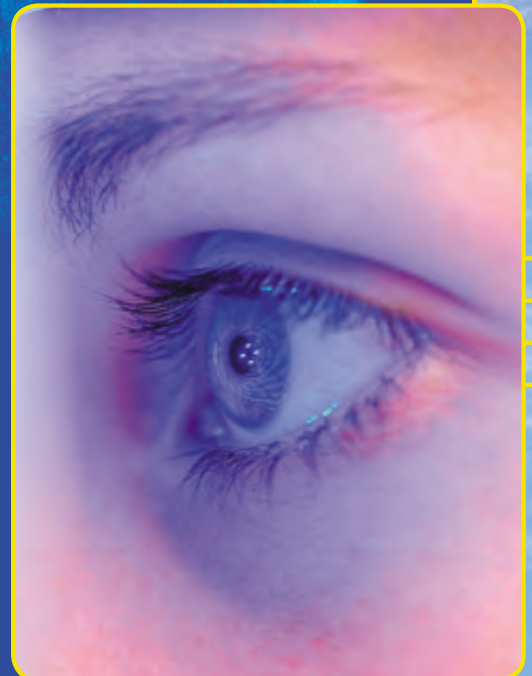


SPITZENFORSCHUNG IN DER OPHTHALMOLOGIE

117. DOG-Kongress, 26.9.–29.9.2019, Berlin

**Augenheilkunde:
Unser Fach
mit Zukunft**

WISSEN
Lebendige
SCHAFT



DOG
Deutsche Ophthalmologische
Gesellschaft

Gesellschaft für Augenheilkunde

Wir denken Medizin neu.



zusammen-gesund.de



Die Informationsplattform von
Novartis Pharma für Ärzte:
Eine für alles!



Aktuelle Kongressberichte,
Fortbildungen und Neuigkeiten
aus Ihrem Fachbereich.

zusammen
gesund

Besuchen Sie uns unter:
zusammen-gesund.de



Spitzenforschung in der Ophthalmologie

INNOVATIONEN
UND
AUSZEICHNUNGEN
2019

Lebendige Wissenschaft

Spitzenforschung in der Ophthalmologie – Innovationen und Auszeichnungen 2019

Grußwort:

Prof. Dr. Claus Cursiefen, Präsident der Deutschen Ophthalmologischen Gesellschaft (DOG)

In Zusammenarbeit mit dem

Institut für Wissenschaftliche Veröffentlichungen (IWV)

**Tagungspräsident und Koordinierung der Beiträge:**

Prof. Dr. Claus Cursiefen, Präsident der Deutschen Ophthalmologischen Gesellschaft (DOG)

Umschlagsgestaltung:

Hintergrundaufnahme: stammt aus der Ausgabe Lebendige Wissenschaft Ophthalmologie 2013;
Abbildung mittig rechts: © MedizinFotoKöln

Anzeigenverwaltung und Herstellung:

ALPHA Informationsgesellschaft mbH
Finkenstraße 10
68623 Lampertheim
Tel. 06206 / 939-0
Fax 06206 / 939-232
E-Mail: info@alphapublic.de
www.alphapublic.de

Ideengeber und Initiator für das Fachmagazin**Lebendige Wissenschaft Spitzenforschung in der Ophthalmologie:**

Prof. Dr. med. Berthold Seitz ML, FEBO
Direktor der Klinik für Augenheilkunde
Universitätsklinikum des Saarlandes UKS
Kirrbergerstraße 100
66424 Homburg/Saar
E-Mail: berthold.seitz@uks.eu

Für die Inhalte der Beiträge und die Abbildungen in den Beiträgen sind die Autoren verantwortlich.

Die Informationen in diesem Magazin sind sorgfältig geprüft worden, dennoch kann keine Garantie übernommen werden. Eine Haftung für Personen-, Sach- und Vermögensschäden ist ausgeschlossen. Dieses Werk ist urheberrechtlich geschützt. Die dadurch begründeten Rechte, insbesondere die des Nachdrucks, des Vortrags, der Mikroverfilmung oder der Vervielfältigung auf anderen Wegen und der Speicherung in Datenverarbeitungsanlagen, bleiben, auch bei nur auszugsweiser Verwendung vorbehalten. Eine Vervielfältigung des Werkes oder von Teilen des Werkes ist auch im Einzelfall nur in den Grenzen der gesetzlichen Bestimmungen des Urheberrechts der Bundesrepublik Deutschland vom 9. September 1965 in der jeweils gültigen Fassung zulässig. Sie ist grundsätzlich vergütungspflichtig. Zuwiderhandlungen unterliegen den Strafbestimmungen des Urheberrechts.

Bildrechte beim Verlag erfragen.

Lampertheim, September 2019

© ALPHA Informationsgesellschaft mbH und die Autoren für ihre Beiträge

ISSN: 1861-4620

Projekt-Nr.: 096-602

Grußwort

PROF. DR. CLAUD CURSIEFEN

Der DOG Kongress 2019 steht unter dem Motto »Augenheilkunde: Unser Fach mit Zukunft.«

Das Motto steht für eine Botschaft, die sich sowohl nach innen wie außen richtet. Trotz aller Widrigkeiten im Alltag ist unser Fach faszinierend – bietet es doch die privilegierte Möglichkeit, das Sehvermögen unserer Patienten zu erhalten oder Patienten sogar wieder »sehend zu machen«! Als praktisch tätige Augenärzte wissen wir das, wir müssen diese Wertigkeit aber auch aktiv gegenüber unseren Mitarbeitern, Studierenden, aber auch gegenüber Politik und Forschungsförderern kommunizieren: Die Augenheilkunde ist ein wichtiges Fach, das Volkskrankheiten behandelt, und aufgrund einer älter werdenden Bevölkerung einem wachsenden Versorgungsauftrag entgegensieht.

Prinzipiell sind wir auch ein sehr erfolgreiches Fach! Aber es gibt auch »schwarze Löcher« unseres Wissens, wo wir unsere Patienten noch nicht gut behandeln können. Und da hilft nur Forschung.

ZUKUNFT DURCH FORSCHUNG IST ALSO DAS MOTTO DIESES HEFTES SPITZENFORSCHUNG IN DEUTSCHLAND.

Die augenheilkundliche Forschung steht aktuell nicht schlecht da. Wir haben zwei Gruppenförderinstrumente der DFG in Deutschland, das SPP zur retinalen Gentherapie in Giessen und unsere DFG Forschergruppe zu entzündlichen Augenerkrankungen in Köln (www.for2240.de). Aber es gibt dennoch Luft nach oben.

Der Transfer »from bench to bedside« ist in der Augenheilkunde in den vergangenen Jahren auf verschiedenen Gebieten gut gelungen. Der größte Fortschritt der vergangenen zehn Jahre ist zweifellos die Anti-VEGF-Therapie bei AMD. Ebenfalls eine große Erfolgsgeschichte, die auf über dreißig Jahren Forschung beruht: Wir können jetzt erstmals die neurotrophe Keratopathie kausal behandeln. Wir haben zwei große Studien zur Stammzelltherapie bei Verätzung in Deutschland und Europa laufen. Und es kommen die ersten genterapeutischen

Ansätze bei der Netzhautdystrophie in der Klinik an. Die Grundlagenforschungen im Bereich des trockenen Auges haben neue Medikamentengruppen hervorgebracht, wir verfügen auch über deutlich mehr antientzündliche Therapieoptionen. Die Augenheilkunde ist im Moment – auch Dank des Interesses der Pharmaindustrie – ein dynamisches Fach ist.

Auf dem Kongress DOG 2019 haben wir deshalb mit den Symposien »Highlights in Translational Science« ein neues Format, das Kliniker und Wissenschaftler zusammenbringen will. Klinisch tätige Augenärzte erfahren, in welchen Bereichen sich Laborforschung auf dem Weg ans Krankenbett befindet; umgekehrt sehen Naturwissenschaftler, welche Krankheiten man wie behandeln kann. Thematisch haben wir mit Hornhaut, Glaukom, Trockenem Auge und AMD vier Schwerpunkte gesetzt, in denen sich viel tut und Deutschland eine kritische Masse an Forschern vorweisen kann.

Es gibt dazu auch ein Konsenspapier, das im Kongressband des OPHTHALMOLOGEN veröffentlicht ist. Es zeigt »unmet needs« auf und legt dar, wo man in den nächsten fünf Jahren realistischerweise Fortschritte machen könnte. Beim Trockenen Auge etwa ist der Schmerz ein großes, ungelöstes Problem für die Patienten. Ein anderes Feld ist die Neuroprotektion beim Glaukom. Hier können wir von anderen medizinischen Disziplinen lernen, nicht nur den Druck zu behandeln, sondern auch die Nervenfasern zu stabilisieren. Und bei der AMD gibt es Ansätze, mit Kombinationstherapien die Spritzenintervalle deutlich zu verlängern oder etwa Depots ins Auge einzubringen.

Es freut mich sehr, dass mit diesem Band Spitzenforschung Augenheilkunde die Exzellenz augenheilkundlicher Forschung in Deutschland präsentiert wird.

Eine anregende Lektüre wünscht Ihnen

Prof. Dr. Claus Cursiefen
Präsident der DOG



Prof. Dr. Claus Cursiefen
Präsident der Deutschen
Ophthalmologischen
Gesellschaft (DOG)
[Bildquelle:
Medizinfoto Köln]



DOG
Deutsche Ophthalmologische
Gesellschaft
Gesellschaft für Augenheilkunde

Spitzenforschung in der Ophthalmologie

INHALTSÜBERSICHT

INNOVATIONEN
UND
AUSZEICHNUNGEN

- Prof. Dr. Claus Cursiefen
Grußwort 3

- Dr. med. Lamis Baydoun
Prof. Dr. med. Nicole Eter
Neue Verfahren in der Hornhauttransplantation 12

- Prof. Dr. Dr. h.c. Nikolaos E. Bechrakis
Dr. Eva Biewald
Dr. Michael Zeschnigk
Prof. Dr. Norbert Bornfeld
Prof. Dr. Klaus A. Metz
Dr. Claudia H. Le Guin
Stefan Kreis
Dr. Philipp Rating
Dr. Mete Gök
Prof. Dr. Dietmar Lohmann
Genetisches Councelling beim malignen Aderhautmelanom 18

- Dr. Eva Biewald
Dr. Tobias Kiefer
Prof. Dr. Dr. h.c. Nikolaos E. Bechrakis
Dr. Sabrina Schlüter
Dr. Dirk Geismar
Prof. Dr. Beate Timmermann
Prof. Dr. Dietmar Lohmann
Priv.-Doz. Dr. Petra Ketteler
Prof. Dr. Norbert Bornfeld
Protonenstrahltherapie beim Retinoblastom – proof of principle 22

- Prof. Dr. Andreas Bringmann
Prof. Dr. Peter Wiedemann
Entwicklung und Pathologie der Fovea: Bedeutung der Müllerzellen 26

- Dr. Claus von der Burchard
Helge Sudkamp
Dr. Jan Tode
Dr. Christoph Ehlken
Moritz Moltmann
Michael Münt
Dirk Theisen-Kunde

Peter Koch
 Prof. Dr. Gereon Hüttmann
 Prof. Dr. Johann Röider

High-Tech-Ophthalmologie zu Hause: Das Home-Care-OCT für AMD-Patienten 30

- Dr. med. Lars Choritz
 Jacqueline van den Bosch
 Vincenzo Pennisi
 Khaldoon Al-Nosairy
 Prof. Dr. rer. nat. Michael Hoffmann
 Prof. Dr. med. Hagen Thieme

**Aktuelle Entwicklungen in der Glaukomforschung – Kontinuierliche, berührungslose
 Messung des Augeninnendrucks mit einem implantierbaren Drucksensor 34**

- Dr. rer. nat. Thomas Clahsen
 Dr. rer. nat. Maria Notara
 Priv.-Doz. Dr. med. Dr. nat. med. Deniz Hos, FEBO
 Priv.-Doz. Dr. rer. nat. Felix Bock
 Prof. Dr. med. Claus Cursiefen, FEBO

**Neue Strategien zur Therapie von Erkrankungen der Hornhaut und Augenoberfläche:
 Anti- und Prolymphangiogenese 40**

- Dr. Heidrun L. Deissler
 Prof. Dr. Gerhard K. Lang
 Prof. Dr. Gabriele E. Lang

VEGF-A-induzierte Signaltransduktion in retinalen Endothelzellen 48

- Dr. Elias Flocerzi
 Dr. Susanne Goebels
 Sonia Razafimino
 Dr. Elena Zemova
 Loic Hamon
 Theresia Nzau
 Ulrike Klühspies
 Priv.-Doz. Dr. Timo Eppig
 Prof. Dr. Achim Langenbacher
 Prof. Dr. Berthold Seitz

**Die Stadienverteilung des Keratokonus im unterschiedlichen Lebensalter –
 Eine Querschnittsanalyse aus dem Homburger Keratokonus Center HKC 54**

- Priv.-Doz. Dr. Adrian Gericke
 Priv.-Doz. Dr. Verena Prokosch
 Dr. Nadine von Thun und Hohenstein-Blaul
 Prof. Dr. Norbert Pfeiffer
 Prof. Dr. Dr. Franz H. Grus

**Autoimmune, druckabhängige und vaskuläre Komponenten beim Glaukom
 und deren Zusammenspiel 59**

- Prof. Dr. Tim Gollisch
**Einfluss von Augenbewegungen auf die Signalverarbeitung
in den Nervenzellen der Retina**62

- Dr. rer. nat. Martin Hammer
Dr. rer. nat. Rowena Schultz
Prof. Dr. med. Daniel Meller
Fluoreszenzlebensdauerophthalmoskopie (FLIO) bei altersbedingter Makuladegeneration ..64

- Dr. Wolf M. Harmening
Zellaufgelöste Netzhautfunktion68

- Prof. Dr. rer. nat. Peter Heiduschka
**Forschung in kleinen Dimensionen –
zum Einsatz von Nanopartikeln und Nanofasernetzen** 72

- Dr. Joana Heinzelmann
Priv.-Doz. Dr. Dr. Udo Siebolts
Prof. Dr. Arne Viestenz
Dr. Miltiadis Fiorentzis
**Elektrochemotherapie bei ophthalmologischen Tumoren als vielversprechende
neue Behandlungsoption**74

- Priv.-Doz. Dr. med. Stephanie C. Joachim
Dr. rer. nat. Teresa Tsai
Ana M. Maliha, M. Sc.
Natalie Wagner, M. Sc.
Prof. Dr. med. H. Burkhard Dick
Organkulturmodelle der Retina 76

- Dr. rer. nat. Sandra Johnen
Priv.-Doz. Dr. med. Matthias Fuest
Dr. med. Antonis Koutsonas
Prof. Dr. med. Niklas Plange
Dr. med. Kim Schaffrath
Dr. med. Tibor Lohmann
Prof. Dr. med. Peter Walter
Zelltherapie und Mikrotechnologie für ophthalmologische Anwendungen80

- Priv.-Doz. Dr. Vinodh Kakkassery
Prof. Dr. Ayse Tura
Dr. Felix Rommel
Vera Pawlik
Priv.-Doz. Dr. Mahdy Ranjbar
Prof. Dr. Salvatore Grisanti
**MiRNAs in der Tumordiagnostik – das Ziel, die analytische Sicherheit
beim primären vitreoretinalem Lymphom zu verbessern**86

- Univ.-Prof. Dr. med. Thomas Kohnen
Kerstin Petermann, M. Sc.
Presbyopie-Korrektur88



Der EYLEA®-Weg bei nAMD

STARK. FLEXIBEL. INDIVIDUELL.



Aflibercept (40mg/ml)

Bezeichnung des Arzneimittels: Eylea 40 mg/ml Injektionslösung. Wirkstoff: Aflibercept. (Vor Verschreibung Fachinformation beachten.) **Zusammensetzung:** **Wirkstoff:** Jede Durchstechflasche enthält 100 µl, entsprechend 4 mg Aflibercept. **Sonstige Bestandteile:** Polysorbat 20, Natriumdihydrogenphosphat 1 H₂O, Dinatriumhydrogenphosphat 7 H₂O, Natriumchlorid, Sacrose, Wasser für Injektionszwecke. **Anwendungsgebiete:** Bei Erwachsenen zur Behandlung der neovaskulären (feuchten) altersabhängigen Makuladegeneration (AMD), einer Visusbeeinträchtigung aufgrund eines Makulödems infolge eines retinalen Venenverschlusses (RVV) (Venenastverschluss [VAV] od. Zentralvenenverschluss [ZVV]), einer Visusbeeinträchtigung aufgrund eines diabetischen Makulödems (DMÖ) u. einer Visusbeeinträchtigung aufgrund einer myopen choroidalen Neovaskularisation (mCNV). **Gegenanzeigen:** Überempfindlichkeit gegen Aflibercept od. einen der sonst. Bestandteile. Bestehende od. vermutete okuläre od. periokuläre Infektion. Bestehende schwere intraokuläre Entzündung. **Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen:** Intravitreale Injektionen können zu einer Endophthalmitis, intraokularer Entzündung, rhegmatogener Netzhautablösung, Netzhaut einriss od. iatrogenem traumatischer Katarakt führen. Immer angemessene aseptische Injektionsmethoden anwenden. Außerdem Patienten innerhalb der 1. Woche nach d. Injektion überwachen. Patienten instruieren, unverzüglich alle Symptome zu melden, die auf eine Endophthalmitis od. andere oben genannte Ereignisse hinweisen. Anstiege des Augeninnendrucks (IOD) innerhalb v. 60 Min. nach intravitrealer Injektion beobachtet. Besondere Vorsicht bei schlecht eingestelltem Glaukom geboten (keine Injektion solange IOD \geq 30 mmHg). Immer IOD u. Perfusion des Sehnervenkopfes überwachen u. b. Bedarf angemessen behandeln. Potenzielle Immunogenität. Patienten instruieren, alle Anzeichen od. Symptome einer intraokulären Entzündung, z. B. Schmerzen, Photophobie od. Rötung, zu berichten, da diese klinische Anzeichen einer Überempfindlichkeit sein könnten. Systemische Nebenwirkungen inkl. nicht-okularer Hämorrhagien u. arterieller thromboembolischer Ereignisse nach intravitrealer Injektion v. VEGF-Hemmern wurden berichtet. Sicherheit u. Wirksamkeit gleichzeitiger Behandlung v. beiden Augen wurden nicht systematisch untersucht. Bisher keine Erfahrungen zur gleichzeit. Behandlung m. anderen VEGF-Hemmern (systemische od. okuläre). Zu den Risikofaktoren, die nach einer anti-VEGF Therapie bei feuchter AMD zur Entwicklung eines retinalen Pigmentepitheleintrisses führen können, gehören großflächige u./od. hohe Abhebungen des retinalen Pigmentepithels. Zu Therapiebeginn Vorsicht bei Patienten m. diesen Risikofaktoren. Aussetzen d. Behandlung bei Patienten m. rhegmatogener Netzhautablösung od. Makulalöchern Grad 3 od. 4 u. bei Einriss der Retina bis der Riss adäquat verheilt ist. Aussetzen d. Behandlung u. nicht vor dem nächsten geplanten Termin fortsetzen bei: Verminderung BCVA \geq 30 Buchstaben im Vergleich zur letzten Messung; subretinaler Blutung, das Zentrum der Fovea betreffend od. wenn Ausmaß der Blutung \geq 50 % der gesamten Läsion ausmacht. Aussetzen der Behandlung 28 Tage vor od. nach einem durchgeführten od. geplanten intraokulären Eingriff. Keine Verabreichung während der Schwangerschaft, es sei denn der mögl. Nutzen überwiegt das potenzielle Risiko für den Fetus. Frauen im gebärfähigen Alter müssen während der Behandlung u. für mind. 3 Monate nach der letzten intravitrealen Injektion mit Aflibercept eine zuverlässige Verhütungsmethode anwenden. Personengruppen m. begrenzten Daten: Begrenzte Erfahrung bei der Behandlung v. Patienten m. ischämischem ZVW u. VAV. Nicht empfohlen bei Patienten m. klinischen Anzeichen für irreversible, ischämischen Visusverlust. Begrenzte Erfahrungen bei der Behandlung v. Personen m. einem aufgrund eines Typ I Diabetes verursachten DMÖ od. bei Diabetikern m. einem HbA1c über 12 % od. m. proliferativer diabetischer Retinopathie. Nicht untersucht bei Patienten m. aktiven systemischen Infektionen, bei Patienten, die gleichzeitig andere Augenerkrankungen wie eine Netzhautablösung od. ein Makulaloch hatten od. bei Diabetikern m. nicht eingestelltem Bluthochdruck. Der Arzt sollte das Fehlen dieser Informationen bei der Behandlung entspr. Patienten berücksichtigen. Ebenfalls keine Erfahrungen zur Behandlung einer mCNV bei nicht-asiatischen Patienten, bei Patienten m. vorbehandelter mCNV u. bei Patienten m. extrafovealen Läsionen. **Nebenwirkungen:** Sehr häufig: verminderte Sehschärfe, Bindehautblutung, Augenschmerzen; Häufig: Einriss des retinalen Pigmentepithels (Zustände, v. denen bekannt ist, dass sie m. feuchter AMD einhergehen. Nur in Studien zu feuchter AMD beobachtet.), Abhebung des retinalen Pigmentepithels, Netzhautdegeneration, Glaskörperblutung, Katarakt, Kortikale Katarakt, Kernkatarakt, Subkapsuläre Katarakt, Hornhauterosion, Hornhautabrasion, IOD Anstieg, verschwommenes Sehen, Glaskörpertrübungen, Glaskörperabhebung, Schmerzen an der Injektionsstelle, Fremdkörpergefühl im Auge, erhöhter Tränenfluss, Augenlidödem, Blutung an der Injektionsstelle, Keratitis punctata, Bindehauthyperämie, Okulare Hyperämie; Gelegentlich: Überempfindlichkeit (aus Anwendungsbeobachtungen Berichte v. Überempfindlichkeit einschl. Hautausschlag, Pruritus, Urtikaria u. Einzelfälle v. schweren anaphyl./anaphylaktoiden Reaktionen), kulturpos. u. kulturneg. Endophthalmitis, Netzhautablösung, Netzhaut einriss, Iritis, Uveitis, Iridocyclitis, Linsentrübungen, Hornhautepitheldefekt, Reizung an der Injektionsstelle, abnorme Empfindung im Auge, Reizung des Augenlids, Schwerebeten in der Vorderkammer, Hornhautödem; Selten: Erblindung, traumatische Katarakt, Vitritis, Hypopyon. Produktklasse bezogene Nebenwirkungen: Phase-III-Studien zur feuchten AMD zeigten erhöhte Inzidenz v. Bindehautblutungen bei Patienten, die antithrombotische Arzneimittel erhielten. Arterielle thromboembolische Ereignisse (ATE) sind Nebenwirkungen, die möglicherw. m. systemischer VEGF-Hemmung in Verbindung stehen. Theoretisches Risiko arterieller thromboembolischer Ereignisse inkl. Schlaganfall u. Myokardinfarkt nach intravitrealer Anwendung v. VEGF-Hemmern. Wie bei allen therapeutischen Proteinen Immunogenitätspotenzial. **Verschreibungspflichtig. Pharmazeutischer Unternehmer:** Bayer AG, 51368 Leverkusen, Deutschland. Stand: FI/12; 05/2019

ophthalmologie.bayer.de

PP-EYL-DE-0113-1

- Prof. Dr. med. Timm U. Krohne, FEBO
Dr. med. Luping Wang
Sarah Schmidt
Janine Rossa, M. Sc.
Dr. med. Petra P. Larsen, FEBO
Prof. Dr. med. Frank G. Holz, FEBO
**Das NLRP₃-Inflammasom als Therapietarget
bei atrophischer altersabhängiger Makuladegeneration94**

