

Leila Azzam  
Dr. med. dent.

**In vivo Signifikanz der von dem  
Interzellulären Adhäsionsmolekül-1 medierten Leukozytenadhäsion in der frühen  
cornealen Angiogenese**

Geboren am: 10.09.73 in Mhlacker

Reifeprüfung am 12 Mai 1993 in Mhlacker

Studiengang der Fachrichtung Zahnmedizin vom WS 1993/94 bis zum WS 1998/99  
Zahnärztliche Vorprüfung (Physikum) am 26.3.1996 an der Universität Heidelberg  
Klinisches Studium in Heidelberg  
Staatsexamen am 21.12.1998 an der Universität Heidelberg

Promotionsfach: Augenheilkunde  
Doktorvater: Priv.-Doz. Dr. med. F.E. Kruse

Insbesondere die reich vaskularisierte Oberfläche des Auges bietet nicht zuletzt wegen seiner leichten Zugänglichkeit eine ideale Möglichkeit, die Mikrozirkulation eines nicht-traumatisierten Gewebes zu untersuchen. In unserem Labor konnte ein Kaninchenmodell etabliert werden, das mit Hilfe der Fluoreszenzmikroskopie mit dem Farbstoff Rhodamin 6G Leukozyten in den Blutgefäßen cornealer Neovaskularisationen sichtbar macht, sowie die mikrohemodynamischen Verhältnisse bei starker Vergrößerung computergestützt quantifiziert. Ein besonderer Vorteil des Modells liegt in der Untersuchung der Mikrozirkulation ohne vorheriger Präparation. Berührungartefakte durch das Mikroskop werden zusätzlich durch long-distance Objektive vermieden. Das Modell kann auf der Grundlage heutiger Erkenntnisse der Pathophysiologie von Adhäsionsmolekülen und Cytokinen benutzt werden, um die Mechanismen der Leukozytenadhäsion und -diapedese während entzündlicher Augenerkrankungen wie z.B. der cornealen Angiogenese weiter zu untersuchen.

Frühere Untersuchungen zur cornealen Angiogenese hatten gezeigt, daß Leukozyten die Cornea vor der Bildung neuer Blutgefäße infiltrieren, und daß die räumliche Ausdehnung der leukozytären Extravasation mit dem Bereich der Gefäßsprossung korrespondiert. Daher war es das Ziel, das Modell auf Fragen anzuwenden, die sich mit der intravitalmikroskopischen Darstellung des Adhärenzverhaltens von Leukozyten und deren möglichen Schlüsselposition während der frühen Angiogenese beschäftigen.

Die Interaktion zwischen Leukozyten und dem Gefäßendothel wird durch zahlreiche Adhäsionsmoleküle mediiert, zu denen auch das interzelluläre Adhäsionsmolekül, ICAM-1, gehört.

In dieser Studie soll die Rolle des ICAM-1 während der frühen Phase der Angiogenese, in vivo, untersucht werden, da bekannt ist, daß VEGF die Expression von ICAM-1 in diesem Zeitraum induziert. Zur Induktion einer reproduzierbaren neovaskulären Antwort wurden 750 ng VEGF (vascular endothelial growth factor) enthaltende Methylcellulose Pellets in eine präparierte Hornhautstromatasche implantiert. Derartig behandelte Augen entwickelten einen signifikanten Anstieg adhärenter Leukozyten (von  $36.4 \pm 5.3$  fest adhärenten Leukozyten pro  $\text{mm}^2$  auf  $158.3 \pm 7.1$  Zellen/ $\text{mm}^2$ ;  $n=7$ ;  $p < 0.01$ ). Als Kontrolle dienten Augen mit Pellets ohne Wachstumsfaktor sowie nicht-präparierte Augen, um Einflüsse der Phototoxizität oder des operativen Traumas auszuschließen. Zur selektiven Inhibition der gesteigerten Leukozytenadhäsion wurde der spezifische Antikörper gegen den endothelialen Liganden des CD11a/CD18-Komplexes, das ICAM-1 (CD54) topisch als Augentropfen appliziert. Um eine stromale Penetration des Antikörpers der Hornhaut zu ermöglichen, wurde der Antikörper in einer Mikroemulsionslösung aufgearbeitet. Das Ergebnis dieser Studie zeigte, daß die topische Behandlung einer mit Wachstumsfaktor stimulierten Hornhaut mit Anti-ICAM-1 zu einer signifikanten Reduktion der leukozytären Adhärenz führt ( $84.4 \pm 4.5$  fest adhärente Leukozyten pro  $\text{mm}^2$  in Antikörper-behandelten Augen versus  $158.3 \pm 7.1$  Zellen/ $\text{mm}^2$  in Kontrollaugen,  $n=7$ ;  $p < 0.01$ ). Außerdem führte die Antikörperbehandlung zu einem signifikant geringeren Gefäßwachstum ( $16 \pm 2.7$   $\text{mm}^2$  waren am 11. Tag in behandelten Augen mit Neovaskularisationen bedeckt im Gegensatz zu  $26 \pm 16$   $\text{mm}^2$  Hornhautfläche in Kontrollaugen). Diese Aussagen unterstützen daher die in vitro Ergebnisse anderer Arbeitsgruppen, daß die ICAM-1 mediierte Leukozytenadhäsion in der VEGF-induzierten Angiogenese eine Schlüsselposition einnimmt.