

Berichte aus der Biologie

**Susanne Wasmuth**

**Einsatz von Antisense-Oligonukleotiden  
gegen proinflammatorische Zytokine bei der  
experimentellen Herpes Simplex Virus Typ 1 Keratitis  
und deren Einfluss auf die Immunreaktion**

Shaker Verlag  
Aachen 2006

**Bibliografische Information der Deutschen Bibliothek**

Die Deutsche Bibliothek verzeichnet diese Publikation in der Deutschen Nationalbibliografie; detaillierte bibliografische Daten sind im Internet über <http://dnb.ddb.de> abrufbar.

Zugl.: Duisburg-Essen, Univ., Diss., 2005

Copyright Shaker Verlag 2006

Alle Rechte, auch das des auszugsweisen Nachdruckes, der auszugsweisen oder vollständigen Wiedergabe, der Speicherung in Datenverarbeitungsanlagen und der Übersetzung, vorbehalten.

Printed in Germany.

ISBN 3-8322-4845-5

ISSN 0945-0688

Shaker Verlag GmbH • Postfach 101818 • 52018 Aachen

Telefon: 02407 / 95 96 - 0 • Telefax: 02407 / 95 96 - 9

Internet: [www.shaker.de](http://www.shaker.de) • eMail: [info@shaker.de](mailto:info@shaker.de)

In der vorliegenden Arbeit wurde die Wirkung von Antisense-Oligonukleotiden (ASON) gegen TNF-alpha, IL-2 und IFN-gamma mRNA auf den Verlauf der experimentellen herpetischen stromalen Keratitis (HSK) untersucht.

Bei in vitro Versuchen mit FITC-markierten ASON getestet stellte sich heraus, dass sie von Milz- und Lymphknotenzellen gut aufgenommen wurden und mindestens 3 Tage lang nachweisbar waren. Die Zytokinexpression konnte durch die ASON in vitro konzentrationsabhängig gemindert werden. Die biologische Aktivität im Zellkulturüberstand nahm entsprechend ab. Dagegen blieben Kontroll-Oligonukleotide (KON) und Puffer ohne Einfluss auf die Synthese der jeweiligen Zytokine.

In der Hornhaut konnten die ASON mindestens 10 Tage nach einmaliger subepithelialer Gabe nachgewiesen werden. Ungebundenes FITC war wenige Tage nach subepithelialer Injektion nicht mehr zu detektieren. Die dreimalige topische Applikation von ASON wurde als erfolgreiches Behandlungsschema etabliert. Die Wahrscheinlichkeit für einen Ausbruch der HSK konnte dadurch von 56 - 67 % auf 0 - 12 % gesenkt werden. Die Blepharitis fiel teilweise ebenfalls leichter aus und heilte früher ab, Verlauf und Schwere der epithelialen Keratitis wurden nicht beeinflusst. Eine Behandlung mit Puffer veränderte die Werte für Schwere und Inzidenz der HSK kaum, die subepitheliale Behandlung alleine hatte also keinen Einfluss auf die Erkrankung. Mit KON behandelte Tiere entwickelten je nach Sequenz prozentual oder vom Schweregrad her eine weniger starke Erkrankung unbehandelte Mäuse. Teilweise war auch der Ausbruch retardiert. Diese Befunde deuten auf sequenzspezifische Nebenwirkungen der KON und sequenzunspezifische Wirkungen von phosphorothioierten Oligonukleotiden nach subepithelialer Injektion im HSK-Modell hin.

Die histologischen Parameter verliefen parallel zu den klinischen Bewertungen, die Anzahl an eingewanderten Entzündungszellen in der zentralen und peripheren Hornhaut war nach einer lokalen ASON-Behandlung deutlich vermindert. Die ASON-Behandlung reduzierte den kornealen Gehalt des jeweiligen Zielzytokins. Der Virustiter im infizierten Auge wurde durch die topische Gabe von ASON nicht beeinflusst. Die aktiven Formen von MMP-2, -8 und -9 und die Proformen von MMP-8 und -9 waren in Hornhautproben von TNF-alpha-ASON behandelten Mäusen im Vergleich zu den Proben der Kontrollgruppen deutlich reduziert. Dabei korrelierten die Ergebnisse der Aktivitätsmessungen mit den Proteinmengen.

Die regional begrenzte Behandlung mit ASON, KON oder Puffer veränderte die untersuchten Parameter der systemischen Immunantwort wie die Hautreaktion vom verzögerten Typ, die Proliferation von Milz- und Lymphknotenzellen und die Virus-neutralisierenden Antikörpertiter im Serum nicht. Die hier erstmalig beschriebene topische ASON-Behandlung der Hornhaut moduliert den Verlauf der HSK ohne Beeinträchtigung der systemischen Effektorfunktionen des Immunsystems.