- Dr. Lorenz Latta
Lena Krammes, M. Sc.
Tanja Stachon, M. Sc.
Fabian N. Fries
Prof. Dr. Nora Szentmáry
Prof. Dr. Berthold Seitz
Mustafa Kahraman
Dr. Andreas Keller
Dr. Nicole Ludwig
Prof. Dr. Eckart Meese
Prof. Dr. Barbara Käsmann-Kellner
**Methodische Ansätze zur molekularen Analyse der Pathogenese der PAX6
assoziierten Aniridie98**

- Marina Löscher
Dr. rer. nat. José Hurst
Dr. rer. nat. Sven Schnichels
Innovative Drug-Delivery-Systeme in der Augenheilkunde 102

- Univ.-Prof. Dr. Birgit Lorenz
Univ.-Prof. Dr. Dr. Knut Stieger
**Neue funktionelle und morphologische Biomarker zur Beschreibung des Therapieerfolges
von experimentellen Behandlungsansätzen bei erblichen Netzhauterkrankungen 106**

- Dr. Anna Lüning
Dr. Jan H. Terheyden
Prof. Dr. Robert P. Finger
Prof. Dr. Steffen Schmitz-Valckenberg
Priv.-Doz. Dr. Friedrich Asmus
Prof. Dr. Frank G. Holz
**MACUSTAR: Entwicklung neuer klinischer Endpunkte für Therapie-Studien bei Patienten
mit intermediärer altersabhängiger Makuladegeneration (iAMD)112**

- Stephanie Mäurer
Loic Hamon
Adrien Quintin
Priv.-Doz. Dr. rer. biol. hum. Dipl.-Ing. Timo Eppig
Prof. Dr. med. Berthold Seitz
Univ.-Prof. Dr. Dipl.-Ing. Achim Langenbucher
**OCT-basierte tomografische Vermessung von Hornhautspendergewebe zur verbesserten
Transplantatauswahl und Erkennung von Vorerkrankungen116**

- Dr. rer. nat. Sonja Mertsch
Prof. Dr. Dr. Stefan Schrader
**Neurotrophe Keratopathie: Analyse der Kornealen Nervenregeneration
in vitro versus in vivo** 120

- Prof. Dr. Stylianos Michalakis
Maximilian-Joachim Gerhardt
Retinale Genterapie – Herausforderungen und Perspektiven 124

- Priv.-Doz. Dr. Christian van Oterendorp
Prof. Dr. Hans Hoerauf
**Dreidimensionale Darstellung der intraskleralen Kammerwasserabflusswege
mittels Lipidemulsion-basierter OCT-Angiographie** 128

- Dr. Daniel Pilger
Prof. Uwe Pleyer
Dr. Tobias Brockmann
Prof. Eckart Bertelmann
Dr. Dominika Pohlmann
Dr. Anne Rübsam
Dr. Anja Davids
Dr. Susanne Wolf
Dr. Norbert Kociok
Prof. Antonia M. Joussem
Dr. Nadine Reichhart
Prof. Olaf Strauß
Laura Wernecke
Dominik Rentzel
Prof. Oliver Zeitz
**Die Rolle des Immunsystems in der Genese von Erkrankungen des Auges:
von der Hornhaut bis zum Pigmentepithel**132

- Nasrin Refaian
Dr. Joel M. Mor
Lara Goesmann
Dr. Alexander C. Rokohl
Dr. Konrad R. Koch
Prof. Dr. Ludwig Heindl
**Das Tumormicroenvironment im Fokus: Identifizierung neuer therapeutischer Targets
bei metastasierenden okulären Melanomen** 136

- Prof. Mudr. Matus Rehak
Dr. med. Catharina Busch
Prof. Dr. med. Peter Wiedemann
**Einfluss der Blutdruckregulation durch die Renin-Angiotensin-Aldosteron-Kaskade
auf das diabetische Makulaödem** 140

- Dr. Felix Rommel
Priv.-Doz. Dr. Vinodh Kakkassery
Prof. Dr. Salvatore Grisanti
Priv.-Doz. Dr. Mahdy Ranjbar
Einfluss der Chronobiologie auf OCTA-Perfusionsanalysen der Aderhaut143

- Priv.-Doz. Dr. Maximilian Schultheiss
Dr. Robert Kromer
Alexander Steinhorst
Prof. Dr. Martin Spitzer
Diagnostik und Therapie des akuten Zentralarterienverschlusses 146

- Prof. Dr. Alexander K. Schuster
Dr. Stefan Nickels
Prof. Dr. Norbert Pfeiffer
**Ophthalmologische Epidemiologie und Versorgungsforschung –
Herausforderungen in einer älter werdenden Gesellschaft 148**

- Prof. Dr. med. Walter Sekundo
Prof. Dr. med. Marcus Blum
Prof. Dr. Dr. Farhad Hafezi
Dr. Sabine Kling
Prof. Dr. med. Kathleen S. Kunert
Anna S. Lauer
Dr. med. Apostolos Lazaridis
Dipl.-Ing. Anke Messerschmidt-Roth, M. Sc.
Prof. Dr. med. Rolf Preussner
Florian Schraml
Dr. medic. Bogdan Spiru
Emilio A. Torres-Netto, MD
Small Incision Lenticule Extraction (SMILE) – Experimentelle und klinische Forschung –152

- Dr. med. Jakob Siedlecki
Prof. Dr. med. Siegfried Priglinger
Das Pachychoridale Erkrankungsspektrum der Makula 158

- Tanja Stachon, M. Sc.
Dr. Lorenz Latta
Prof. Dr. Berthold Seitz
Prof. Dr. Nora Szentmáry
Keratokonus und oxidativer Stress 162

- Prof. Dr. Andreas Stahl
Prof. Dr. Frank Tost
Dr. Bastian Grundel
Dipl.- Phys. Rico Grossjohann
Marc-Antoine Bernardeau
**Künstliche Intelligenz, Versorgungsforschung, Frühgeborenenretinopathie
und translationale Grundlagenforschung165**

- Prof. Dr. Philipp Steven
Prof. Dr. Michael E. Stern
Dr. Uta Gehlsen
Zukunftsweisende Diagnostik und Therapie des Trockenen Auges 168
- Dr. Jan Tode
Dr. Claus von der Burchard
Dr. Elisabeth Richert
Prof. Dr. Alexa Klettner
Dr. Ralf Brinkmann
Prof. Dr. Johann Roider
Thermische Stimulation der Retina: von der translationalen Forschung zur experimentellen technischen Umsetzung 172
- Dr. med. Maximilian Treder
Univ.-Prof. Dr. med. Nicole Eter
Künstliche Intelligenz in der ophthalmologischen Diagnostik 176
- Prof. Dr. rer. nat. Aysegül Tura
Prof. Dr. med. Hartmut Merz
Friederike Schindler
Priv.-Doz. Dr. med. Mahdy Ranjbar
Priv.-Doz. Dr. med. Vinodh Kakkassery
Prof. Dr. med. Salvatore Grisanti
Frühdiagnose von uvealen Melanomen mittels »Liquid-Biopsy« 180
- Priv.-Doz. Dr. med. Jan Darius Unterlauff
Prof. Dr. rer. nat. Wolfram Eichler
Funktion und Wirkungsweise von Müller'schen Gliazellen sezernierter Faktoren bei der retinalen Neuroprotektion 184
- Dr. med. Ingo Volkmann
Dr. rer. nat. Heiko Fuchs
Dr. med. Anna Bajor
Priv.-Doz. Dr. med. Amelie Pielen
Prof. Dr. med. Carsten Framme
MicroRNAs als molekulare Biomarker und neue Therapiestrategien im Bereich der Augenheilkunde 188
- Prof. Dr. Peter Walter
Prof. Dr. med. Andreas Stahl
M. A. Claudia Michalik
Ein Netzwerk für klinische Studien in der Retinologie: retina.net e.V. 192



Für empfindliche Haut

Vorbeugende Pflege gegen Lidexzeme und Hautreizungen



- Mit Panthenol und Hyaluronsäure für eine verbesserte Hautfeuchtigkeit
- Mit augenneutralem pH-Wert 7
- Mit gering spreitenden Ölen zur Vermeidung von Augenkontakt
- Für Kontaktlinsenträger geeignet



MEDIZINISCHE HAUTPFLEGE

Benevi Med GmbH & Co. KG
Habsburgerstraße 5, 79104 Freiburg,
Tel.: 0761 600691-0, www.benevi.com

Neue Verfahren in der Hornhauttransplantation

DR. MED. LAMIS BAYDOUN¹, PROF. DR. MED. NICOLE ETER¹

**1 Klinik für
Augenheilkunde,
Universitätsklinikum
Münster**

Die Hornhauttransplantation ist eines der frühesten Gewebeverpflanzung in der Geschichte der Medizin. 1905 gelang erstmals die durchgreifende Hornhauttransplantation (perforierende Keratoplastik; PKP). [1] Über 100 Jahre wurde die PKP unselektiv als einzige Behandlung von Hornhauterkrankungen eingesetzt, d.h. neben erkrankten Hornhautschichten wurde auch gesundes Gewebe der vorderen oder hinteren Hornhaut (Stroma bzw. Endothel) ausgetauscht. [2] Seit nun mehr als 20 Jahren, revolutionieren fortwährende Innovationen in der lamellären Hornhautchirurgie die Behandlung hinterer endothelialer sowie vorderer stromaler Hornhauterkrankungen.

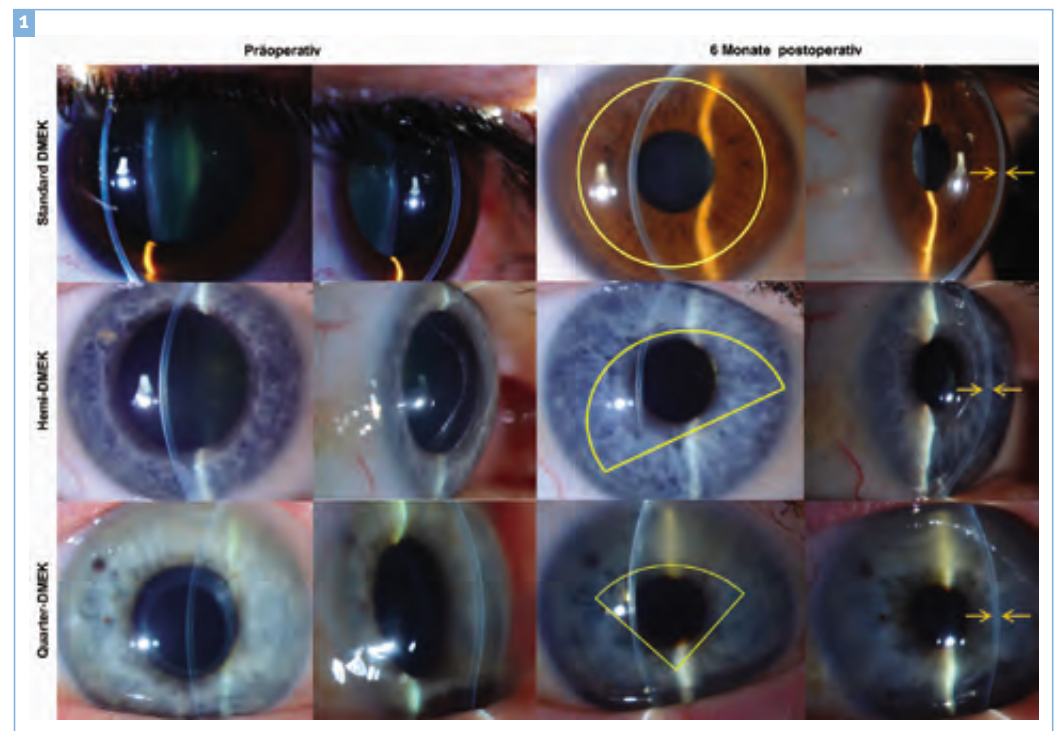
HINTERE LAMELLÄRE VERFAHREN: DLEK, DSAEK/DSEK UND DMEK

Seit 1998 wurden durch das Netherlands Institute for innovative Ocular Surgery (NIIOS) verschiede-

ne hintere lamelläre Keratoplastiktechniken entwickelt, die in weniger als 10 Jahren eine rasante Entwicklung erlebt haben. Sie sind unter den Namen »Deep lamellar endothelial keratoplasty« (DLEK), »Descemet stripping (automated) endothelial keratoplasty« (DSEK/DSAEK) und Descemet membrane endothelial keratoplasty (DMEK) bekannt geworden. [3–9] Heutzutage werden praktisch nur noch die DSEK/DSAEK und DMEK durchgeführt. Beide Techniken sind im Vergleich zur PKP weniger invasiv und ermöglichen aufgrund des Erhalts der Hornhautoberfläche eine bessere Vorhersagbarkeit der postoperativen Refraktion, dies gilt insbesondere für die DMEK. [10–15] Die DMEK ist das jüngste Verfahren und wurde 2006 erstmals durch Dr. Gerrit Melles (NIIOS, Rotterdam) durchgeführt. [13] Die Hornhautanatomie wird insofern wiederhergestellt, dass die erkrankte Descemet-Membran samt Endothel selektiv durch eine gesunde Spender Descemet-Membran / Endothel Lamelle (ohne anheftendes Stroma) ersetzt

Abbildung 1

■ Spaltlampenbilder vor (linke Spalten) und 6 Monate nach einer Descemet-Membran-Endothelkeratoplastik (rechte Spalten). Die Fotos zeigen Hornhäute nach einer Standard-DMEK (obere Reihe), und nach Hemi-DMEK (mittlere Reihe) sowie nach Quarter-DMEK (untere Reihe). Gelbe Linien visualisieren die Position und Form der jeweiligen Transplantate. [Quelle: Netherlands Institute for innovative Ocular Surgery.]



wird. Vorteile der DMEK gegenüber seinen Vorgängern sind, die schnelle Erholung der Sehkraft mit herausragenden und langjährig stabilen Visusergebnissen, sowie seltene Abstoßungsreaktionen. Komplikationen, wie die Transplantatdehizensind mit zunehmender Erfahrung zurückgegangen. [15–19]

Im besonderen Fokus der Forschung steht die Ermittlung des optimalen Operationszeitpunkts von Patienten mit Fuchs'scher Endotheldystrophie, um noch bessere klinische Ergebnisse nach DMEK erzielen zu können. Ferner wird für diese Patientengruppe untersucht wie die zu implantierende Kunstlinse vor isolierter Katarakt-Operation oder kombinierter DMEK und Katarakt-Operation möglichst präzise berechnet werden kann. [20–21]

DMEK-MODIFIKATIONEN: HEMI- UND QUARTER DMEK

Ein weiterer Vorteil der DMEK ist, dass aufgrund der Präparationstechnik neben einem runden DMEK-Transplantat, auch zwei halbmondförmigen Hemi-DMEK oder vier kuchenstückförmigen Quarter-DMEK Transplantate von einer einzigen Spenderhornhaut gewonnen werden können. [22, 23] Dies würde eine Verdoppelung beziehungsweise Vervierfachung des Spenderpools bedeuten, was in Ländern mit Gewebemangel nicht unwesentlich wäre. Trotz veränderter Transplantatform und -größe klart die Hornhaut mit ähnlichen Visuswerten wie nach Standard-DMEK auf. Nur der Endothelzellabfall ist innerhalb der ersten 6 Monate deutlich höher, stabilisierte sich jedoch im weiteren Verlauf. [24–28] Letzteres wird auf ein verändertes Migrationsverhalten der Endothelzellen bei den verschiedenen Techniken zurückgeführt.

Neben der effizienteren Nutzung von Spendergewebe, wurde die Quarter-DMEK außerdem als selektive Behandlung von Patienten mit nur zentral betonter Fuchs'scher Endotheldystrophie entwickelt. Bei diesen Patienten wird eine kleinere Descemetorhexis (Entfernung der erkrankten Descemet-Membran) durchgeführt, um die noch funktionellen Endothelzellen in situ zu belassen. Ferner wird ein kleineres Quarter-DMEK Transplantat in das optische Zentrum platziert, um ein schnelles Aufklaren der zentralen Hornhaut zu ermöglichen. Es bleibt abzuwarten, ob die verbleibenden peripheren empfängereigenen Endothelzellen und das reduzierte transplantierte antigene

Gewebe das Transplantatüberleben verbessern bzw. die Rate der Immunreaktionen weiter reduzieren können (**Abb. 1**).

VORDERE LAMELLÄRE VERFAHREN: BOWMAN SCHICHT TRANSPLANTATION

Neben den posterioren lamellären Transplantationstechniken wurde auch für die Behandlung des fortgeschrittenen Keratokonus ein lamelläres Verfahren, nämlich die tiefe anteriore lamelläre Keratoplastik (DALK), eingefügt. Diese kommt bei visusrelevanten Hornhautnarben und Kontaktlinsentoleranz zum Einsatz. [29]

Um das Fortschreiten eines progredienten Keratokonus aufzuhalten, hat sich in frühen und mittleren Keratokonusstadien das korneale kollagene Crosslinking als Therapiemethode etabliert, allerdings wird eine Mindesthornhautdicke empfohlen, um Komplikationen vorzubeugen. [29]

In späteren Keratokonusstadien mit zu dünner (<400 µm) und zu steiler Hornhaut ($K_{max} > 58$ Dioptrien) und nachgewiesener Progression, aber noch alltagstauglichen Kontaktlinsensus gab es bislang keine Therapie. Gerrit Melles hat für diese Patientengruppe die Bowman Layer Transplantation entwickelt. [30–32] Vor dem Hintergrund, dass beim Keratokonus auch die Bowman Schicht erkrankt ist, wird bei diesem Verfahren eine gesunde Spender-Bowman-Schicht midstromal implantiert.

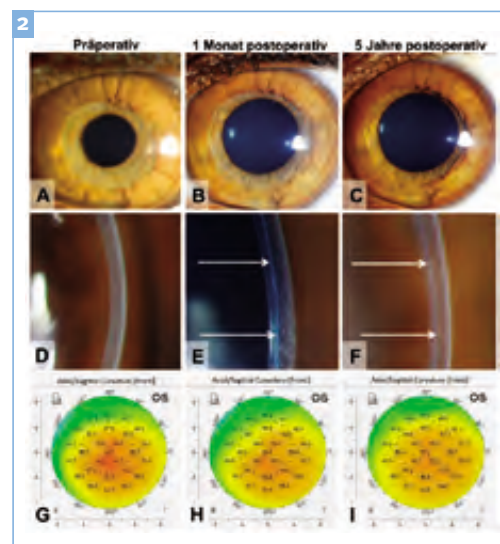


Abbildung 2

■ Prä- und postoperative klinische Bilder eines Auges nach Bowman Schicht Transplantation. (A–F) Spaltlampenbilder, (G–I) anteriore Hornhauttopographie eines Auges (A, D, G) vor und (B, E, H) einen Monat und (C, F, I) 5 Jahre nach Bowman Schicht Transplantation. Spaltlampenbild zeigt (A) eine klare Hornhaut präoperativ, sowie postoperativ (B) nach einem Monat (C) und 5 Jahren. In den Bildern (E, F) ist das Bowman Transplantat als dünne weiße Linie im Empfängerstroma zu sehen (weiße Pfeile). (G–I) Hornhauttopographie zeigt die Abflachung der Hornhaut von (G) präoperativ nach (H) einem Monat postoperativ und (I) eine anschließende Stabilisierung. [Quelle: Netherlands Institute for innovative Ocular Surgery.]

Hierdurch konnte in einer ersten Patientenserie die Progression gestoppt und eine Abflachung der Hornhautektasie von durchschnittlich 7 dpt erreicht werden. Der Konus blieb anschließend über mehrere Jahre stabil, so dass Kontaktlinsen weitergetragen werden konnten und invasivere Transplantationstechniken vermieden werden konnten (DALK, PKP). [31–33] (**Abb. 2**) Da die Bowman Schicht azellulär ist, kommen Abstoßungsreaktionen praktisch nicht vor. [31–33]

Limitationen dieses Verfahrens sind, die aufwendige Transplantatpräparation sowie die fehlende Visusbesserung. Deshalb ist ein zufriedenstellender präoperativer Kontaktlinsenvisus Voraussetzung, um das Verfahren anbieten zu können.

