression der  $\beta_2$ -Integrine MAC-1 und LFA-1 auf neonatalen neutrophilen Granulozyten untersucht. Schließlich wurde die Plasmakonzentration von sRAGE im Verlauf der Schwangerschaft mittels ELISA bestimmt. Die Ergebnisse der Untersuchungen der Kinder aus dem Neonatalalter wurden jeweils denen von gesunden erwachsenen Probanden gegenübergestellt.

Im *in vitro* Mikroflussskammermodell war die P-Selektin, IL-8, ICAM-1 abhängige feste Leukozytenadhäsion mit der unter P-Selektin, IL-8, sRAGE Beschichtung vergleichbar, sowohl bei Erwachsenen als auch bei früh- und reifgeborenen Kindern. Die adäsionsvermittelnde Wirkung von sRAGE war im Vergleich zu der von ICAM-1 bei Frühgeborenen leicht, aber nicht signifikant stärker. RAGE kann die Leukozytenrekrutierung genauso wie ICAM-1 vermitteln. Es bestand eine inverse Korrelation der Leukozytenadhäsion mit dem Gestationsalter. Je unreifer das Kind geboren wurde, desto geringer war die Leukozytenadhäsion in dem Flusskammermodell. Im Gegensatz dazu sank die

Serumkonzentration von sRAGE im Verlauf der Schwangerschaft signifikant ab. Die niedrigsten Spiegel wurden bei Erwachsenen gemessen.

Die Expressionsanalysen der leukozytären Bindungspartner für RAGE und ICAM-1, MAC-1 bzw LFA-1 ergab, dass MAC-1 bei Frühgeborenen im Vergleich zu reifen Neonaten und Erwachsenen minimal hochreguliert war. LFA-1 hingegen wurde bei Frühgeborenen, Reifgeborenen und Erwachsenen gleich hoch exprimiert.

Als wesentlichstes Ergebnis der Untersuchungen konnten gezeigt werden, dass sRAGE die feste Leukozytenadhäsion auch bei sehr frühgeborenen Kindern (< 30. SSW) induziert, wenn auch die prinzipielle Fähigkeit der Leukozyten zu adhären zu diesem Zeitpunkt noch unterentwickelt ist. Da die sRAGE-Expression im Frühgeborenenalter deutlich hochreguliert wird, ist RAGE ein wesentlicher Mediator der Leukozytenrekrutierung und damit auch der zellulären Abwehr von sehr frühgeborenen Kindern. Unter Umständen ergibt sich daraus eine neue therapeutische Option zur Behandlung von Störungen des Immunsystems im Neonatalalter, wie z.B. neonataler bakterieller Infektionen.