



Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg
Fakultät für Klinische Medizin Mannheim
Dissertations-Kurzfassung

**Überexpression von Fibroblasten-Wachstumsfaktoren aus
retinalem Pigmentepithel - ein experimenteller Therapieansatz zur
alterskorrelierten Makuladegeneration**

Autor: Daniela Gabriele Seidler
Einrichtung: Augenklinik
Doktorvater: Prof. Dr. H. Liesenhoff

Eine Sonderform vasoproliferativer Erkrankungen, die zwei Drittel aller Erblindungsfälle ausmacht, stellt die AMD dar. Sie zeichnet sich durch die Entwicklung einer fibrovaskulären subretinalen Membran aus, die die Funktion des RPE beeinträchtigt. Von einigen Wachstumsfaktoren, insbesondere FGF-2 ist bekannt, daß sie einen protektiven Einfluß auf das PRE ausüben und den Verlauf der Makuladegeneration im Tierversuch aufhalten können.

Durch Transfektion von Wachstumsfaktoren in humanes RPE sollten diese zur Hyperexpression angeregt werden, um später unterhalb der erkrankten Retina transplantiert zu werden. Hierzu mußten einige Voraussetzungen geschaffen werden:

- Von derzeit drei zur Verfügung stehenden RPRE-Zelllinien, zeigte K1034 eine geringe Expression von FGF-1 und FGF-2, was mittels RT-PCR und Immunohistochemie nachgewiesen werden konnte. An APRE-19 Zellen ließ sich mit der RT-PCR nur die Expression von FGF-2 nachweisen.
- Das für die Transfektion benötigte FGF-2 konnte aus der Erbinformation der K1034-Zellen gewonnen werden. Nach dem Sequenzieren ergab sich ein Aminosäureaustauscher, der aber auf die Versuche keinen Einfluß hatte.
- Die für die Transfektion zur Verfügung stehenden Techniken waren die Kalziumphosphat- und die Liposomen-Methode. Durch die Transfektion der Zelllinien mit pcDNA3-CAT konnten wir zeigen, daß die K1034- und APRE-19-Zellen in der Lage sind, unterschiedliche Fremdgene zu exprimieren. Die Sekretion von CAT wurde mit dem CAT-ELISA quantitativ nachgewiesen
- Die gewonnenen Ergebnisse der CAT-Transfektion ließen sich auf die Fibroblasten-Wachstumsfaktoren FGF-1 und FGF-2 übertragen. Der Nachweis der Sekretion von FGF-2 wurde mit dem FGF-2-ELISA quantitativ erbracht. Für die qualitative Bestätigung der Produktion der gesuchten mRNA von FGF-1 und FGF-2 wurde die RT-PCR eingesetzt.

Die vorliegende Arbeit zeigt, daß die RPE-Zelllinien K1034 und ARPE-19 sich transient transfezieren lassen und zur Hyperexpression von Fremdgenen anregen lassen. Dabei ergab die Zelllinie K1034 bei beiden Methoden und mit den unterschiedlichen Plasmiden die besseren Ergebnisse gegenüber den ARPE-19-Zellen.