LITERATUR

- Zirm E. Eine erfolgreiche totale Keratoplastik. Albrecht von Graefes Arch Ophthalmol 1906; 54: 580–593.
- Cursiefen C., Küchle M., Naumann G. O. Changing indications for penetrating keratoplasty: histopathology of 1,250 corneal buttons. Cornea. 1998; 17 (5): 468–70.
- Melles G.R. Posterior lamellar keratoplasty: DLEK to DSEK to DMEK. Cornea. 2006; 25: 879–881.
- Melles G.R.J., Eggink F.A.G.J., Lander F., Pels E., Rietveld F.J.R., Beekhuis W.H., Binder P.S. A surgical technique for posterior lamellar keratoplasty. Cornea. 1998; 17: 618–626.
- Melles G.R.J., Lander F., Beekhuis W.H., Remeijer L., Binder P.S. Posterior lamellar keratoplasty for a case of pseudophakic bullous keratopathy. Am J Ophthalmol. 1999; 127: 340–341.
- Terry M.A., Ousley P.J. Deep lamellar endothelial keratoplasty in the first United States patients: early clinical results. Cornea. 2001; 20: 239–243.
- Melles G.R.J., Lander F., van Dooren B.T.H., Pels E., Beekhuis W.H. Preliminary clinical results of posterior lamellar keratoplasty through a sclerocorneal pocket incision. Ophthalmology. 2000; 107: 1850–1857.
- Melles G.R., Wijdh R.H., Nieuwendaal C.P. A technique to excise the Descemet membrane from a recipient cornea (descemetorhexis). Cornea. 2004; 23: 286–288.
- Gorovoy M., Price, F.W. New technique transforms corneal transplantation. Cataract Refract Surg Today. 2005; 11: 55–58.
- Terry M.A., Ousley P.J. Deep lamellar endothelial keratoplasty visual acuity, astigmatism, and endothelial survival in a large prospective series. Ophthalmology. 2005; 112: 1541–1548.
- Price F.W. Jr., Price M.O. Descemet's stripping with endothelial keratoplasty in 50 eyes: a refractive neutral corneal transplant. J Refract Surg. 2005; 21: 339–345.
- Price M.O., Gorovoy M., Benetz B.A., Price F.W. Jr., Menegay H.J., Debanne S.M., Lass J.H. Descemet's stripping automated endothelial keratoplasty outcomes compared with penetrating keratoplasty from the Cornea Donor Study. Ophthalmology. 2010; 117: 438–444.
- Melles G.R., Ong T.S., Ververs B., van der Wees J. Descemet membrane endothelial keratoplasty (DMEK). Cornea. 2006; 25: 987–990.
- Melles G.R., Ong T.S., Ververs B., van der Wees J. Preliminary clinical results of Descemet membrane endothelial keratoplasty. Am J Ophthalmol. 2008; 145: 222–227.
- Tourtas T., Laaser K., Bachmann B.O., Cursiefen C., Kruse F.E. Descemet membrane endothelial keratoplasty versus Descemet stripping automated endothelial keratoplasty. Am J Ophthalmol. 2012; 153 (6): 1082–1090.
- Ham L., Dapena I., Liarakos V.S., et al. Mid-term results of Descemet membrane endothelial keratoplasty (DMEK): 4 to 7 years clinical outcome. Am J Ophthalmol 2016; 171: 113–121.
- Rodríguez-Calvo-de-Mora M., Quilendino R., Ham L., Liarakos L., van Dijk K., Baydoun L., Dapena I., Oellerich S., Melles GRJ. Clinical outcome of 500 consecutive cases undergoing Descemet's membrane endothelial keratoplasty. Ophthalmology. 2015; 122 (3): 464–470.
- Dapena I., Ham L., Netuková M., van der Wees J., Melles G.R. Incidence of early allograft rejection after Descemet membrane endothelial keratoplasty. Cornea. 2011; 30: 1341–1345.
- Anshu A., Price M.O., Price F.W. Jr. Risk of corneal transplant rejection significantly reduced with Descemet's membrane endothelial keratoplasty. Ophthalmology. 2012; 119: 536–540.
- Alnawaiseh M., Zumhagen L., Rosentreter A., Eter N. Intraocular lens power calculation using standard formulas and ray tracing after DMEK in patients with Fuchs endothelial dystrophy. BMC Ophthalmol. 2017 Aug 23; 17 (1): 152.
- Fritz M., Grewing V., Böhringer D., Lapp T., Maier P., Reinhard T., Wacker K. Avoiding Hyperopic Surprises After Descemet Membrane Endothelial Keratoplasty in Fuchs Dystrophy Eyes by Assessing Corneal Shape. Am J Ophthalmol. 2019 Jan; 197: 1–6.
- Lie J.T., Lam F.C., Groeneveld-van Beek E.A. et al. (2016) Graft preparation for hemi-Descemet membrane endothelial keratoplasty (hemi-DMEK). Br J Ophthalmol 100: 420–424.
- Müller T.M., Lavy I., Baydoun L., Lie J.T., Dapena I., Melles G.R. Case report of Quarter-Descemet membrane endothelial keratoplasty for Fuchs endothelial dystrophy. Cornea 2017; 36: 104–107.
- Gerber-Hollbach N., Parker J., Baydoun L., et al. Preliminary outcome of hemi-Descemet membrane endothelial

Interessenkonflikte

L. Baydoun: DORC International BV/Dutch Ophthalmic USA.

N. Eter: Alimera, Allergan, Bausch und Lomb, Bayer, Heidelberg Engineering, Novartis, Roche

- lial keratoplasty for Fuchs endothelial dystrophy. *Br J Ophthalmol* 2016; 100: 1564–1568.
25. Birbal R.S., Hsien S., Zygoura V., Parker J.S., Ham L., van Dijk K., Dapena I., Baydoun L., Melles G.R.J. Outcomes of Hemi-Descemet Membrane Endothelial Keratoplasty for Fuchs Endothelial Corneal Dystrophy. *Cornea*. 2018 Jul; 37 (7): 854–858.
 26. Baydoun L., Zygoura V., Hsien S., Birbal R.S., Spinozzi D., Lie J.T., Ham L., Oellerich S., Melles G.R.J. Clinical feasibility of using multiple grafts from a single donor for Quarter-DMEK. *Acta Ophthalmol*. 2018 Aug; 96 (5).
 27. Zygoura V., Baydoun L., Ham L., Bourgonje V.J.A., van Dijk K., Lie J.T., Dapena I., Oellerich S., Melles G.R.J. Quarter-Descemet membrane endothelial keratoplasty (Quarter-DMEK) for Fuchs endothelial corneal dystrophy: 6 months clinical outcome. *Br J Ophthalmol*. 2018 Oct; 102 (10): 1425–1430.
 28. Birbal R.S., Ni Dhubhghaill S., Baydoun L., Ham L., Bourgonje V.J.A., Dapena I., Oellerich S., Melles G.R.J. Quarter-Descemet Membrane Endothelial Keratoplasty: One-to Two Year Clinical Outcomes. *im Druck*.
 29. Arnalich-Montiel F., Alio del Barrio J.L., Alio J.L. Corneal surgery in keratoconus: which type, which technique, which outcomes? *Eye Vis (Lond)*. 2016; 3: 2.
 30. Groeneveld-van Beek E.A., Parker J., Lie J.T., et al. Donor tissue preparation for Bowman layer transplantation. *Cornea*. 2016; 35: 1499–1502.
 31. van Dijk K., Liarakos V.S., Parker J., et al. Bowman layer transplantation to reduce and stabilize progressive, advanced keratoconus. *Ophthalmology*. 2015; 122: 909–17.
 32. van Dijk K., Parker J., Tong C.M., et al. Midstromal isolated Bowman layer graft for reduction of advanced keratoconus: a technique to postpone penetrating or deep anterior lamellar keratoplasty. *JAMA Ophthalmol*. 2014; 132: 495–501.
 33. van Dijk K., Parker J.S., Baydoun L., Ilyas A., Dapena I., Groeneveld-van Beek E.A., Melles G.R.J. Bowman layer transplantation: 5-year results. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 2018 Jun; 256 (6): 1151–1158.

Dr. med. Lamis Baydoun ist Oberärztin an der Universitätsaugenklinik Münster und Consultant am ELZA Institut in Zürich. Ihre ophthalmologische Ausbildung absolvierte Sie an den (Universitäts)Kliniken Zürich, Bonn und Dortmund und legte 2006 die Facharztprüfung ab. Von 2007 bis 2008 war sie Funktionsoberärztin und von 2009 bis 2012 Oberärztin am Evangelischen Krankenhaus Mülheim/Ruhr, wo sie die Abteilungen für Kataraktchirurgie, Hornhaut und Uveitis leitete. Seit 2012 arbeitete sie über 6 Jahre als Hornhautchirurgin und Wissenschaftlerin am Netherlands Institute for Innovative Ocular Surgery (NIIOS) in Rotterdam, wo sie sich in lamellären Transplantationstechniken spezialisierte und als Leitung des Bereichs NIIOS Academy zahlreiche internationale Ophthalmochirurgen in diesen lamellären Techniken ausbildete. Sie war an der Entwicklung der Descemet Membran Endothelkeratoplastik (DMEK)-Modifikationen wesentlich beteiligt und ist Mitgründerin des 'NIIOS Rejection Centers' und des PROTECT (Prevent Rejection Of The Endothelial Cell Transplant) Programms. Innerhalb der lamellären Techniken forscht sie

insbesondere an Möglichkeiten der Früherkennung einer Abstoßungsreaktion nach DMEK. In Zusammenarbeit mit der Universität Leiden schreibt sie unter der Leitung von Frau Professor Dr. Martine Jager und Herrn Dr. Gerrit Melles eine Forschungsarbeit zur Erlangung des PhD-Grades über Transplantatüberleben und Transplantatabstoßung nach DMEK.



Dr. med. Lamis Baydoun, FEBO
 Universitäts-Augenklinik Münster
 Domagkstraße 15
 48149 Münster
 Tel. 0251/83-56001
 E-Mail: Lamis.Baydoun@ukmuenster.de

KONTAKT





Prof. Dr. med. Nicole Eter ist Lehrstuhlinhaberin und Direktorin der Klinik für Augenheilkunde am Universitätsklinikum Münster und Prodekanin im Dekanat der Medizinischen Fakultät. Ihr Studium der Humanmedizin absolvierte sie an der Universität Bonn (1988–1994) und legte dort die Facharztprüfung zur Fachärztin für Augenheilkunde ab (1999). Von 2002 bis 2010 war sie leitende Oberärztin der Universitäts-Augenklinik in Bonn, und leitete dies kommissarisch von 2002 bis 2003. Promotion (1995), Habilitation (2002) und APL-Professur (2007) erfolgten ebenfalls an der medizinischen Fakultät der

Universität Bonn. 2010 erhielt Prof. Eter den Ruf auf die W3-Professur mit Leitungsfunktion an der Universität Münster. Sie war 2017–2018 Präsidentin der Deutschen Ophthalmologischen Gesellschaft. Seit 2017 ist sie Vorsitzende der Vereinigung ophthalmologischer Lehrstuhlinhaber.

FÖRDERUNGEN UND AUSZEICHNUNGEN:

Gefördert wurde Frau Prof. Dr. med. Nicole Eter durch die BMBF-Verbundprojekt-Förderung (2007–2010), DFG-Forschungsförderung im Einzelantrag (2010–2013), IZKF Forschungsförderung (2011–2014) sowie der IMF Forschungsförderung (2014). Außerdem ist Sie seit 2012 Mitglied des Exzellenzclusters CIM (Cells in motion) der Universität Münster.

KONTAKT



Prof. Dr. Nicole Eter
 Universitäts-Augenklinik Münster
 Domagkstraße 15
 48149 Münster
 Tel. 0251 / 83-56004
 Fax 0251 / 83-56003
 E-Mail: nicole.eter@ukmuenster.de

DMEK RAPID – eine neue Ära in der Cornea-Chirurgie

Die Descemet-Membran ist das erste vorgeladene menschliche Organ in der Geschichte der Transplantation

DMEK-Operationen planbarer, einfacher, sicherer und schneller zu gestalten und die Validierung und Präparation dorthin zu verlegen, wo sie am routiniertesten und effizientesten durchgeführt werden kann – in die Cornea-Bank – waren die Ziele einer erfolgreichen Kooperation zwischen Prof. Peter Szurman, der DGFG und der Fa. Geuder AG. Mit der Einführung von DMEK RAPID, dem ersten CE-zertifizierten DMEK Preloading-System können Augenchirurgen nun vorgeladene Descemet-Lamellen direkt von einer Cornea-Bank beziehen, wie sie es von vorgeladenen IOL-Injektoren für Katarakt-OPs gewohnt sind.

Es ist zu erwarten, dass sich durch Einführung von DMEK RAPID nicht nur der OP-Ablauf beschleunigt, sondern auch indirekt die Anzahl ggf. nicht nutzbarer Corneas reduziert, wenn die Präparation standardisiert, validiert und zentralisiert in der Cornea-Bank erfolgt.

Die klinische Situation und die Lösung

Eine der Herausforderungen im Rahmen einer DMEK-Operation ist die Präparation der nur 10 bis 30 µm dünnen und fragilen Descemet-Membran. Der Erfolg dieser Vorarbeit ist nicht nur vom Geschick und der Übung des Chirurgen abhängig - auch das Alter, eventuelle/ Nikotingenuss, Vorerkrankungen wie Diabetes, vorangegangene Operationen oder corneale Verletzungen des Spenders beeinflussen den Erfolg und die Dauer der Präparation enorm. Es besteht eine latente Gefahr, das wertvolle Transplantat durch eine Unachtsamkeit oder einen falschen Handgriff zu beschädigen oder unbrauchbar zu machen. Läuft die Präparation nicht zufriedenstellend, muss der Patient (Empfänger) unverrichteter Dinge entlassen und zu einem anderen Zeitpunkt erneut einbestellt werden. Mit DMEK RAPID kann die Descemet-Lamelle vorgeladen von der Cornea-Bank in den OP geliefert werden, wodurch die DMEK so zuverlässig geplant werden kann wie eine Katarakt-OP.

Autoren:

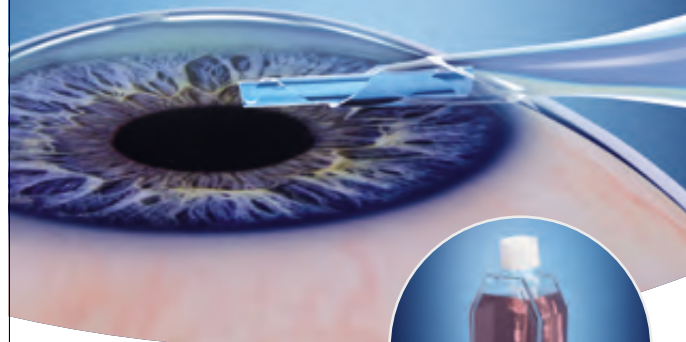
Dr. Stefanie Degenhardt
Tomislav Bucalic

KONTAKT

Geuder AG
Hertzstraße 4, 69126 Heidelberg
Tel.: +49 (0) 6221 3066
marketing@geuder.de
www.geuder.de

DMEK RAPID

REVOLUTIONARY
ADVANCED
PRELOADABLE
INJECTION
DEVICE



DMEK OHNE PRÄPARATION

VORGELADEN UND
GEBRAUCHSFERTIG
VON IHRER CORNEA-BANK



Mehr Infos und unser Anwender-
video finden Sie unter:
[www.geuder.de/produkte/
instrumente/dmek-rapid/](http://www.geuder.de/produkte/instrumente/dmek-rapid/)

**BESUCHEN SIE UNS
AUF DER DOG**
Halle 2, Stand 265

Geuder[®]
Precision made in Germany

www.geuder.de

Genetisches Counselling beim malignen Aderhautmelanom

PROF. DR. DR. H. C. NIKOLAOS E. BECHRAKIS¹, DR. EVA BIEWALD¹,
DR. MICHAEL ZESCHNIGK², PROF. DR. NORBERT BORNFELD¹,
PROF. DR. KLAUS A. METZ³, DR. CLAUDIA H. LE GUIN¹, STEFAN KREIS¹,
DR. PHILIPP RATING¹, DR. METE GÖK¹, PROF. DR. DIETMAR LOHMANN²

- 1 Universitätsklinikum Essen,**
Klinik für Augenheilkunde
- 2 Universitätsklinikum Essen,**
Institut für Humangenetik
- 3 Universitätsklinikum Essen,**
Institut für Pathologie

EINLEITUNG

Das Aderhautmelanom ist der häufigste primäre intraokulare Tumor im Erwachsenenalter mit einer Inzidenz von ca. 500–600 Neuerkrankungen pro Jahr in Deutschland. **Abbildung 1** zeigt ein typisches klinisches Bild eines Aderhautmelanoms. Trotz erheblicher Fortschritte in der Behandlung des Tumors mit bulbuserhaltenden Therapiestrategien hat sich an der Überlebensprognose der Betroffenen seit der Erstbeschreibung durch fehlende effektive Therapiemodalitäten bei metastasierender Erkrankung nichts geändert [1]. Stadienabhängig entwickeln 30%–50% der Betroffenen Metastasen mit einer medianen Überlebenszeit von 4 bis 15 Monaten. Meist werden die Metastasen zunächst in der Leber gefunden, es können jedoch auch andere Organe wie Knochen, Milz, Haut, Niere und Lunge betroffen sein [2]. Mittlerweile gilt es als gesichert, dass die Muster genetischer Veränderungen eine relativ präzise Bestimmung der Metastasierungswahrscheinlichkeit ermöglichen. Genetische Merkmale, die mit einer ungünstigen Prognose einhergehen, sind Monosomie 3, ein Verlust des langen Arms von Chromosom 6 und eine Verdopplung des langen Arms von Chromosom 8. Auf dem Chromosom 3 ist das »Tumor suppressor Gene BRAC1-associated Protein 1«, das sog. BAP1 lokalisiert. Ein mutationsbedingter Verlust von BAP1, wie dies bei einer Monosomie 3 vorliegt, ist nachgewiesenermaßen mit einem erhöhten Risiko für Metastasierung behaftet [2].

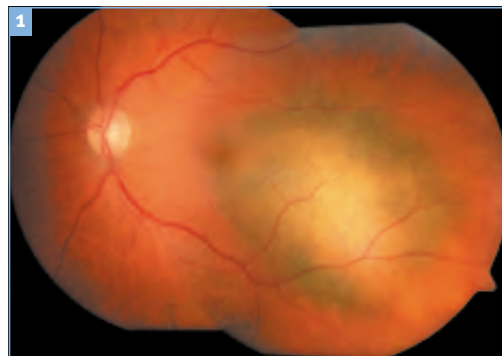


Abbildung 1
■ Typisches Aderhautmelanom mit orange pigment am hinteren Augenpol.

MUSTER GENETISCHER VERÄNDERUNGEN

Aderhautmelanome entstehen aus melanozytären Vorläuferzellen infolge von Veränderungen des genetischen Programms. Dies sind insbesondere Veränderungen in den Genen GNAQ, GNA11, BAP1, SF3B1 und EIF1AX. Durch Bestimmung des Mutationsmusters können Aderhautmelanome von anderen bösartigen Tumoren des Auges unterschieden werden, ein Verfahren das zur Verbesserung und Absicherung der Diagnose in unserer Klinik bereits Verwendung findet. Darüber hinaus nutzen wir die Mutationsmuster um Aderhautmelanome einer der beiden Hauptgruppen (Klassen), die wir bereits früher anhand von chromosomalen Veränderungen oder Genexpressionsmustern identifiziert haben, zuzuordnen. Beide Tumorklassen unterscheiden sich nicht nur in ihren genetischen Markern sondern auch in Bezug auf ihr klinisches Verhalten [3]. Das gilt insbesondere für die Metastasierungseigung, die in der Klasse der Tumoren mit Monosomie 3 (Verlust eines Chromosoms 3 im Tumor) wesentlich stärker ausgeprägt ist als bei Tumoren mit Disomie 3 [4]. Seit vielen Jahren nutzen wir dieses Wissen um mittels genetischer Untersuchung des Tumorgewebes die Tumorklasse und somit das Metastasierungsrisiko von Aderhautmelanom-Patienten zu bestimmen. **Abbildung 2** zeigt entsprechend repräsentative Bilder der Immunreaktivität von BAP1-Protein im Biopsiematerial von Aderhautmelanomen mit unterschiedlichem Metastasierungsverhalten. Für die Klassifizierung des Tumors oder zur Prognosebestimmung haben wir für die Routinediagnostik im unserem genetischen Labor moderne Hochdurchsatz-Sequenziermethoden (Panel Sequenzierung), sowie eine Reihe weiterer molekulargenetischer Methoden etabliert.

Neben der Erforschung genetischer Veränderungen in primären Aderhautmelanomen arbeiten wir auch an der Aufklärung der Genmutationsmuster in Metastasen des Aderhautmelanoms sowie an der Rolle von BAP1-Mutationen bei der Erstellung eines klassenspezifischen Epigenoms. Ziel unserer For-

schung ist es die für die Tumorentstehung und Metastasierung relevanten zellbiologischen Mechanismen besser zu verstehen.

ERBLICHES RISIKO FÜR ADERHAUTMELANOM

Weitergehend wurde im Rahmen der molekularen Analyse von Aderhautmelanomen und Mesotheliomen in den letzten Jahren das hereditäre BAP1-Tumorprädispositions-Syndrom definiert. Es handelt sich dabei um ein sehr seltenes Syndrom, das nicht alle Patienten mit einem Aderhautmelanom betrifft. Eine zugrundeliegende Keimbahnmutation des BAP1-Gens erhöht das Risiko für das vermehrte, gemeinsame und erbliche Auftreten von malignen Neoplasien aus einer Gruppe von Aderhautmelanomen, Mesotheliomen, Nierenzellkarzinomen, kutanen Melanomen und Basalzellkarzinomen [2].

Die genetischen Veränderungen, die zur Entwicklung eines Aderhautmelanoms führen, sind fast immer auf die Tumorzellen beschränkt. Erbliche Veränderungen sind für die Entstehung des Aderhautmelanoms nur bei wenigen Patienten bedeutsam. Diese seltenen Patienten haben jedoch ein erhöhtes Risiko für ein Aderhautmelanom und auch für andere Tumore. Da die erbliche Veränderung auch bei Angehörigen dieser Patienten vorliegen kann, sind diese auch von einem erhöhten Tumorrisiko betroffen [6]. Eines der für eine erbliche Tumorneigung verantwortlichen Gene ist bereits bekannt (BAP1). Patienten mit erblichen Mutationen in diesem Gen können von gezielter Vorsorge profitieren. Es muss jedoch noch erforscht werden, welche Tumore bei diesen Patienten gehäuft auftreten. Zusätzlich müssen auch die Faktoren, die das Tumorrisiko mitbestimmen, aufgeklärt werden. In einem von der Deutschen Krebshilfe geförderten Projekt soll bei Patienten, die an diesem Projekt teilnehmen wollen, das mögliche Vorliegen einer erblichen Tumorneigung erkannt werden. Den Patienten, bei denen eine erblichen Tumorneigung vorliegt, wird ein Nachsorgeprogramm angeboten.

LIQUID BIOPSY

Im Blutkreislauf ist zellfreie DNA (cfDNA) nachweisbar, die auf verschiedenen Wegen von Körperzellen dorthin gelangt. Bei Tumorpatienten, so auch

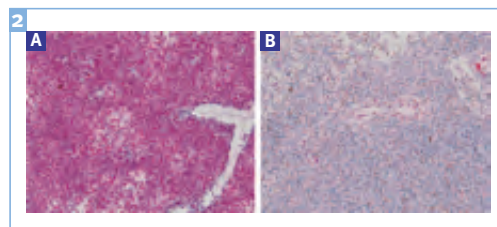


Abbildung 2

■ Repräsentative Bilder der Immunreaktivität von BAP1-Protein im Biopsiematerial von Aderhautmelanomen. **A:** Starkes BAP1-Signal in den Kernen der Tumorzelle mit Disomie 3. **B:** Verlust des nuklearen BAP1-Signals in der Tumorzelle mit erhöhter Metastasierungswahrscheinlichkeit.

Aderhautmelanom-Patienten, stammt ein Teil dieser cfDNA von Tumorzellen (ctDNA) [7]. Durch Nachweis tumorspezifischer Mutationen z. B. GNAQ/GNA11 kann die Herkunft dieser DNA aus Tumorzellen erkannt werden. Allerdings macht die ctDNA nur einen Teil der cfDNA aus und zudem ist die Menge an cfDNA sehr gering. Zum Nachweis von ctDNA sind daher sehr empfindliche Analyseverfahren erforderlich. Eine niedrige Nachweisgrenze kann der Hochdurchsatzsequenzierung (»Ultradeep-Sequencing«) erreicht werden. Im Rahmen von einer prospektiven, von der Deutschen Krebshilfe geförderten Studie untersuchen wir, ob durch Nachweis von ctDNA eine Metastasenfrüherkennung möglich ist. Eine weitere diagnostische Anwendung von ctDNA-Analysen ist möglicherweise die individuelle Prognosebestimmung. Dazu ist mit herkömmlichen Methoden Tumorgewebe notwendig. Wir prüfen, ob ctDNA-Analysen ermöglichen, »liquid biopsy« und also ohne Erfordernis einer Entnahme einer Primärtumorprobe eine Prognosebestimmung zu erreichen.

Insgesamt können wir unseren Patienten mit Aderhautmelanomen anhand der Einbeziehung o. g. Risikofaktoren ein individuelles genetisches Counselling mit individuellem Risikoprofil anbieten. Zwar gibt es bislang weiterhin keine wirkungsvolle Therapie bei eingetretener Metastasierung, aber entsprechende Untersuchungen erlauben die Anpassung eines individuellen Nachsorgekonzeptes.

LITERATUR

1. Bornfeld N., Biewald E., Bauer S., Temming P., Lohmann D., Zeschnigk M.: The interdisciplinary diagnosis and treatment of intraocular tumors. *Dtsch Arztebl Int* 2017; 114: 106–111.
2. Metz C.H., Lohmann D., Zeschnigk M., Bornfeld N.: Aktuelles zur klinischen Bedeutung genetischer Veränderungen bei malignen Melanomen der Uvea. *Klin Monatsbl Augenheilkd* 2013; 230: 686–691.

3. Prescher G, Bornfeld N, Hirche H, Horsthemke B, Jöckel KH, Becher R: Prognostic implications of monosomy 3 in uveal melanoma. *Lancet* 1996; 347: 1222–25.
4. Van de Nes J.A.P., Nelles J., Kreis S., Metz C.H.D., Hager T., Lohmann D., Zeschnigk M.: Comparing the Prognostic Value of BAP1 Mutation Pattern, Chromosome 3 Status, and BAP1 Immunohistochemistry in Uveal Melanoma. *Am J Surg Pathol* 2016; 40: 796–805.
5. Thomas S., Putter C., Weber S. et al.: Prognostic significance of chromosome 3 alterations determined by microsatellite analysis in uveal melanoma: a long-term follow up study. *Br Cancer* 2012; 106: 117–1176.
6. Maerker D.A., Zeschnigk M., Nelles J., Lohmann D., Worm K., Bosserhoff A.K., Krupar R., Jägle H.: BAP1 germline mutation in two first grade family members with uveal melanoma. *Br J Ophthalmol* 2014; 98: 224–227.
7. Callejo S.A., Anteck E., Blanco P.L., Edelstein C., Burnier M.N.: Identification of circulating malignant cells and its correlation with prognostic factors and treatment in uveal melanoma. A prospective longitudinal study. *Eye* 2007; 21: 752–59.



Prof. Dr. Dr.h.c. Nikolaos E. Bechrakis wurde 1964 in der Schweiz geboren und besitzt die griechische und deutsche Staatsbürgerschaft. Aufgewachsen ist er in Athen wo er auch zur Schule ging. Er hat Medizin in Homburg (Saar) und an der FU Berlin studiert und hat seine Ausbildung als Augenarzt in der Berliner Charité absolviert. 2005 wurde Professor für Augenheilkunde in der Charité und stellvertretender Direktor der Augenklinik unter der Leitung von Prof. M.H. Foerster. Seit 2007 ist er Leiter des Leadership Development Programmes der European Society of Ophthalmology (SOE), nachdem er dieses Programm im selben Jahr absolviert hatte. Von 2008–2018 war er Professor und Direktor der Univ.-Augenklinik an der Medizinischen Universität Innsbruck in Österreich. Seit 2018 ist der Direktor der Klinik

für Augenheilkunde am Universitätsklinikum Essen der Universität Duisburg-Essen.

Professor Bechrakis promovierte 1996 in der Ophthalmologie während seiner Tätigkeit in der Charité - FU Berlin zwischen 1991 und 2007 und absolvierte zusätzliche Spezialausbildungen in der Ophthalmologischen Pathologie mit WR Green in Baltimore (Johns Hopkins University) und WR Lee in Glasgow (Western Infirmary-Universität von Glasgow). Er ist Mitglied des European Board of Ophthalmology (FEBO) und ist spezialisiert auf Katarakt-, Glaukom-, Hornhaut, vitreoretinaler Chirurgie sowie in der ophthalmologischen Onkologie und Pathologie. Professor Bechrakis dient in der Redaktion von vier Fachzeitschriften für Augenheilkunde, hat mehr als 140 Artikel veröffentlicht und in 19 Ophthalmologie Lehrbücher beigetragen. Unter anderem erhielt er 2003 den Leonhard-Klein-Preis der Deutschen Wissenschaftsstiftung und der Deutschen Ophthalmologischen Gesellschaft und wurde von den Studierenden der Medizinischen Universität Innsbruck wiederholt zum »Professor des 8. Semesters« gewählt. Im Jahr 2014 erhielt er eine Ehrendoktorwürde an der Universität Athen, Griechenland. Er ist verheiratet mit Maria Makraki, Physikerin, Dirigentin und künstlerischer Leiterin der Camerata Europaea. Sie haben zwei Söhne, Emmanuel und Michael.

KONTAKT



Prof. Dr. Dr.h.c. Nikolaos E. Bechrakis, FEBO

Direktor der Klinik für Augenheilkunde
Universitätsklinikum Essen
Hufelandstr. 55
45147 Essen
Tel. 201 / 723 3568
E-Mail: nikolaos.bechrakis@uk-essen.de

Hyaluronidase® (Hylase „Dessau“)

Einsatz in der Ophthalmochirurgie

Die Ko-Applikation von Lokalanästhetikum und Hyaluronidase ist heute in vielen ophthalmologischen Kliniken und Praxen etablierter Standard. Das in Deutschland ausschließlich als Hylase® „Dessau“ erhältliche Enzym wird unter anderem bei okuloplastischen Eingriffen im Lidbereich und in der Retrobulbärchirurgie in Kombination mit Lokalanästhetika eingesetzt. Durch die diffusionssteigernde Wirkung werden bei Ko-Applikation der Hyaluronidase nachweislich die operativen Bedingungen optimiert. [1]

Blepharoplastiken sind der okuloplastischen Chirurgie regelmäßig durchgeführte Eingriffe. Funktionelle Indikationen sind beispielsweise Gesichtsfeldeinschränkungen oder chronischen Entzündungen in der Umschlagfalte. Eine kosmetische Indikation liegt z.B. bei einer störenden Dermatochalasis an den Oberlidern vor.

Bei Ober- und Unterlidblepharoplastiken bietet der Einsatz eines CO₂-Lasers deutliche Vorteile. Das kohärente Licht mit einer Eindringtiefe von 0,1 bis 0,2 mm ermöglicht dem Operateur genaue Präparationen im Augenlidbereich, der sich durch dünne

Haut ohne subkutanes Fettgewebe und eine ausgeprägte Vaskularisation auszeichnet. Gerade der Zusatz der Hyaluronidase zur Lokalanästhesie optimiert trotz thermischer Reaktionen und einer Reizung der Nozizeptoren den Einsatz. [1] Zur Infiltrationsanästhesie eignet sich ein Gemisch aus 0,5 ml Bicarbonat 8,4%, 0,5 ml Hyaluronidase 150 I.E., 2,0 ml Bupivacain 0,5% sowie 2,0 ml Lidocain 1% mit Adrenalinzusatz.

■ **Autor:**
Prof. Dr. med. Karl-Heinz Emmerich
Direktor der Augenklinik Darmstadt

■ **Literatur**
1. Emmerich K. H. Bericht aus der Praxis: Kasuistik, Hyaluronidase bei Blepharoplastiken. Ophthalmologische Nachrichten 2016, 07: 22.

KONTAKT

RIEMSER Pharma GmbH
An der Wiek 7
17493 Greifswald-Insel Riems
www.RIEMSER.com

Bezeichnung des Arzneimittels: Hylase® „Dessau“ 150 I.E., Hylase® „Dessau“ 300 I.E.

Zusammensetzung, arzneilich wirksame Bestandteile nach Art und Menge und die sonstigen Bestandteile nach der Art: Der Wirkstoff ist: Hyaluronidase. 1 Durchstechflasche HYLASE® „Dessau“ 150 I.E. enthält: 150 I.E. Hyaluronidase. 1 Durchstechflasche HYLASE® „Dessau“ 300 I.E. enthält: 300 I.E. Hyaluronidase. Der sonstige Bestandteil ist: Gelatinehydrolysat. **Anwendungsgebiete:** HYLASE® „Dessau“ 150 I.E. / HYLASE® „Dessau“ 300 I.E.: in der Augenheilkunde: Kombination von HYLASE® „Dessau“ 150 I.E. / 300 I.E. mit Lokalanästhetika bei Injektions-Anästhesie-Techniken (peribulbär, retrobulbär, sub-Tenon's) für ophthalmochirurgische Eingriffe. **Gegenanzeigen:** HYLASE® „Dessau“ 150 I.E. / 300 I.E. darf nicht angewendet werden. • wenn Sie allergisch gegen Hyaluronidase, Rinderproteine oder einen der sonstigen Bestandteile dieses Arzneimittels sind. • wenn bei Ihnen angeborene Herzfehler, ein venöser Stau oder Schocksymptome vorliegen; • bei Plasmainfusionen, wenn Ihre Serumproteinwerte unter 5,5 g % (55 g / l) liegen; • wenn Sie an Infektionen leiden: HYLASE® „Dessau“ 150 I.E. / 300 I.E. darf wegen der Gefahr der Ausbreitung der Infektion nicht in infiziertes Areal injiziert werden; • wenn bei Ihnen Schwellungen vorliegen, die durch Stiche oder Bisse hervorgerufen wurden. HYLASE® „Dessau“ 150 I.E. / 300 I.E. darf nicht in diese Schwellungen injiziert werden. • wenn Sie Krebs-Patient sind: Da keine Langzeit-Untersuchungen an Tumorpatienten vorliegen und daher derzeit ein erhöhtes Metastasierungsrisiko nicht mit Sicherheit auszuschließen ist, darf HYLASE® „Dessau“ 150 I.E. / 300 I.E. nicht bei Krebspatienten angewendet werden. • in der Schwangerschaft ab dem 3. Trimenon; • in der Stillzeit. **Nebenwirkungen:** Wie alle Arzneimittel kann auch dieses Arzneimittel Nebenwirkungen haben, die aber nicht bei jedem auftreten müssen. Bei den Häufigkeitsangaben zu Nebenwirkungen werden folgende Kategorien zugrunde gelegt: Sehr häufig: mehr als 1 Behandelte von 10, Häufig: 1 bis 10 Behandelte von 100, Gelegentlich: 1 bis 10 Behandelte von 1.000, Selten: 1 bis 10 Behandelte von 10.000, Sehr selten: weniger als 1 Behandelte von 10.000, nicht bekannt: Häufigkeit auf Grundlage der verfügbaren Daten nicht abschätzbar. **Mögliche Nebenwirkungen:** Erkrankungen des Immunsystems: Selten kann es nach Applikation von HYLASE® „Dessau“ 150 I.E. / 300 I.E. zu allergischen Reaktionen kommen, die in seltenen Fällen mit einer Schocksymptomatik einhergehen. Bitte informieren Sie Ihren behandelnden Arzt sofort bei dem Auftreten folgender Symptome: Brustschmerzen oder -enge; Schwindelgefühl; schneller Herzschlag oder „rasendes“ Herz; Kurzatmigkeit oder Schwierigkeiten beim Atmen; Hautausschlag, Urtikaria oder Jucken; Anschwellen von Gesicht, Lippen, Hals, Ohren, Armen oder Beinen; Halsenge. Folgende Symptome sollten Sie dem Arzt so bald wie möglich berichten: geringfügige Entzündungen, Rötungen oder Schmerzen, Übelkeit oder Erbrechen. **Weitere Nebenwirkungen:** Durch Hyaluronidase- Anwendung können bestehende Infektionen verstärkt werden. In seltenen Fällen kommt es zu Temperaturerhöhung, Zahnlockerung oder verstärkter Menstruationsblutung. Über unangenehme Injektionsschmerzen bei der Anwendung von Hyaluronidase wurde in Einzelfällen berichtet. Hinweise auf Notfallmaßnahmen, Symptome und Gegenmittel: Die Notfallmaßnahmen/Gegenmittel richten sich nach den durch die Nebenwirkung aufgetretenen Symptomen und werden vom medizinischen Personal durchgeführt. **Symptome - Gegenmaßnahmen:** • Subjektive Beschwerden (Nausea usw.) - Injektionsunterbrechung; • Hauterscheinungen (Flush, Urtikaria, usw.) - Antihistaminika; • Tachykardie, RR-Abfall (<90 mm Hg syst.) - Kortikosteroide i.v. (z.B. 100 bis 200 mg Prednisolon); • Dyspnoe, Schock - Adrenalin-Tropf, Sauerstoff, hochdosierte Kortikosteroide i.v. (bis 1g Prednisolon), Volumenauffüllung; • Herz- oder Atemstillstand - Reanimation. **Warnhinweise:** Arzneimittel für Kinder unzugänglich aufbewahren. Packungsbeilage beachten. **Verschreibungspflichtig. Pharmazeutischer Unternehmer:** RIEMSER Pharma GmbH, An der Wiek 7, 17493 Greifswald-Insel Riems, Deutschland **Stand der Information:** 11/2018

[1] Kramer C. (1986) *Blutspiegeluntersuchungen bei Lokalanästhesie mit Hyaluronidase- und CO₂-Zusätzen* Inaugural-Dissertation, Medizinische Fakultät Eberhard-Karls-Universität Tübingen. [2] Lewis-Smith PA. Adjunctive use of hyaluronidase in local anaesthesia. Br J Plast Surg 1986; 39(4): 554-558 [3] Clark LE, Melette JR. The use of hyaluronidase as an adjunct to surgical procedures. J Dermatol Surg Oncol. 1994; 20(12):842-844 [4] Kirby CK, Eckenhoff JE, Looby JP. The use of hyaluronidase with local anesthetic agents in surgery and dentistry. Ann NY Acad Sci. 1950; 52(7):1166-1170



Spürbar schneller!^{1,2}
Sichtbar wirksam.^{2,3}
Geringeres Schmerzniveau
und kürzere Eingriffszeit.^{2,3,4}

HYLASE® „DESSAU“

- Bessere Diffusion des Lokalanästhetikums^{1,2}
- Schnellerer Wirkungseintritt des Lokalanästhetikums^{1,2}
- Vergrößerung des schmerzempfindlichen Bereiches^{2,3,4}
- Auflockerung des Gewebes¹

RIEMSER

RIEMSER Pharma GmbH | An der Wiek 7 | 17493 Greifswald - Insel Riems | Germany
phone +49 30-338427-0 | fax +49 38351 76-48 | e-mail info@riemser.com

www.HYLASE.de

Protonenstrahltherapie beim Retinoblastom – proof of principle

DR. EVA BIEWALD¹, DR. TOBIAS KIEFER¹, PROF. DR. DR. H.C. NIKOLAOS E. BECHRAKIS¹, DR. SABRINA SCHLÜTER¹, DR. DIRK GEISMAR², PROF. DR. BEATE TIMMERMANN², PROF. DR. DIETMAR LOHMANN³, PRIV.-DOZ. DR. PETRA KETTELER⁴, PROF. DR. NORBERT BORNFELD¹

1 Universitätsklinikum Essen,
Klinik für
Augenheilkunde

2 Universitätsklinikum Essen,
Westdeutsches
Protonenzentrum

3 Universitätsklinikum Essen,
Institut für
Humangenetik

4 Universitätsklinikum Essen,
Klinik für pädiatrische
Onkologie

EINLEITUNG

Das Retinoblastom ist der häufigste maligne intraokulare Tumor weltweit mit einer Inzidenz von einer Neuerkrankung auf 20000 Lebendgeburten [1]. Unbehandelt führt die Retinoblastomerkrankung durch systemische und lokale Metastasierung zum Tod. In 60–70% tritt die Retinoblastomerkrankung einseitig auf, wobei es sich bei ca. 90% um eine sporadische Mutation handelt. Umgekehrt tritt bei den übrigen 30–40% die Erkrankung bilateral auf, wobei hier bei 10% der Betroffenen eine vererbte Keimbahnmutation des RB1 Gens auf Chromosom 13q14 vorliegt. Diese bilateral erkrankten Patienten mit Keimbahnmutation haben ein erhöhtes Zweittumorrisiko per se, wobei insbesondere die perkutane Strahlentherapie dieses Risiko ansteigen lässt [2]. Je nach vorliegendem Stadium der Erkrankung und Lateralität stehen unterschiedliche Therapieformen zur Auswahl, welche individuell interdisziplinär für den jeweiligen Patienten erarbeitet werden. Etablierte Therapieformen sind lokal destruierende Verfahren wie Laser-, Kryo- und Brachytherapie oder die Enucleatio bulbi, diese insbesondere bei fortgeschrittener einseitiger Tumorerkrankung. An systemischen Therapieformen wären die perkutane Strahlentherapie (EBRT) und systemische Chemotherapie zu nennen, wobei insbesondere die EBRT bei deutlich erhöhtem Zweittumorrisiko mit verkürzter Überlebensprognose heutzutage nicht mehr angewendet wird. Ergänzt wird das Therapiespektrum durch neuere lokale Chemotherapieverfahren wie der intraarteriellen oder intravitrealen Chemotherapie [3].

ZWEITTUMORRISIKO NACH STRAHLENTHERAPIE

Die EBRT wird seit über einem Jahrhundert in der Behandlung des Retinoblastoms eingesetzt und war viele Jahre lang der bevorzugte Behandlungsansatz insbesondere bilateral erkrankter Augen mit Glaskörperaussaat mit guten Visusergebnissen und niedriger Rezidivrate im Verlauf [4]. Der Einsatz der EBRT hat jedoch in den letzten zwei Jahrzehnten stark abgenommen, was auf der Einführung wirksamer chemotherapeutischer Strategien sowie der Sorge um strahlungsinduzierte Nebenwirkungen wie Wachstumsstörungen und der Entstehung von Zweittumoren im Bestrahlungsfeld begründet ist [5]. Am weitesten häufigsten wurden Sarkome im Strahlenfeld beschrieben mit einer konsekutiven deutlichen Verkürzung der Lebenserwartung. Die Nachsorgestudie unserer Klinik zeigte eine kumulative Inzidenz von Zweittumoren nach EBRT von 37,1% verglichen mit 17,6% bei lokaler Therapie inklusive Brachytherapie und 15,8% nach systemischer Strahlentherapie [6]. Konsequenterweise gilt die klassische Strahlentherapie mit Photonen als obsolet. Dennoch kann es im Therapieverlauf fortschreitender oder anhaltender Erkrankung nach Chemotherapie und Ausreizung aller anderen Therapieoptionen erforderlich sein, eine Strahlentherapie durchzuführen, um ein Restsehvermögen und damit eine deutlich erhöhte Lebensqualität für die kleinen Patienten zu erhalten. Ebenso wird beim Vorliegen histopathologischer Risikofaktoren nach Enucleation wie postlaminärer Optikusinfiltration, einer Beteiligung des vorderen Augensegments

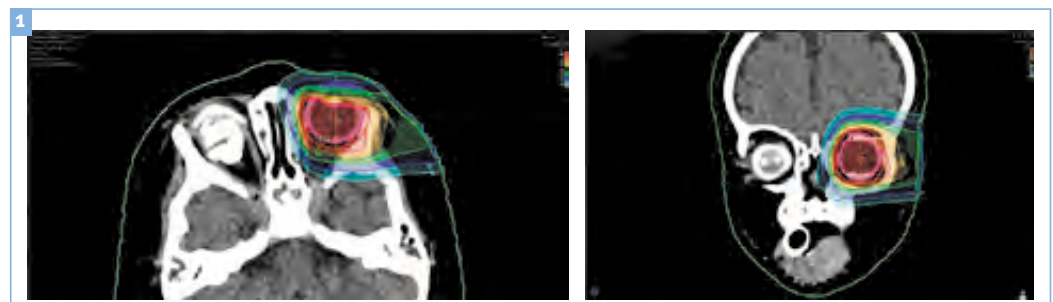


Abbildung 1

■ Planungs-CT und Festlegung des klinischen Zielvolumens vor der geplanten Protonentherapie.

oder breitbasiger Aderhautinfiltration eine ergänzende adjuvante Strahlentherapie der Orbita empfohlen [4].

PROTONENSTRAHLTHERAPIE

Die Vorteile der Protonenstrahltherapie gegenüber der herkömmlichen EBRT liegen in der Überlegenheit der physikalischen Dosisverteilungen. Ein Proton verliert nur eine geringe Menge seiner Energie im Gewebe, bis es sich seiner maximalen Eindringtiefe nähert, wo die Restenergie über eine kurze Distanz verloren geht, was zu einem starken Anstieg der Energiedosis führt. Nach der energieabhängigen Tiefenpenetration im Gewebe wird der größte Teil der Energie im Bragg-Peak abgelagert, gefolgt von einem steilen Dosisabfall. Diese Dosischarakteristik führt dazu, dass keine Austrittsdosis über ca. 4–5 mm stromabwärts des Ziels hinaus vorhanden ist. Dieser Teil der Partikelspur, in dem die Energie über eine kurze Strecke schnell verloren geht, wird als Bragg Peak bezeichnet. Damit wird die Behandlung von Tumoren auch in sensiblen Körperregionen unter weitgehender Schonung umliegender Gewebe bei sehr präziser Ausrichtung des geplanten Zielvolumens möglich [7]. Daher minimiert die Protonentherapie die normale Gewebelastung und kann mit niedrigeren Raten von strahlungsinduzierten normalen Gewebeschäden, Gesichtssymmetrie und Zweitmalignomen im Vergleich zu EBRT bei Retinoblastomen assoziiert werden. Bislang wurden an unserem Institut insgesamt 14 Augen nach Ausreizung aller anderen Therapieoptionen bulbuserhaltend mit Protonen bestrahlt, bei weiteren vier erfolgte eine Bestrahlung der Orbita nach Eukleation bei histopathologischen Risikofaktoren. Indikation für die bulbuserhaltende Protonentherapie war in 12 Augen das Auftreten von Rezidiven oder therapieresistenten Befunden nach intraarterieller Chemotherapie oder das Versagen der technischen Durchführbarkeit, sowie in 2 Augen eine Beteiligung des vorderen Augensegments. Die Entscheidung zur Protonentherapie wurde in unserem interdisziplinären Tumorboard getroffen, das Zielvolumen wurde vom behandelnden Strahlentherapeuten und Augenarzt festgelegt. Es wurde dann entsprechend eine benutzerdefinierte Messingblende und ein Messbereichskompensator zur Kontrolle der Form und Eindringtiefe des Protonenstrahls für jeden Patienten individuell entwickelt. Zur Optimierung der Bestrahlung bzw. zum Überprüfen der korrekten Ausrichtung des Bulbus unter der

Bestrahlung in Narkose wurden medial 2 Tantalumclips am Bulbus positioniert und im Anschluss ein Planungs-CT zur Definition der Tumorgrenzen (CTV = klinisches Zielvolumen) und der entsprechenden Sicherheitsabstände durchgeführt. **Abbildung 1** zeigt das klinische Zielvolumen vor Beginn der Strahlentherapie bei Glaskörperaussaat, wobei hier der komplette Bulbus unter Aussparung der Linse und knöchernen Strukturen erfasst wurde. Es erfolgte die fraktionierte Bestrahlung in tiefer Narkose mit 2Gy / Tag bis zu einer kumulativen Gesamtdosis von 50Gy. Um Bewegungsartefakte dennoch möglichst gering zu halten wurde eine spezielle Kopffixierungsvorrichtung individuell angepasst und die korrekte Ausrichtung des Bulbus mittels der beiden Tantalumclips überprüft. **Abbildung 2** zeigt das Setup vor Beginn der Protonentherapie in tiefer Intubationsnarkose, wobei das Auge in tiefer Narkose ohne weitere Hilfsmittel in gerader Position fixiert war. Wir konnten einen Großteil der 14 bestrahlten Augen erhalten, lediglich vier Augen mussten nach durchschnittlich drei Monaten entfernt werden. Gründe hierfür waren Rezidive in drei Fällen und ein phthisisches Auge in einem weiteren. **Abbildung drei** zeigt die Retcambilder vor und nach erfolgter Protonenstrahltherapie mit einem nahezu vollständigen Rückgang des Rezidivs. Bei zwei Kindern entwickelte sich eine milde Strahlenretinopathie, bei einem Kind kam es nach Bestrahlung des vorderen Augensegments bei diffus infiltrierendem anterioren Retinoblastom zu einem Hornhautulcus mit konsekutiver Keratoplastik. Bezüglich der Langzeitfolgen entwickelte bislang kein Kind Zweitumoren oder eine Gesichtshypoplasie, was sich gut mit den in der Literatur beschriebenen Ergebnissen in Einklang bringen lässt [8]. Bei den Kindern mit Orbitabestrahlung bei histopathologischen Risikofaktoren zeigten sich keine weiteren Komplikationen. Insgesamt zeigte sich in unserem negativ selektierten Patientenkollektiv ein gutes Ansprechen auf die Protonentherapie bei gleichzeitiger Minimierung der durch die reguläre Photonentherapie bedingten Komplikationen und Risiken. Mit der Protonentherapie konnte somit unser Behandlungsspektrum therapieresistenter Retino-

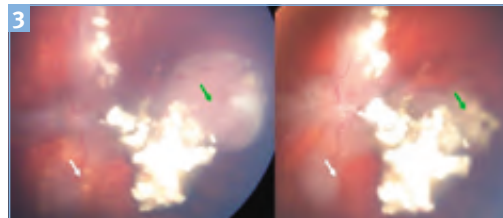


Abbildung 2

■ Setup der Protonentherapie in ITN. Das intubierte Kind liegt in Rückenlage, die horizontale Protonenstrahlführung erfordert den Einsatz eines 90° Seitenfeldansatzes.

Abbildung 3

■ *Retcambilder vor und nach Protonenstrahltherapie. Die grünen Pfeile kennzeichnen den entsprechenden vollständigen Rückgang des prominenten Rezidivs in eine gemischte Regression mit Typ I Dominanz.*



blastomaugen um eine wichtige Therapiemodalität erweitert werden. Weitere Langzeitbeobachtungen mit größeren Fallzahlen sind zum einen in Bezug auf die propagierte erniedrigte Zweitmalignomrate, als auch die verbesserte technische Umsetzung mit zunehmend kleineren Zielvolumina gewünscht.

LITERATUR

1. Bornfeld N. et al: Neue Entwicklungen zur Genetik und Therapie des Retinoblastoms. *Klin Monatsbl Augenheilkd* 2011; 228: 593–598.
2. Lohmann D.: Retinoblastoma. *Adv Exp Med Biol.* 2010; 685: 220–7.
3. Bornfeld N. et al: The interdisciplinary diagnosis and treatment of intraocular tumors. *Dtsch Arztebl Int* 2017; 114.
4. Scheffler A. et al: Recent advancements in the management of retinoblastoma and uveal melanoma. *F1000-Research* 2018,7 (F1000 Faculty rev):476 (doi: 10.12688/f1000research.11941.1)
5. Mouw K. et al: Proton Radiotherapy for the treatment of Retinoblastoma. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2014 Nov 15; 90 (4): 863–69.
6. Temming P. et al: Incidence of second cancers after radiotherapy and systemic chemotherapy in heritable retinoblastoma survivors: A report from the German reference center. *Pediatr Blood Cancer.* 2017 Jan; 64: 71–80.
7. Yock T.I. et al: Technology insight: Proton beam radiotherapy for treatment in pediatric brain tumors. *Nat Clin Pract Oncol.* 2004; 1: 97–103.
8. Mouw K.: Analysis of patient outcomes following proton radiation therapy for retinoblastoma. *Adv Radiat Oncol.* 2017 Jan-Mar; 2 (1): 44–52.

**KONTAKT****Dr. med. Eva Biewald**

Universitätsklinikum Essen
Klinik für Augenheilkunde
Hufelandstraße 55
45147 Essen
Tel. 0201 / 723 2900
Fax 0201 / 723 5917
E-Mail: augenpoli@uk-essen.de
www.uk-essen.de

Dr. med. Eva Biewald, geboren 1978 in Mainz, ist Oberärztin der Klinik und Poliklinik für Augenheilkunde des Universitätsklinikums Essen. Das Studium der Humanmedizin absolvierte sie in Essen und Köln mit Auslandsaufenthalten in der Schweiz und Kenia. Die Promotion erfolgte bei Prof. Dr. Peter Walter an der RWTH Aachen über die chirurgische Versorgung von Makulaforamina. Seit 2005 arbeitet sie an der Universitätsaugenklinik Essen. Es folgte die Facharztprüfung 2010 mit Ernennung zur Oberärztin mit ophthalmoonkologischen Schwerpunkt 2011 und Leitung der Retinoblastomsprechstunde seit 2014.

Sehen Sie mehr mit dem ersten digitalen Mikroskop.



ZEISS ARTEVO 800

Das erste digitale Mikroskop für die chirurgische Ophthalmologie leitet eine neue Ära der Visualisierung ein und bietet Ihnen mehr chirurgische Gewissheit. Mit ZEISS Optik und umfassenden Möglichkeiten der digitalen Bildgebung sehen Sie mehr als je zuvor mit mehr Komfort dank DigitalOptics™, AdVision™ sowie Cloud Connectivity.

zeiss.com/artevo800



Seeing beyond

Entwicklung und Pathologie der Fovea: Bedeutung der Müllerzellen

PROF. DR. ANDREAS BRINGMANN¹, PROF. DR. PETER WIEDEMANN¹

1 Klinik und Poliklinik für Augenheilkunde,
Medizinische Fakultät
der Universität Leipzig

Die Fovea besteht aus der Foveola und den sie umgebenden Foveawänden (s. **Abb. 1**). Die Foveagrube (Fovea interna) liegt über einem Bereich mit sehr hoher Dichte von Photorezeptoren. Die Fovea externa ist der Kegel, der durch die verlängerten Photorezeptorsegmente in der Foveola gebildet wird und der in OCT-Abbildungen an der schrägen Stellung der äußeren limitierenden Membran (ELM) und der IS/OS-Linie erkennbar ist.

Der einzige Gliazelltyp in der Fovea sind Müllerzellen; Astrozyten befinden sich in der Parafovea. Es gibt zwei verschiedene Müllerzellpopulationen in der Fovea (s. **Abb. 1**): (1) Müllerzellen, die den inversen Müllerzellkegel in der Foveola bilden; dieser Müllerzellkegel besteht aus der innersten Schicht der Foveola und aus einem vertikalen Stiel im fovealen Zentrum; (2) Müllerzellen der Foveawände, die eine charakteristische »Z-Form« besitzen, weil ihre äußeren Fortsätze schräg oder horizontal durch die Henlefaserschicht ziehen. Zellen des Müllerzellkegels haben keinen Kontakt zu Synapsen und unterstützen daher nicht die neuronale Aktivität, besitzen aber wichtige Funktionen für die Aufrechterhaltung der fovealen Struktur

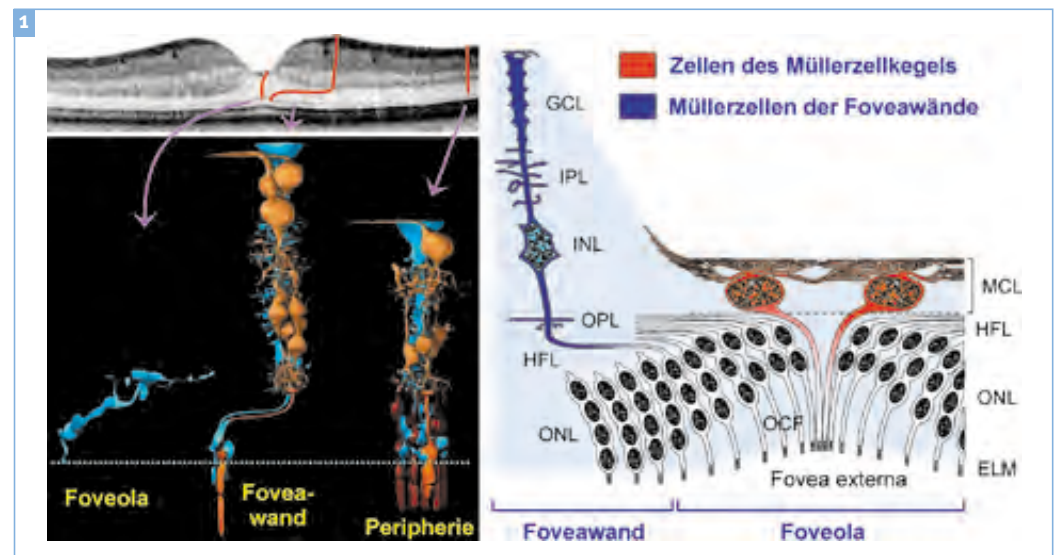
und für die Lichtleitung durch das Gewebe. Müllerzellen der Foveawände sind wichtig zur Unterstützung der neuronalen Aktivität.

ENTWICKLUNG DER FOVEA

Gliazellen (Müllerzellen und Astrozyten) bewirken die ontogenetische Entwicklung der Fovea. Die Entwicklung der Foveagrube verläuft in drei Phasen (s. **Abb. 2**): (1) Bildung der Grube durch eine vertikale Kontraktion der zentralen Müllerzellen; (2) Erweiterung der Foveagrube durch eine horizontale Kontraktion des astrozytären Netzwerkes in den Nervenfasern- und Ganglionzellschichten; dies bewirkt eine Schrägstellung der inneren Schichten der Foveawände und leitet die Bildung der Foveola ein; (3) Aufrichtung der inneren Schichten durch eine zentrifugale Kontraktion der seitlichen Müllerzellfortsätze in der äußeren plexiformen Schicht (OPL). Die hohe Dichte der Photorezeptoren in der Foveola wird durch eine zentripetale Verschiebung der Photorezeptorzellkörper in der äußeren nukleären Schicht (ONL) verursacht (s. **Abb. 2**). Diese Verschiebung wird vor allem durch eine Kontraktion von Müllerzellstrukturen bewirkt, die an der ÄLM die

Abbildung 1

■ Zwei Müllerzellpopulationen in der Fovea. Der Müllerzellkegel in der Foveola besteht aus speziellen Müllerzellen. Die Zellkörper und inneren Fortsätze dieser Zellen bilden die innerste Schicht der Foveola; die äußeren Fortsätze dieser Zellen bilden den vertikalen Stiel des Müllerzellkegels. Die Müllerzellen der Foveawände besitzen die charakteristische Z-Form. GCL, ganglion cell layer; ELM, external limiting membrane; HFL, Henle fiber layer; INL, inner nuclear layer; IPL, inner plexiform layer; MCL, Müller cell layer; OCF, outer cone cell fibers; ONL, outer nuclear layer; OPL, outer plexiform layer.



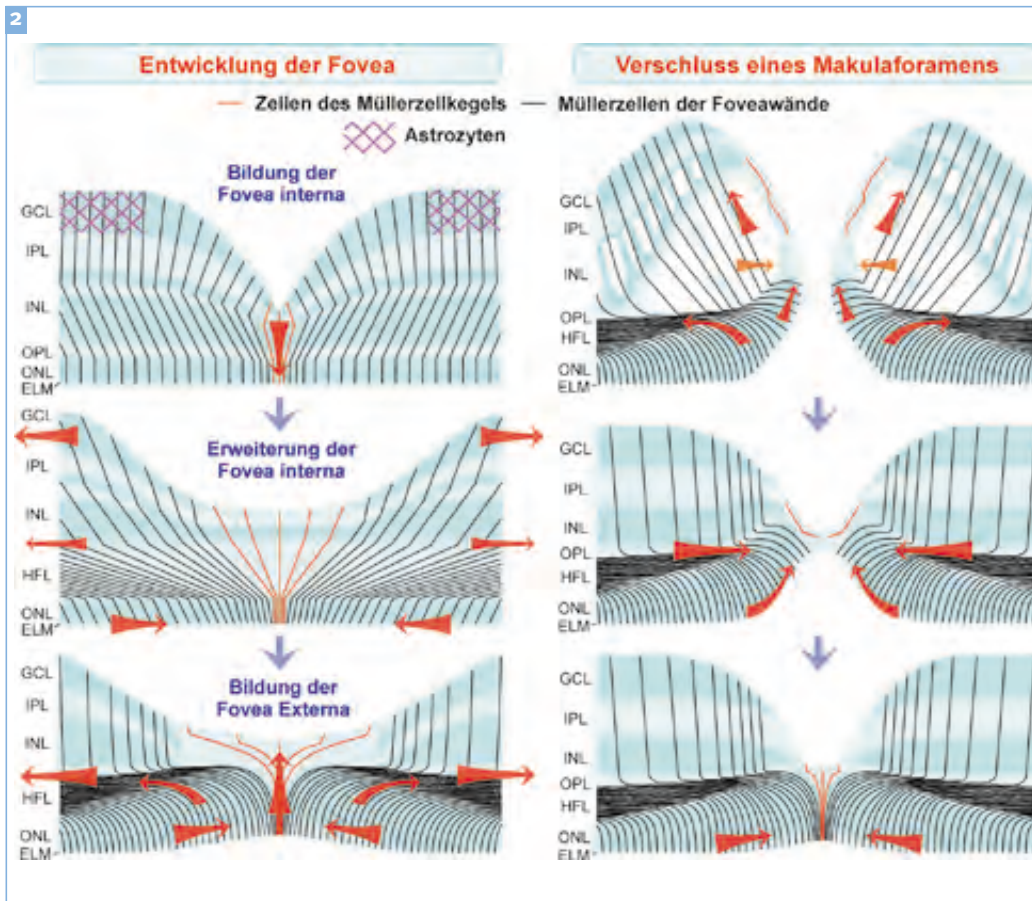


Abbildung 2

■ Ontogenetische Entwicklung der Fovea (links) und Verschluss eines Makulaforamens (rechts). ELM, external limiting membrane; GCL, ganglion cell layer; HFL, Henle fiber layer; INL, inner nuclear layer; IPL, inner plexiform layer; ONL, outer nuclear layer; OPL, outer plexiform layer;

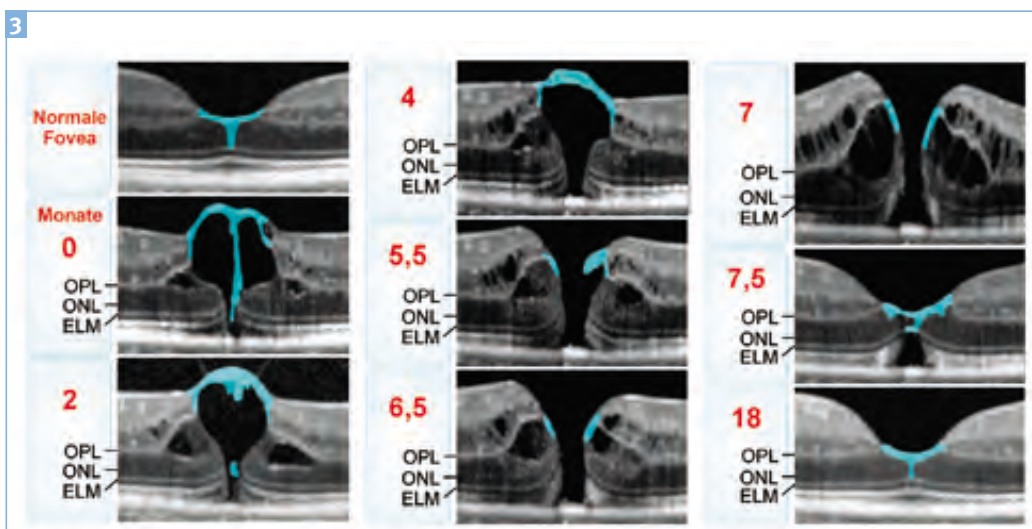


Abbildung 3

■ Bildung und spontaner Verschluss eines Makulaforamens bei einem 66-jährigen Mann. Die Anzahl der Monate nach der Erstuntersuchung sind links angeführt. Der Müllerzellkegel ist blau gefärbt. Die »normale Fovea« ist eine OCT-Aufnahme des gesunden kontralateralen Auges.

Photorezeptoren umgeben. Die Fovea externa wird durch zwei Mechanismen geformt (s. **Abb. 2**): (1) durch die zentrifugale Kontraktion der seitlichen Müllerzellfortsätze in der ÄPS wird ein Zug auf die Henlefasern ausgeübt; dieser Zug bewirkt auch die gekrümmte Anordnung der Reihen der Photorezeptorzellkörper in der zentralen ÄNS; (2) durch eine vertikale Kontraktion des Stiels des Müllerzellkegels in der Foveola.

PATHOLOGIE DER FOVEA

Müllerzellen spielen sowohl eine pathogene als auch eine regenerative Rolle bei Makulaerkrankungen wie zystoides Makulaödem und Bildung und Verschluss eines Makulaforamens. Ein Modus der Bildung eines Foramens ist die Abhebung der inneren Müllerzellschicht von der ÄNS in der Foveola durch vitreofovealen Zug (s. **Abb. 3**). Dadurch wird der vertikale Stiel des Müllerzellkegels gedehnt und zerrissen, und es bilden sich eine große Zyste in der Foveola und ein Spalt in der zentralen ÄNS. Durch das Herausreißen eines Teils der inneren Müllerzellschicht der Foveola entsteht das Foramen.

Ein Foramen kann sich spontan verschließen, vor allem auf der Höhe der ÄPS und des inneren Teils der ÄNS (s. **Abb. 3**). Eine Vergrößerung der Zysten in den Foveawänden kurz vor dem Verschluss bewirkt eine Verkleinerung des Durchmessers des Foramens auf der Höhe dieser Schichten. Der Verschluss geschieht durch eine Regeneration der inneren Müllerzellschicht und der ÄLM der Foveola und führt zu einer schnellen Auflösung der Zysten in den Foveawänden. Nach einer Latenzzeit kommt es zu einer Verdickung der zentralen ÄNS durch eine zentripetale Verschiebung der Photorezeptorzellkörper. Dies bewirkt eine Verkleinerung der Distanz zwischen der zentralen ÄLM und dem retinalen Pigmentepithel; diese Verkleinerung ist eine Voraussetzung für die Regeneration der zentralen Photorezeptorsegmente. Es wird angenommen, dass der Verschluss des Foramens und die Verschiebung der Photorezeptorzellkörper durch ähnliche (oder gegensätzliche) Kontraktionen von Müllerzellen bewirkt werden, wie sie auch bei der ontogenetischen Entwicklung eine Rolle spielen (s. **Abb. 2**).



Prof. Dr. Andreas Bringmann

Nach dem Studium der Biologie, Fachrichtung Tierphysiologie, an der Universität Leipzig, arbeitete Prof. Dr. Andreas Bringmann (Jg. 1960) auf dem Gebiet der systemischen Neurophysiologie. Seit 1996 beschäftigte er sich in der

Arbeitsgruppe von Prof. Dr. Andreas Reichenbach mit der Physiologie der Müllerzelle. Seit 2002 ist er Leiter des Forschungslabors der Klinik und Poliklinik für Augenheilkunde der Universität Leipzig.

KONTAKT



Prof. Dr. Andreas Bringmann

Klinik und Poliklinik für Augenheilkunde,
Medizinische Fakultät
der Universität Leipzig
Liebigstraße 10–14
04103 Leipzig
Tel. 0341/9721557
Fax 0341/9721659
E-Mail: bria@medizin.uni-leipzig.de

EINFACH. SICHER. KLAR.

Das zIOLens Preloaded System



- **Einfache** Anwendung und **kontrollierte** Implantation
- Asphärisches Design für konstant **scharfes Sehen**
- Hydrophobes Material und scharfe Optikkante für eine **geringe Nachstarbildung**



ziemer 
OPHTHALMOLOGY

DOG Berlin, 26.-28. September 2019

- Besuchen Sie uns an unserem Stand 244 in Halle 2 und informieren Sie sich über das Ziemer-Produktportfolio
- Besuchen Sie uns auch online unter: www.ziemerophthalmology.de

zIOLens
Preloaded

NEU auch bei uns erhältlich:



Die Vivinex Toric IOL

Manufactured for Ziemer by Hoya Surgical Optics.
Legal Manufacturer: HOYA Medical Singapore Pte. Ltd

Ein neuer Weg in der AMD/DR Supplementierung

Homocystein: Risikofaktor oder Causa?

Klinische Ergebnisse der Pilotstudie 2018

Prof. Garhöfer / Schmidl

Department of Clinical Pharmacology, Medical University Vienna

Hypothese bestätigt!



24 Patienten – 12 Wochen – eine Kapsel Ocufofin® täglich

Plasma Homocystein Werte sanken von 14.2 ± 9.3 auf 9.6 ± 6.6 $\mu\text{mol/L}$
Primärer Endpunkt, $p < 0.001$

■
Totaler retinaler Blutfluss stieg von 36.8 ± 12.9 auf 39.2 ± 10.8 $\mu\text{l/min}$
 $p = 0.11$; $n = 13$

■
Senkung des Intraokularen Drucks von 14.8 ± 3.0 auf 13.4 ± 2.2 mmHg
 $p = 0.02$



Sind Sie interessiert?

Die Lösung heisst

Ocufofin®

Besuchen Sie uns an der Industrieausstellung
Aprofol AG, Stand 206, Halle II



www.aprofol.com

High-Tech-Ophthalmologie zu Hause: Das Home-Care-OCT für AMD-Patienten

DR. CLAUD VON DER BURCHARD¹, HELGE SUDKAMP², DR. JAN TODE¹,
DR. CHRISTOPH EHLKEN¹, MORITZ MOLTMANN², MICHAEL MÜNST²,
DIRK THEISEN-KUNDE², PETER KOCH², PROF. DR. GEREON HÜTTMANN²,
PROF. DR. JOHANN ROIDER¹

**1 Universitätsklinikum
Schleswig-Holstein,**
Campus Kiel,
Klinik für
Ophthalmologie

**2 Medizinisches
Laserzentrum Lübeck**

Die altersbedingte Makuladegeneration (AMD) ist die häufigste Erblindungsursache der westlichen Welt mit weltweit 170 Millionen Erkrankten. In Deutschland leiden 4,2 Millionen Patienten an der AMD und davon 1,6 Millionen an der besonders aggressiven Unterform der feuchten AMD. Diese Form führt häufig zu einer schnellen und irreversiblen Sehverschlechterung, die das Lesen, Autofahren und das Erkennen von Gesichtern unmöglich machen kann und bis hin zur gesetzlichen Erblindung führt.

In den letzten Jahrzehnten ist durch die anti-VEGF-Therapie eine äußerst effiziente Behandlungsmöglichkeit verfügbar geworden, die das Fortschreiten der Erkrankung über viele Jahre hinweg erfolgreich aufhalten kann. Dementsprechend schnell hat sich diese Therapieform weltweit als Standard durchgesetzt. Allerdings bedeutet die Notwendigkeit der langjährigen regelmäßigen Injektionsbehandlung eine immense Belastung für die Patienten, sowohl durch die unangenehme Behandlung an sich, als auch durch die häufigen Augenarztbesuche. Häufig weitet sich die Belastung auch auf Angehörige der Patienten aus, die die Patienten zum Augenarzt begleiten müssen. Gleichzeitig ist das Gesundheitssystem durch die hohen Behandlungskosten (ca. 1.300 € pro Spritze, entspricht 15.000 € pro Jahr bei monatlicher Therapie) vor eine kaum zu bewältigende Aufgabe gestellt worden. Und nicht zuletzt bindet die intensive Therapie viele ophthalmologische Ressourcen; dementsprechend weniger Zeit steht für die Therapie anderer Krankheitsbilder zur Verfügung.

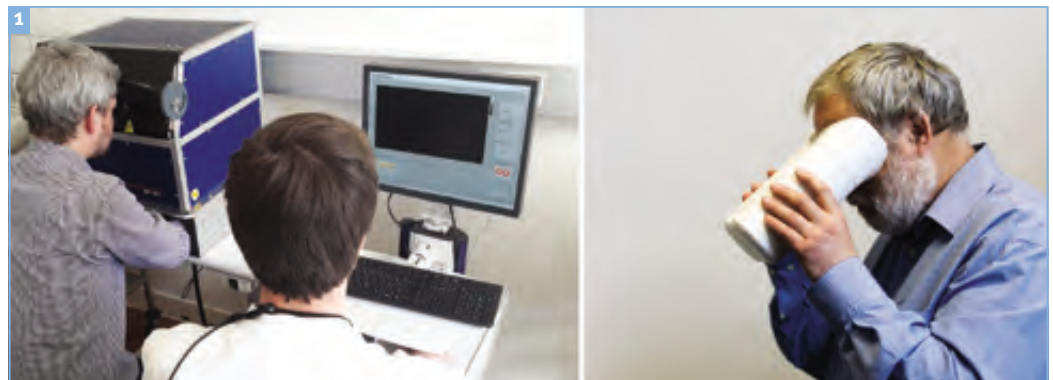
Daher ist das in den Zulassungsstudien benutzte feste monatliche Behandlungsintervall im Alltag nicht praktikabel. Vielmehr wird versucht, mittels verschiedener Behandlungsschemata möglichst bedarfsgenau die Injektionen zu geben. Die Notwendigkeit einer erneuten Injektion kann nicht mit ausreichender Sicherheit durch den Patienten selbst bemerkt werden, da subjektive Symptome unsicher sind und erst deutlich nach morphologischen Veränderungen einsetzen [1]. Auch eine konventionelle Netzhautfotografie reicht nicht aus, um sicher die Notwendigkeit einer neuen Injektion zu erkennen. Die einzige Möglichkeit zum Monitoring der AMD und anerkannter Goldstandard ist die optische Kohärenztomographie (OCT) [2].

Bei der OCT handelt es sich um ein nichtinvasives Bildgebungsverfahren, das eine dreidimensionale Darstellung der Netzhaut mit einer Auflösung von wenigen Mikrometern ermöglicht. Die Untersuchung ist für den Patienten nicht belastend und kann prinzipiell beliebig häufig wiederholt werden. Jedoch sind entsprechende OCT-Geräte aufgrund ihrer hohen technischen Komplexität bisher sehr teuer (ca. 50.000 €) und können nur von medizinischem Fachpersonal bedient werden.

Entsprechend müssen bisher OCT-Kontrollen der Netzhaut immer in Augenarztpraxen oder -kliniken durchgeführt werden. Derzeit werden hauptsächlich zwei verschiedene Therapie-Schemata angewendet: Pro re nata (PRN) und Treat and Extend (TAE). Beide

Abbildung 1

Durchführung einer Selbstmessung mittels des aktuellen Systems in der laufenden klinischen Studie (links) und einer Designstudie mit einem handgehaltenen Laborprototypen des Home-Care-OCTs.



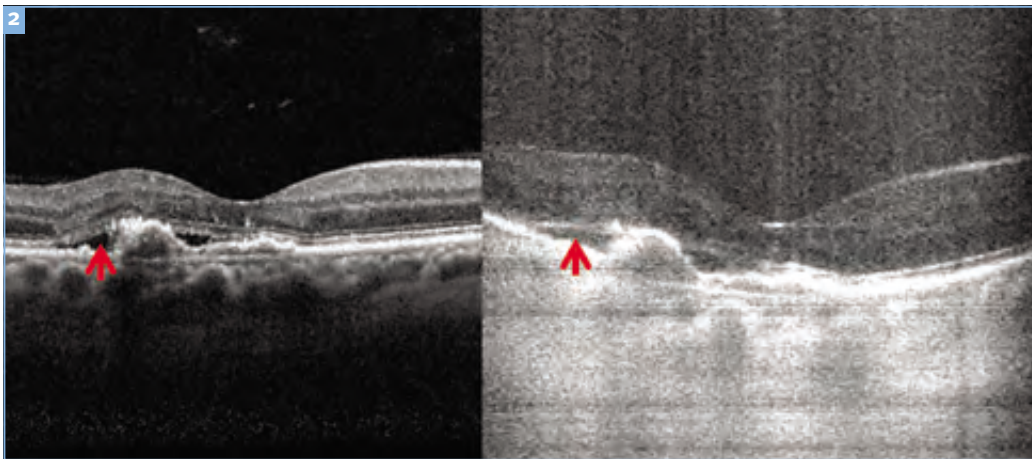


Abbildung 2

■ Vergleich einer OCT-Aufnahme desselben Patienten zwischen Klinikgerät (links) und Home-Care-OCT (rechts). Es zeigt sich insgesamt ein vermehrtes Rauschen, die relevante Flüssigkeitsansammlung (roter Pfeil) kann aber auf beiden Bildern gut dargestellt werden.

Therapie-Schemata versuchen anhand von OCT-Aufnahmen die Behandlungsnotwendigkeit vorherzusagen und die Therapie entsprechend zu steuern. Die Vor- und Nachteile der beiden Algorithmen werden ausgiebig diskutiert; beide Schemata können jedoch sowohl zur Über- als auch Untertherapie der AMD führen [3]. Nichtsdestotrotz führen diese Schemata zu einer deutlichen Patientenentlastung, zu einem verbesserten Risiko-Nutzen-Verhältnis und zu deutlichen Kosteneinsparungen. Es bleibt jedoch die Notwendigkeit des häufigen Patiententransports für die OCT-Untersuchung zum Augenarzt. Aufgrund dieser Belastung werden im Alltag die OCT-Kontrollen meistens nicht im vorgeschlagenen Abstand durchgeführt, was zu schlechteren Therapie-Ergebnissen führt.

Die Möglichkeit, eine OCT-Untersuchung zuhause durchführen zu können, würde mehrere Vorteile bieten: Nicht nur könnten unnötige Augenarztbesuche und die entsprechend aufwendige Anreise zum Augenarzt vermieden werden, sondern es könnte auch eine viel enger getaktete und damit bessere Kontrolle der Erkrankung geschehen. Statt anhand von festen Algorithmen den Therapiebedarf zu prädiktionieren, kann die Therapie direkt anhand der tatsächlichen Notwendigkeit gesteuert werden. Idealerweise ließen sich daher nicht nur die Patientenbelastung reduzieren, sondern gleichzeitig auch die Behandlungsergebnisse verbessern.

Jedoch ist eine Home-Care-Lösung mit den heutigen Klinikgeräten leider nicht möglich. Nicht nur sind diese viel zu teuer, sondern auch viel zu groß. Zudem fehlt die Möglichkeit der Selbstbedienung durch den Patienten. Zusammen mit dem Medizinischen Laser-

zentrum Lübeck (MLL) wird an der Universitätsaugenklinik Kiel an einer völlig neuartigen OCT-Technologie geforscht, welche kostengünstige Geräte zur Selbstuntersuchung ermöglichen soll. Mittels Parallelisierung und modernen CMOS-Kameras soll eine volumetrische OCT-Bildgebung extrem preisgünstig und kompakt gebaut werden [4]. Ziel ist, ein kompaktes handgehaltenes Gerät für unter 1.000 € zu realisieren.

In einer klinischen Studie wird derzeit die Handhabung und die Aufnahmequalität der neuen OCT-Technologie an Patienten getestet [5]. Dabei konnte bei den bisherigen Messungen die Mehrzahl der Patienten eine Selbstmessung erfolgreich durchführen. Die Bildqualität war gegenüber den teuren Klinikgeräten nur geringfügig schlechter und nach derzeitigem Kenntnisstand ausreichend, um zuverlässig eine Krankheitsaktivität zu erkennen.

Für die Zukunft sind Studien mit handgehaltenen Geräten, die den Patienten mit nach Hause gegeben werden, geplant. Gleichzeitig wird derzeit mit den Informatikern der Universitäten Kiel und Lübeck an Algorithmen geforscht, welche die Bilder des Home-Care-OCTs auswerten können. Die Kombination von handgehaltenen Geräten mit künstlicher Intelligenz ermöglicht ein Home-Care-Gerät, die langfristig das Management der AMD komplett revolutionieren könnte.

Des Weiteren wäre in Zukunft auch ein Einsatz der Home-Care-OCT-Technologie zum Management vieler anderer Netzhauterkrankungen denkbar, unter anderem bei Gefäßverschlüssen am Auge oder diabetischen Netzhauterkrankungen.

Gefördert durch das BMBF, Förderkennzeichen 13N13763.



LITERATUR

1. Bruender, M.-C., Benjamin, N., Agostini, H. T., Stahl, A. & Ehlken, C. Subjective evaluation of visual acuity is not reliable to detect disease activity in different exudative maculopathies. *Graefes Arch. Clin. Exp. Ophthalmol.* 256, 1565–1571 (2018).
2. Deutsche Ophthalmologische Gesellschaft. Die Anti-VEGF-Therapie bei der neovaskulären altersabhängigen Makuladegeneration – therapeutische Strategien: Stellungnahme der Deutschen Ophthalmologischen Gesellschaft, der Retinologischen Gesellschaft und des Berufsverbandes der Augenärzte Deutschlands – November 2014. *Der Ophthalmologe* 112, 237–245 (2015).
3. Wykoff, C. C. et al. Prospective Trial of Treat-and-Extend versus Monthly Dosing for Neovascular Age-Related Macular Degeneration. *Ophthalmology* 122, 2514–2522 (2015).
4. Sudkamp, H. et al. In-vivo retinal imaging with off-axis full-field time-domain optical coherence tomography. *Opt Lett* 41, 4987–4990 (2016).
5. Burchard, C. von der et al. Low-Cost Home-Care OCT for AMD with Off-Axis Full-Field Time-Domain OCT – Analysis of Reliability and Feasibility in Disease Monitoring. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 59, 4484–4484 (2018).

Dr. Claus von der Burchard studierte in Kiel und Göttingen und ist seit 2014 Assistenzarzt an der Universitätsaugenklinik Kiel. Forschungsschwerpunkt ist die optische Kohärenztomo-

graphie und die retinale Lasertherapie. Seit 2015 erforscht er im Rahmen des BMBF-Projekts »RETOME« innovative OCT-Technologien für den Heimbereich.

KONTAKT



Dr. Claus von der Burchard
 Universitätsklinikum Schleswig-Holstein,
 Campus Kiel
 Klinik für Ophthalmologie
 Arnold-Heller-Straße 3
 24105 Kiel
 Tel. 0431 / 500-24387
 Fax 0431 / 500-24208
 E-Mail: Claus.vonderBurchard@uksh.de

Schneller MultiSpot Scanning Netzhaut-/Glaukom Laser von Meridian – Valon



Lasereinkopplung



15-Zoll Touchscreen



Smart Wahlschalter

- Wahlweise 532nm oder 577nm; CW und gepulst; Einzelspot und MultiSpot Scanning
- Gepulste Lasertrabekuloplastik
- Lasereinkopplung in den Spaltmechanismus der Haag-Streit 900BM/BQ oder Haag-Streit Typ Spallampen
- Maximale Sicht in die äußere Fundusperipherie
- Schneller MultiSpot Scanning Laser für kurze Gesamtbehandlungszeiten
- Shortpulse®, kürzeste Belichtungszeit 10µs
- Selbsterklärende Bedieneroberfläche für die direkte Einstellung der Parameter

In Kombination mit dem disruptiven Nd:YAG Laser,
Modell MR 6 von Meridian: **Der kompakte Alleskönner**

Kundenorientiert. Kompetent. Auf dem neusten Stand.

Aktuelle Entwicklungen in der Glaukumforschung – Kontinuierliche, berührungslose Messung des Augeninnendrucks mit einem implantierbaren Drucksensor

DR. MED. LARS CHORITZ¹, JACQUELINE VAN DEN BOSCH¹, VINCENZO PENNISI¹, KHALDOON AL-NOSAIRY¹, PROF. DR. RER. NAT. MICHAEL HOFFMANN¹, PROF. DR. MED. HAGEN THIEME¹

1 Universitätsaugen-
klinik Magdeburg

Unser Wissen um die komplexen Pathomechanismen der Ganglienzellschädigung beim Glaukom ist in den vergangenen Jahren und Jahrzehnten erheblich angewachsen. Bekannte Einflussgrößen reichen von der Sehnervenkopfdurchblutung über Dicke und mechanische Eigenschaften der Lamina cribrosa, oxidativen Stress, hin zu Autoimmunprozessen, Veränderungen des axonalen Transports, astrozytenbedingte Gliose und zur Identifikation krankheitsbeeinflussender Gene in allen Abschnitten des Auges. Trotz dieser spannenden und wichtigen Erkenntnisse, zielen jedoch heute sämtliche klinisch relevanten Therapieoptionen letztlich auf eine Senkung des Augeninnendrucks ab, und therapeutische Entscheidungen werden in nicht geringem Maß vom Augeninnendruck beeinflusst. Ein individuell zu hoher Augeninnendruck stellt mithin den wichtigsten pathogenetischen und derzeit einzigen beeinflussbaren Risikofaktor für die Entstehung und Progression der verschiedenen Formen des Glaukoms dar.

Seit langem ist bekannt, dass der Augeninnendruck (IOD) keine statische Größe ist, sondern sowohl kurz- als auch langfristigen Schwankungen unterliegt. Es gibt Hinweise darauf, dass nicht nur der durchschnittliche Augeninnendruck, sondern auch die Schwankungsbreite und die maximal auftretenden Druckwerte Einfluss auf den Erkrankungsverlauf beim Glaukom haben können [1]. Es hat sich in Studien dabei unter anderem gezeigt, dass ein Großteil der Höchstwerte außerhalb der normalen Sprechzeiten von Ophthalmologen auftreten [2, 3], und dass im Tagesverlauf teilweise Schwankungen

von über 12 mmHg auftreten können [4]. Vor diesem Hintergrund erscheint die klinisch etablierte, quartalsweise Erhebung eines einzelnen Messwerts zur Therapiekontrolle beim Glaukom als unzulänglich. Da die Messung des Augeninnendrucks jedoch in der Regel qualifiziertes, im Umgang mit den etablierten Messgeräten geschultes medizinisches Personal erfordert, ist eine Erhöhung der Messfrequenz mit konventionellen Messmethoden nur schwer zu erzielen. Dringend notwendig sind daher Verfahren, die analog zur Blutdruck- oder Blutzuckermessung sowohl eine Selbstmessung durch den Patienten, als auch automatische Langzeitmessungen ermöglichen.

SELBSTMESSUNG DES IOD

In den vergangenen Jahren sind vielversprechende Ansätze für die Selbstmessung des Augeninnendrucks entwickelt worden. Ein handgehaltenes Rebound-Tonometer (Icare® HOME, Icare Finland Oy, Finland) wurde in Studien bereits erfolgreich im häuslichen Umfeld von Patienten eingesetzt, mit brauchbarer Übereinstimmung der Messwerte mit konventioneller Goldmann-Appplanationstonometrie [5, 6]. Allerdings zeigte sich in diesen Studien, dass nur rund 75 % der Patienten den korrekten Umgang mit dem Gerät erlernen konnten, insgesamt waren die Messungen aufgrund der nicht ganz einfachen Handhabung fehleranfällig [6]. Zudem können die Messungen nur am aufrechten, wachen Patienten mit geöffneten Augen durchgeführt werden. Pati-



Abbildung 1

a) Platzierung des Sensors im Sulcus ciliaris;
b) berührungslose Selbstmessung mit Handlesegerät; **c)** externe Antenne für automatische Messungen

entenuabhängige, langfristige Messungen, die auch in anderen Körperlagen und bei geschlossenen Augen im Schlaf automatisch erhoben werden können, verspricht ein kontaktlinsenbasiertes System, das mutmaßlich druckbedingte Änderungen des korneoskleralen Übergangs mittels Dehnungssensoren erfassen soll (Triggerfish®, Sensimed AG, Lausanne, Schweiz) [7]. Da sich die Messungen bauartbedingt jedoch nicht mit konventionell gemessenen Augeninnendruckwerten abgleichen lassen und wahrscheinlich neben dem Augeninnendruck auch andere Parameter Einfluss auf den korneoskleralen Winkel haben, eignet sich das System nur bedingt zum Monitoring des Augeninnendrucks.

IMPLANTIERBARER IOD-SENSOR

Eine neuere Alternative stellt ein implantierbarer, dauerhaft im Auge verbleibender Drucksensor dar, der kürzlich eine CE-Zertifizierung erhalten hat, und in derzeit noch andauernden Studien der Universitätsaugenklinik Magdeburg untersucht wird (eyemate®, Implantsdata Ophthalmic Products GmbH, Hannover, Deutschland). Das Implantat wird bei Glaukompatienten in einem Kombinationseingriff nach klinisch indizierter Phakoemulsifikation und Kunstlinsenimplantation im Sulcus ciliaris platziert (Abb. 1a). Die Energieversorgung des batterielosen Sensors erfolgt berührungslos mittels elektromagnetischer Kopplung durch ein vor das Auge gehaltenes Handlesegerät, das beim Patienten verbleibt. Dieser kann somit jederzeit seinen Augeninnendruck berührungslos und anwendungsfehlerfrei selbst messen (Abb. 1b).

Mithilfe einer außen am Auge angebrachten Antenne (Abb. 1c) lässt sich der Sensor auch in festgelegten Intervallen über 24 h automatisch aktivieren. Die Datenübertragung erfolgt ebenfalls kabellos an eine vom betreuenden Augenarzt einsehbare Datenbank [8–10]. Während der Zulassungsstudie zeigten sich die durch Selbstmessung erfassten täglichen Druckschwankungen bei vielen Patienten als relativ stabil und reproduzierbar über einen Zeitraum von mehreren Wochen, mit vergleichbaren Druckverläufen von Tag zu Tag. Dies bestätigt frühere Arbeiten von Mansouri et al. [11]. Die Selbstmessungen während der 12 Monate nach Implantation zeigten auch, dass Effekte von Medikamentenwechseln gut nachvollziehbar waren (Abb. 2). Ohne explizit dazu aufgefordert worden zu sein, maßen viele der Studienpatienten ihren IOD regelmäßig vor und 1–2 Stunden nach Applikation ihrer Glaukommedikation. Die Mehrzahl der Studienpatienten machte dabei die Erfahrung, dass die Medikation einen direkt messbaren drucksenkenden Effekt hatte, was bei den Patienten anamnestisch zu einer besseren Therapietreue führte [9]. Diese Beobachtung soll in weiteren Studien genauer untersucht werden.

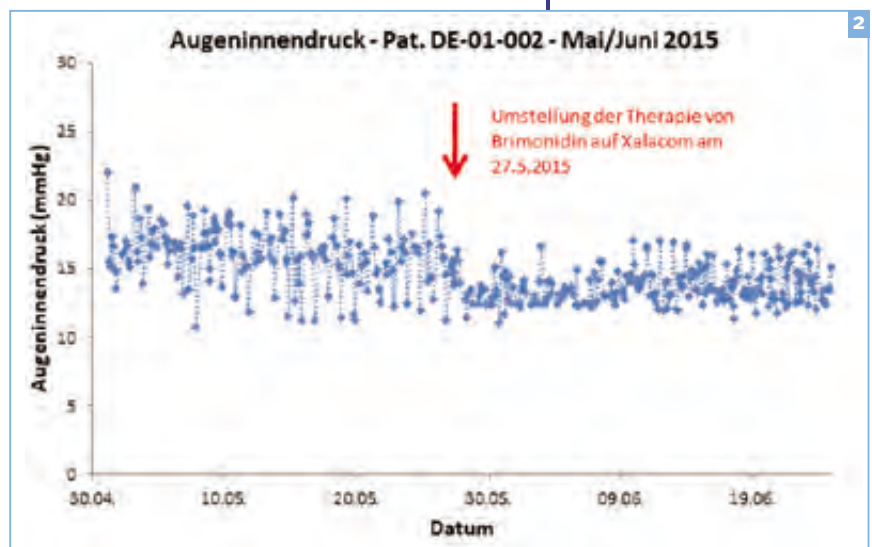


Abbildung 2

Der Patient hatte im Verlauf unter seiner Standard-Therapie mit Brimonidin stark schwankende, und für ihn tendenziell zu hohe Augeninnendrucke ($16,0 \pm 2,1$ mmHg, Range: 10,8 – 22,0). Nach Umstellung auf 1x tägliche Gabe von Xalacom pendelte sich der IOD auf einem deutlich niedrigeren Niveau ($13,7 \pm 1,2$) und mit geringerer Schwankungsbreite (Range: 11,0 – 17,0 mmHg) ein.

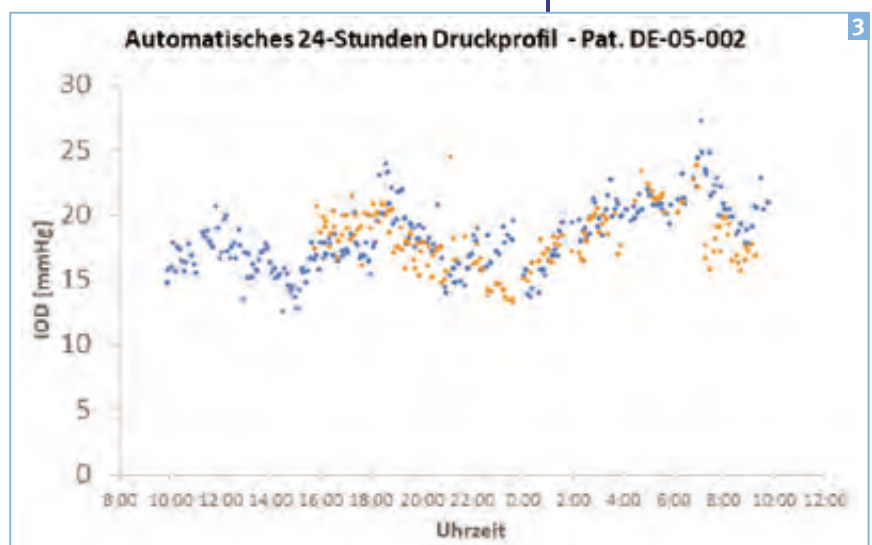


Abbildung 3

Automatisches 24-Stunden Druckprofil eines Patienten mit Messintervall von 5 Minuten an zwei aufeinander folgenden Tagen. Bemerkenswert ist die bei den meisten Patienten beobachtete Reproduzierbarkeit des Druckprofils.

4. Hughes E., Spry P., Diamond J. 24-Hour Monitoring of Intraocular Pressure in Glaucoma Management: A Retrospective Review. *J Glaucoma*. 2003; 12 (3): 232–236.
5. Cvenkel B., Atanasovska Velkovska M. Self-monitoring of intraocular pressure using Icare HOME tonometry in clinical practice. *Clin Ophthalmol Auckl NZ*. 2019; 13: 841–847. doi: 10.2147/OPHTH.S198846.
6. Dabasia P.L., Lawrenson J.G., Murdoch I.E. Evaluation of a new rebound tonometer for self-measurement of intraocular pressure. *Br J Ophthalmol*. 2016; 100 (8): 1139–1143. doi: 10.1136/bjophthalmol-2015-307674.
7. Mansouri K., Shaarawy T. Continuous intraocular pressure monitoring with a wireless ocular telemetry sensor: initial clinical experience in patients with open angle glaucoma. *Br J Ophthalmol*. 2011; 95 (5): 627–629. doi: 10.1136/bjo.2010.192922.
8. Koutsonas A., Walter P., Roessler G., Plange N. Implantation of a novel telemetric intraocular pressure sensor in patients with glaucoma (ARGOS study): 1-year results. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2015; 56 (2): 1063–1069. doi: 10.1167/iovs.14-14925.
9. Choritz L., Thieme H. Telemetric IOP measurement via implantable pressure sensor – 12 month results from the ARGOS-02 trial. *Ophthalmol*. 2017; 114 (2): 56. doi: 10.1007/s00347-017-0551-6 – Meeting Abstract.
10. Enders P., Hall J., Bornhauser M., et al. Telemetric Intraocular Pressure Monitoring after Boston Keratoprosthesis surgery with the Eyemate-IO Sensor: Dynamics in the first year. *Am J Ophthalmol*. March 2019. doi: 10.1016/j.ajo.2019.02.025.
11. Mansouri K., Medeiros F.A., Tafreshi A., Weinreb R.N. Continuous 24-hour monitoring of intraocular pressure patterns with a contact lens sensor: safety, tolerability, and reproducibility in patients with glaucoma. *Arch Ophthalmol Chic Ill 1960*. 2012; 130 (12): 1534–1539. doi: 10.1001/jamaophthalmol.2013.1350.
12. Choritz L., Weigel M., Wagner M., Thieme H. Automatische Nachmessungen und »online«-Messungen des Augeninnendrucks mit dem Eyemate-IO. *Ophthalmol*. 2016; 113 (2): 41. doi: 10.1007/s00347-016-0324-7 – Meeting Abstract.
13. Koutsonas A., Walter P., Kuerten D., Plange N. Automated, Noncontact Intraocular Pressure Home Monitoring after Implantation of a Novel Telemetric Intraocular Pressure Sensor in Patients with Glaucoma: A Feasibility Study. *BioMed Res Int*. 2018; 2018: 4024198. doi: 10.1155/2018/4024198.
14. Choritz L., Pennisi V., van den Bosch J., Thieme H. Einfluss verschiedener physiologischer Parameter auf den Augeninnendruck während simulierter Alltagsaktivitäten – Vorläufige Ergebnisse einer Pilotstudie mit dem EYEMATETM. *Ophthalmol*. 2018; 115 (1): 27. doi: 10.1007/s00347-018-0760-7 – Meeting Abstract.
15. Pennisi V., van den Bosch J., Thieme H., Choritz L. Simultaneous non-invasive measurements of intraocular pressure (IOP) and intracranial pressure (ICP) changes in different body positions. *Ophthalmol*. 2018; 115 (1): 150. doi: 10.1007/s00347-018-0760-7 – Meeting Abstract.
16. van den Bosch J., Pennisi V., Thieme H., Choritz L. Effect of gaze direction on intraocular pressure in glaucoma patients using a novel implantable intraocular sensor. *Ophthalmol*. 2018; 115 (1): 150. doi: 10.1007/s00347-018-0760-7 – Meeting Abstract.
17. Al-Nosairy K., van den Bosch J., Pennisi V., Thieme H., Choritz L., Hoffmann M.B. Seitenlagerung als Modell zum Studium der Interaktion von Augeninnendruck und Ganglienzellfunktion bei Offenwinkelglaukom. *Klin Monatsblätter Für Augenheilkd. Supplement*. – in press.

Dr. med. Lars Choritz studierte Medizin an der Freien Universität Berlin und arbeitete anschließend in der ophthalmologischen Grundlagenforschung an der Universitätsaugenklinik Mainz, wo er promovierte und zu Themen wie Trabekelmaschenwerkstoffkontraktilität, Wundheilung nach Glaukomchirurgie, sowie Oberflächenmodifikationen von Glaukom-Drainage-Implantaten publizierte. Die Ausbildung zum Facharzt für Augenheilkunde erfolgte von 2013–2018 an der Universitätsaugenklinik Magdeburg. Dr. Choritz leitet dort heute ein Grundlagenlabor, koordiniert einen großen Teil der klinischen Studien der Augenklinik und ist als Lehrverantwortlicher in die Studentenausbildung involviert. Seine Forschungsinteressen beziehen sich weiterhin vor allem auf Diagnostik und Therapie der Glaukome.

Dr. med. Lars Choritz

Koordinator für klinische Studien
 Leiter der Sektion Zellbiologie und
 Ophthalmo-Pharmakologie
 Universitätsaugenklinik Magdeburg
 Leipziger Straße 44
 39120 Magdeburg
 Tel. 0391 / 67-21735 (Büro)
 Fax 0391 / 67-290340
 E-Mail: lars.choritz@med.ovgu.de



KONTAKT



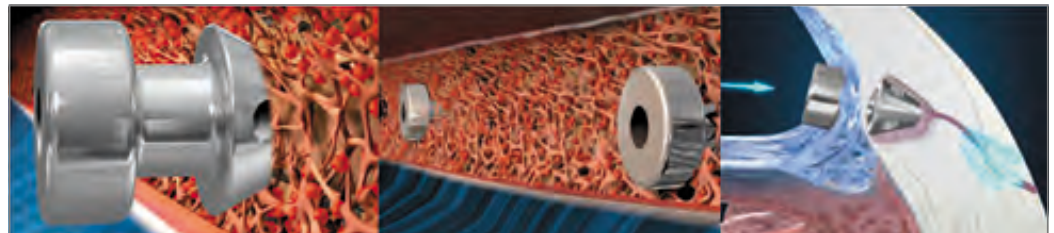
Mikroinvasive Glaukomchirurgie (MIGS) mit der iStent-Technologie

Sicherheit und Wirksamkeit in Studien belegt

Bislang verlief der typische Weg eines Glaukopatienten von der medikamentösen Einfachtherapie, über Mehrfachtherapien und Lasereingriffe zur filtrierenden Glaukomchirurgie. Nicht nur die additiven Nebenwirkungen der Mehrfachtherapie, auch die mangelnde Adhärenz und Persistenz der Patienten sowie das Komplikationsrisiko der herkömmlichen Glaukomchirurgie begründen neue mikroinvasive Verfahren. Die mikroinvasive Glaukomchirurgie mit trabekulären Stents hat daher einen festen Platz im Therapiespektrum des Offenwinkelglaukoms eingenommen.

Abbildung

Bei korrekter Platzierung befindet sich die Einflussöffnung des Stents in der Vorderkammer, der mittlere Teil sitzt im Trabekelwerk und die Spitze mit den 4 Ausflussöffnungen im Schlemm'schen Kanal.



MIGS-Eingriffe definieren sich über eine ab interno Mikroinzision, eine gute Wirksamkeit bei einem günstigen Sicherheitsprofil sowie über ein minimales Trauma, das eine schnelle Rehabilitation mit minimalem Einfluss auf die Lebensqualität des Patienten gewährleistet.

Innerhalb der MIGS-Kategorie spielt die iStent-Technologie von Glaukos eine führende Rolle. Weltweit wurden insgesamt bisher über 500 000 Stents implantiert. Wirksamkeit und Sicherheit sind durch mehr als 100 wissenschaftliche Beiträge in Peer Review Zeitschriften dokumentiert. In Deutschland ist die neueste iStent-Generation, das iStent *inject*-System, verfügbar.

Bei iStent *inject* handelt es sich um ein trabekuläres Mikro-Bypass-System. Es besteht aus zwei in einem sterilen Einmalinjektor vorgeladenen Mikrostensts. Die Stents sind aus Heparin-beschichtetem, nicht-ferromagnetischem medizinischem Titan. Sie sind 360 µm lang und haben einen Durchmesser von 230 µm. Damit ist der iStent *inject* das derzeit kleinste beim Menschen eingesetzte Medizinprodukt.

Das Funktionsprinzip beruht auf einer Umgehung des Trabekelmaschenwerkes zur Verbesserung des Kammerwasserabflusses. Unter gonioskopischer Visualisierung werden zwei Stents im Abstand von 30–40° nasal unten in das pigmentierte Trabekelmaschenwerk implantiert. Bei korrekter Platzierung befindet sich die Einflussöffnung des Stents in der Vorderkammer, der mittlere Teil sitzt im Trabekelwerk und die Spitze mit den 4 Ausflussöffnungen im Schlemm'schen Kanal.

Die Implantation kann sowohl als alleiniger Eingriff, als auch in Verbindung mit einer Kataraktoperation durchgeführt werden. Besonders Patienten, bei denen trotz medikamentöser Mehrfachtherapie der Zieldruck

nicht erreicht wird sowie Patienten mit mangelnder Compliance oder Schwierigkeiten bei der Tropfenapplikation und solche mit Unverträglichkeitsreaktionen profitieren von der effektiven Drucksenkung und der häufig damit verbundenen Reduktion der Medikamentenbelastung.

Wirksamkeit und Sicherheit sind in zahlreichen wissenschaftlichen Untersuchungen dokumentiert:

Bei *L. Voskanyan et al.* hatten in einer paneuropäischen Multicenterstudie 66 % der 99 mit einem iStent *inject* versorgten Augen nach 1 Jahr ohne antiglaukomatöse Medikamente einen Augeninnendruck von 18 mmHg oder darunter [1].

Langzeitergebnisse von *T. Neuhann et al.* zeigten nach 5 Jahren noch eine Augeninnendrucksenkung von 38 % gegenüber dem Ausgangswert. Die durchschnittliche Anzahl der verwendeten Antiglaukomatosa verringerte sich um 1,5 [2].

In einer aktuellen Arbeit stellten *F.H. Hengerer et al.* 3-Jahresdaten zum iStent *inject* im Stand alone-Verfahren vor.

97 % der Patienten hatten danach IOD-Werte ≤ 18 mmHg, die durchschnittliche Medikamentenbelastung verringerte sich um 82 % im Vergleich zum Ausgangswert [3].

In einer Metaanalyse von *R.H. Healy et al.* wurden die Daten von insgesamt 648 Augen aus 11 Studien zur iStent-Technologie im „Stand alone Verfahren“ analysiert. Der Follow-up betrug zwischen 6 Monate und bis zu 5 Jahre. Die mittlere IOD-Senkung nach 12 Monaten betrug 33 %, nach 60 Monaten 25 %. Die durchschnittliche Anzahl an Medikamenten verringerte sich nach 12 Monaten um 1 Medikament [4].

Literatur

1. Voskanyan L., Garcia-Feijó J., Belda J.I. et al. (2014) *Adv Ther* 31: 189–201.
2. Neuhann T.H., Hornbeak D.M., Neuhann R.T., Giamporcaro J.E. (2019) *J Cataract Refract Surg* 45: 312–320.
3. Hengerer F.H., Auffarth G.U., Riffel C., Conrad-Hengerer I. (2019) *Adv Ther* 36: 1606–1617.
4. Healy R.H. et al. (2018) Poster presented at American Academy of Ophthalmology, Chicago, USA.

KONTAKT

Glaukos Germany GmbH
Gustav-Stresemann-Ring 1
65189 Wiesbaden
Tel.: +49 (0)611 9777-4403
Fax: +49 (0)611 9777-4404
kontakt@glaukos.com
www.istent.de
www.glaukos.com

iStent
inject®



iStent
inject® w..



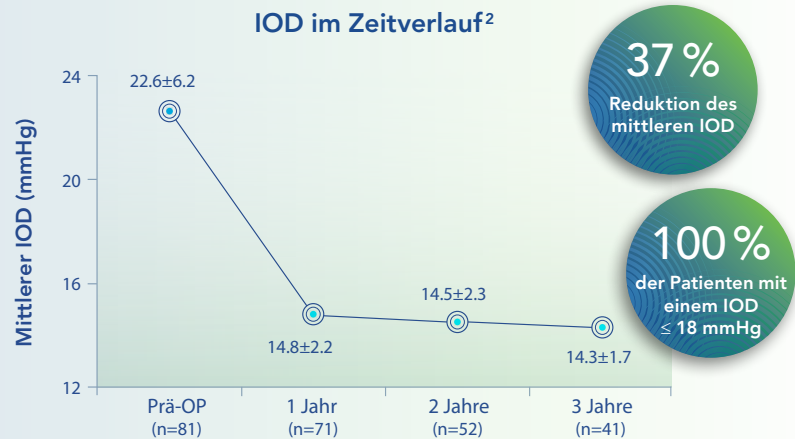
EVOLVING DESIGN.
ADVANCING PREDICTABILITY.

COMING SOON

INNOVATIONEN IN DER MICRO-INVASIVE GLAUCOMA SURGERY

Sicherheit und Wirksamkeit in Studien belegt

- **Ausgezeichnetes Sicherheitsprofil**
Vergleichbar mit Kataraktchirurgie¹
- **Langfristige signifikante IOD-Senkung**
- **Über 500.000 Implantationen mit der iStent-Technologie**



Das Prinzip



iStent *inject*® erlaubt die einfache micro-invasive Implantation von zwei vorgeladenen trabekulären Mikro-Bypass Stents in den Schlemmschen Kanal:

- Kleinstes bekanntes Medizinprodukt zur Implantation beim Menschen
- Das gezielte Platzieren der Stents hilft, den konventionellen Abfluss dauerhaft wiederherzustellen³

Die Patientenselektion

- Phake oder pseudophake Patienten mit mildem bis moderatem primärem Offenwinkelglaukom, Pseudoexfoliationsglaukom oder Pigmentglaukom
- Cup / Disc-Ratio 0.5 – 0.8
- IOD bis 30 mmHg unter Medikation
- Postoperativer Zieldruck bis 15 mmHg

Referenzen

1. iStent *inject*® Trabecular Micro-Bypass System: Directions for Use, Part # 45-0176
2. Hengerer FH. Personal experience with second-generation trabecular micro-bypass stents in combination with cataract surgery in patients with glaucoma: 3-year follow-up. ASCRS 2018 Presentation
3. Brubaker RF. The flow of aqueous humor in the human eye. *Trans Am Ophthalmol Soc.* 1982;80:391-474

© 2019 Glaukos Corporation. iStent *inject*® und Glaukos sind eingetragene Warenzeichen der Glaukos Corporation.
Glaukos Germany GmbH, Gustav-Stresemann-Ring 1, 65189 Wiesbaden 410-0314-2016-GER Rev. 1

GLAUKOS®
Transforming Glaucoma Therapy

www.glaukos.com www.istent.de

Neue Strategien zur Therapie von Erkrankungen der Hornhaut und Augenoberfläche: Anti- und Prolymphangiogenese

DR. RER. NAT. THOMAS CLAHSEN¹, DR. RER. NAT. MARIA NOTARA^{1,2},
 PRIV.-DOZ. DR. MED. DR. NAT. MED. DENIZ HOS^{1,2}, FEBO
 PRIV.-DOZ. DR. RER. NAT. FELIX BOCK^{1,2},
 PROF. DR. MED. CLAUDIUS CURSIEFEN^{1,2} FEBO

**1 Zentrum für
 Augenheilkunde**
 Uniklinik Köln

**2 Zentrum für
 Molekulare Medizin
 Köln (ZMMK)**
 Uniklinik Köln

Die Hornhaut als »Windschutzscheibe« des Auges ist unter normalen Bedingungen frei von Blut- und Lymphgefäßen [1], wodurch die Transparenz der Hornhaut gewährleistet wird. Die aus der Bindehaut austretenden Blut- und Lymphgefäße enden am Limbus, dem Übergangsbereich zwischen der dicht vaskularisierten Bindehaut und der avaskulären Hornhaut. Um die limbale Barriere und die Hornhautavaskularität aufrechtzuerhalten, muss ein dynamisches Gleichgewicht von Aktivatoren und Inhibitoren der (Lymph)angiogenese vorhanden sein.

Inzwischen weiß man, dass für die Aufrechterhaltung des Blut- und Lymphgefäßfreien Zustands der Hornhaut das Hornhautepithel eine zentrale Rolle spielt. Die Epithelzellen der Hornhaut werden durch limbale Stammzellen kontinuierlich erneuert. Diese limbalen Stammzellen tragen auch erheblich zur Aufrechterhaltung der Transparenz der Hornhaut bei. Ohne diese Zellen würde die Hornhaut eintrüben und damit die Sehkraft eingeschränkt werden [2].

In physiologisch vaskularisierten Geweben spielen Lymphgefäße eine wichtige Rolle bei der Gewebekomöostase und der Immunüberwachung. Darüber hinaus sind sie auch an pathologischen Zuständen wie chronischen Entzündungen, Infektionen oder Verätzungen, beteiligt, wobei das Gleichgewicht zwischen fördernden und hemmenden Faktoren der Angiogenese gestört wird [3]. In der normalerweise avaskulären Hornhaut führt dies zum Einwachsen von Blut und Lymphgefäßen. In der Hornhaut erhöht das Einwachsen von Lymphgefäßen das Risiko für Immunreaktionen nach Hornhauttransplantation [3].

Bisher wurden schon verschiedene anti-(lymph) angiogene Behandlungsstrategien, die speziell auf den VEGF-Signalweg an der Hornhaut abzielen, wie Aflibercept, Bevacizumab, Ranibizumab [4–7], getestet. Bevacizumab wird off-label bereits in der Klinik nach Hornhauttransplantation angewendet [8, 9]. Momentan sind jedoch klinisch keine Behandlungsstrategien verfügbar, um spezifisch die Lymph-

angiogenese, die maßgeblich für eine Abstoßungsreaktion ist [10], zu modulieren [11, 12]. Es ist daher erforderlich, weitere Modulatoren der Lymphangiogenese zu identifizieren, die das Risiko einer Transplantatabstoßung verringern.

In diesem Artikel sollen unsere Ansätze zum besseren Verständnis der einzelnen Mechanismen und unsere Bemühungen zur Etablierung neuer anti- und prolymphangiogener Strategien dargestellt werden.

ROLLE VON LIMBALEN STAMMZELLEN BEI DER LYMPHANGIOGENESE

Ein intaktes Hornhautepithel ist nicht nur für die Transparenz, sondern auch für die Lichtbrechung notwendig. Daher wird die Epithelschicht ständig von ruhenden limbalen Stammzellen erneuert. Nach einer Verletzung teilen sich jedoch die limbalen Epithelzellen, die sich in der Basisschicht des Limbus befinden, und die transient amplifizierenden Zellen (TA-Zellen) migrieren zu dem Standort, an dem sie benötigt werden [2]. Obwohl ein spezifischer limbalen Stammzellmarker bisher noch nicht identifiziert wurde, konnte die Expression einer Reihe von Markern mit dem Phänotyp limbalen Stammzellen in Verbindung gebracht werden – einschließlich p63 α und ABCB5 (Mitglied der ABC-Transporter) [2].

Die Hornhaut schützt das Auge auch vor Sonneneinstrahlung, indem sie einen Großteil der Strahlung blockiert und nur das sichtbare Licht hindurch lässt [13]. Aufgrund ihrer Krümmung ist die Hornhaut jedoch unterschiedlich zugänglich für UV-Strahlen und es kommt im Bereich des nasalen Limbus vergleichsweise zu einer 20-fachen Fokussierung des Lichts [14]. Daraus resultierende Verletzungen oder Schädigungen der limbalen Stammzellen durch UV-Strahlen können sich dann nachteilig auf das Sehvermögen auswirken. Der genaue zugrundeliegende Mechanismus ist jedoch noch nicht bekannt. Es wird vermutet, dass UV-Schäden an den limbalen Stamm- oder Nischenzellen, wie den limbalen Fibroblasten, die Nischenfunktion und den Stammzell-

Finanzierung

Diese Projekte werden unterstützt von der Deutschen Forschungsgemeinschaft (DFG) im Rahmen der Forschergruppe an der Kölner Uniaugenklinik FOR2240 »(Lymph-) Angiogenese und zelluläre Immunität bei entzündlichen Erkrankungen des Auges«: CL751/1-1 (TC), NO 1395/1-1 (MN), HO 5556/1-2 (DH), BO4489/1-2 (FB) und CU47/9-1 (CC). Mehr Informationen unter: www.for2240.de und www.augenklinik.uk-koeln.de

len-Phänotyp beeinflussen können. Vor kurzem konnten wir zeigen, dass die kurzzeitige Bestrahlung von limbalen Fibroblasten mit UV-A zu einer reduzierten Sekretion von entzündungsfördernden, Makrophagen rekrutierenden Zytokinen, sowie pro häm- und pro lymphangiogenen Wachstumsfaktoren führt [15]. Darüber hinaus induziert die Bestrahlung von limbalen Epithelzellen mit UV-B die Hochregulation von entzündlichen Mediatoren wie $TNF\alpha$ und MCP-1 und reduziert die Expression von angiogenen Wachstumsfaktoren VEGF-A und VEGF-C in diesen Zellen [16]. Weiter konnten wir zeigen, dass UV-B-blockierende Kontaktlinsen die durch kurzzeitige UV-B-Exposition verursachte DNA-Schäden, die Differenzierung von limbalen-Epithelzellen und die Sekretion entzündungsfördernder Zytokine verhindern können [16].

Diese Daten belegen die bedeutende Rolle von limbalen Epithelzellen und limbalen Fibroblasten bei der Reaktion der limbalen Nische auf kurzzeitige UV-A- und UV-B-Strahlen als Abwehrmechanismus gegen nachfolgende entzündliche und (lymph)angiogene Ereignisse.

ROLLE DER MAKROPHAGEN BEI DER LYMPHANGIOGENESE

Aktiviert Makrophagen sind wichtige Mediatoren der kornealen Häm- und Lymphangiogenese. Es sind zwei unterschiedliche Wege der Lymphangiogenese Induktion beschrieben: Zum einen sekretieren Makrophagen in der entzündeten Hornhaut verschiedene Zytokine, die die Lymphangiogenese induzieren [17, 18]. Zum anderen können sich Makrophagen mittels Trans-Differenzierung in lymphatische Endothelzellen umwandeln und in Lymphgefäße integrieren [19, 20].

Kürzlich konnte unsere Arbeitsgruppe zeigen, dass Makrophagen unterschiedliche Funktionen in der Früh- und Spätphase der Entzündungsreaktion haben. In der Frühphase der Entzündung sind Makrophagen für die Initiation und die Progression der Häm- und Lymphangiogenese verantwortlich. Dagegen kontrollieren die Makrophagen in der Spätphase nur die Aufrechterhaltung der Lymphgefäße, aber nicht die der Blutgefäße in der Hornhaut [21]. Darüber hinaus zeigen unsere Daten, dass das häm- und lymphangiogene Potential der Makrophagen in der Hornhaut von der Art der Hornhautverletzung abhängt. Während Makrophagen bei einer akuten

Verletzung hauptsächlich Lymphgefäße induzieren (**Abb. 1**), werden bei chronischer Verletzung sowohl Blut- als auch Lymphgefäße durch die Makrophagen induziert [21].

In dem Zusammenhang haben wir kürzlich auch zeigen können, dass IL-10, ein anti-inflammatorisches Zytokin, welches unter anderem von Monozyten sekretiert wird, indirekt die entzündungsinduzierte Lymphangiogenese reguliert [22]. Dabei induziert IL-10 die Sezernierung von VEGF-C in Makrophagen. IL-10-defiziente Mäuse zeigen daher eine reduzierte Expression von VEGF-C, aber eine erhöhte Expression pro-inflammatorischer Zytokine sowie ein erhöhtes zelluläres Infiltrat in der entzündeten Hornhaut. Dies deutet darauf hin, dass IL-10 während der Entzündung zu einer Aufrechterhaltung der Lymphgefäße beiträgt und damit den Abfluss der Immunzellen aus dem entzündlichen Gebiet unterstützt [22]. Somit könnte eine IL-10-basierte Therapie bei pathologischen persistierenden Entzündungen der Hornhaut von Nutzen sein.

VERBESSERUNG DES TRANSPLANTAT-ÜBERLEBENS MITTELS ANTI-(LYMPH) ANGIOGENER THERAPIE

Unsere Gruppe konnte schon früh zeigen, dass in der entzündeten Hornhaut neben den klinisch sichtbaren Blutgefäßen auch klinisch nicht sichtbare Lymphgefäße vorhanden sind [17]. Aus diesem Grund versuchten wir, das Einwachsen der Lymphgefäße zu unterdrücken, ohne die Hämangiogenese zu behindern [23, 24]. In Tiermodellen konnten wir zeigen, dass die selektive Hemmung der Lymphgefäße mittel Blockade von VEGFR-3 oder Integrin $\alpha 5$ die Transplantatüberlebensrate signifikant verbessert [10]. Somit konnten wir zeigen, dass pathologische Lymphgefäße eine entscheidende Rolle bei chronischen Entzündungsprozessen, aber auch bei Abstoßungsreaktionen nach Hornhauttransplantation spielen.

Durch das Einwachsen neuer Gefäße in die Hornhaut werden verstärkt Immunzellen, einschließlich Antigen präsentierende Zellen (APCs), in die Hornhaut rekrutiert [17]. Wir konnten kürzlich zeigen, dass der Status der Dendritischen Zellen (DC) im Empfängerbett zum Zeitpunkt der Transplantation entscheiden für das Überleben das Transplantats ist [25].

Abbildung 1

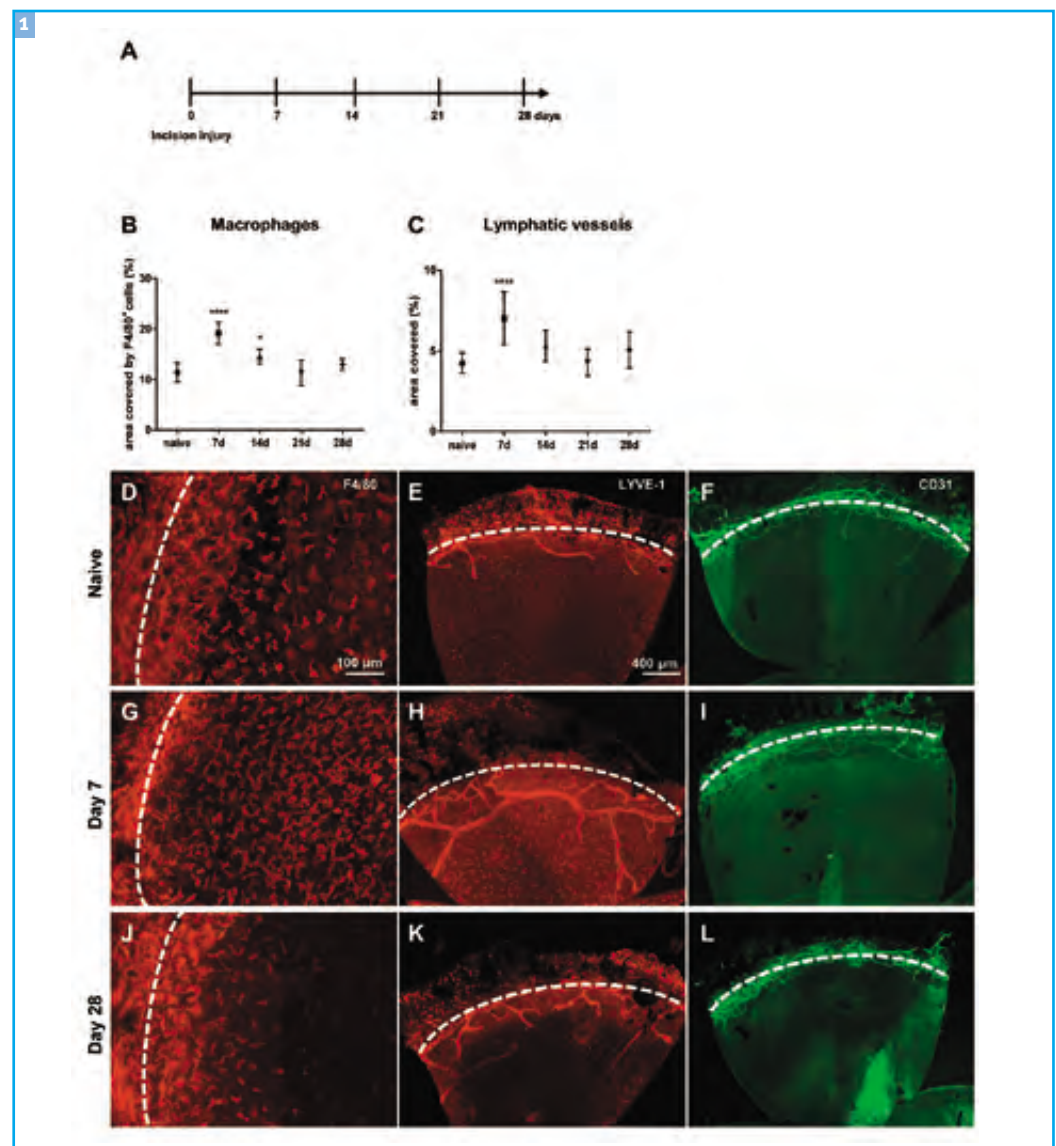
■ **Zeitlicher Verlauf des Hornhautmakrophageninfiltrats und Lymphangiogenese nach Schnittverletzung.** **(A)** Nach einer Schnittverletzung (Tag 0) wurden das entzündliche Makrophageninfiltrat, die Lymphgefäße (LV) und die Blutgefäße (BV) zu den angegebenen Zeitpunkten bestimmt. **(B, C)** Quantifizierung der gesamten Hornhautfläche, die zu den angegebenen Zeitpunkten von Makrophagen und LV bedeckt ist. Die Werte wurden mit unverletzten Kontrollen verglichen ($n = 8-10$ pro Zeitpunkt). **(D-L)** repräsentative Bereiche der Hornhautflächpräparate, die zu den angegebenen Zeitpunkten nach der Verletzung auf F4/80 **(D, G, J)**, LYVE-1 **(E, H, K)** und CD31 **(F, I, L)** gefärbt wurden. Die gestrichelte Linie zeigt den Limbus der Hornhaut. Die Anzahl der Makrophagen in der Hornhaut erreichten am Tag 7 das Maximum und sinken dann wieder ab. Am 21. Tag sind die Makrophagen nicht mehr erhöht. Die LV erreichen am 7. Tag ihre maximale Dichte und beginnen sich bis zum 21. Tag zurückzubilden, wo die Lymphangiogenese das Basisniveau erreicht. Hämangiogenese wird in der Hornhaut nicht induziert. Übernommen aus [21].

Daher untersuchten wir die Rolle von VEGF-A bei der Förderung der Lymphangiogenese sowie der Hämangiogenese. Wir haben beobachtet, dass die Neutralisierung von VEGF-A mittels eines VEGF-A-Traps zu einer Hemmung der Hämangiogenese, aber auch der Lymphangiogenese nach Verletzung führt [6]. In diesem Zusammenhang haben wir uns kürzlich auch die direkte Auswirkung der lokalen VEGF-A-Depletion mittels VEGF-A-Trap während der Neovaskularisation und vor der Transplantation angeschaut. Wir konnten zeigen, dass die lokale Blockade von VEGF-A mittels VEGF-A-Trap als Augentopfen die lokale Reaktion des Immunsystems direkt verändert, indem die Expression von Zytokinen und Chemokinen hochreguliert werden und die CD11c⁺ DC-Infiltration moduliert wird. Gleichzeitig wird das Transplantat-Überleben

im Hoch-Risiko-Modell deutlich verbessert [25]. Die Daten zeigen, dass eine lokale Modulation des Immunsystems und die dadurch induzierten tolerogenen Mechanismen das Überleben des Transplantats verbessern.

IDENTIFIKATION NEUER ENDOGENER MODULATOREN DER LYMPHANGIOGENESE

Vor der Entdeckung spezifischer Marker für lymphatische Endothelzellen dachte man lange, dass nur Blutgefäße eine entscheidende Rolle bei der Entzündung und Abstoßungsreaktion des Transplantats spielen. Dies änderte sich vor einigen Jahren mit der Entdeckung spezifischer Marker für



das lymphatische Endothel, wie dem vaskulären Endothelwachstumsfaktor-Rezeptor 3 (VEGFR 3), dem endothelialen Hyaluronsäurerezeptor 1 (LYVE-1, Lymphatic vessel endothelial hyaluronan receptor 1) oder Podoplanin [1].

Seitdem ist ein Schwerpunkt unserer Forschung die Identifikation neuer Modulatoren der Lymphangiogenese, die bei der Etablierung neuer therapeutischer Konzepte helfen. Jedoch sind in den letzten Jahren nur wenige weitere endogene Modulatoren der Lymphangiogenese identifiziert worden, die die Lymphangiogenese selektiv hemmen.

Die Hornhaut exprimiert sowohl eine lösliche als auch eine Membran gebundene Form des VEGF-Rezeptor 2 und -3 (sVEGFR-2, sVEGFR-3), die als Decoyrezeptoren dienen und VEGF-C und -D abfangen [26, 27]. Darüber hinaus haben Cursiefen et al. gezeigt, dass der membrangebundene VEGFR-3 auch von Hornhautepithelzellen exprimiert wird und in der Lage ist, VEGF-C zu binden [1, 24]. In den letzten Jahren konnten darüber hinaus ei-

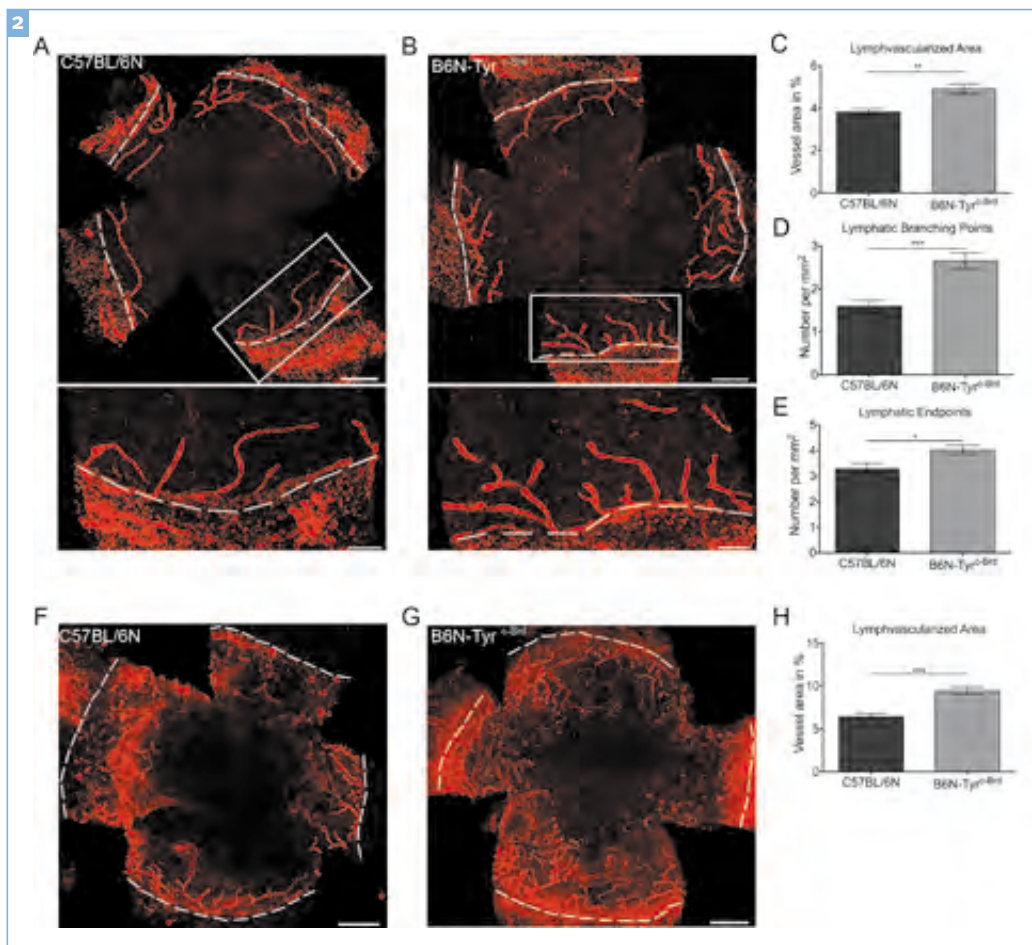
nige weitere endogene Modulatoren der Lymphangiogenese wie Thrombospondin-1 (TSP-1) [28], Vasohibin-1 [29, 30] und Membran-Typ-1-Matrix-Metalloproteinase (MT1-MMP) [31] als endogene Inhibitoren der Lymphangiogenese in der Hornhaut identifiziert und im Tiermodell verifiziert werden. Jedoch gibt es im Moment keine Behandlungsmöglichkeiten, um die Lymphangiogenese spezifisch zu modulieren.

Dies führt zur Notwendigkeit, weitere wichtige Modulatoren der Lymphangiogenese zu identifizieren, die das Risiko einer Transplantatabstoßung verringern.

Im Jahr 2000 wurde erstmals über die genetische Heterogenität der Angiogenese bei Mäusen berichtet [32]. Rohan et al. konnten zeigen, dass die Reaktion auf durch Wachstumsfaktoren induzierte Angiogenese zwischen verschiedenen Inzucht Mausstämmen signifikant variiert. Dem gegenüber wurden Stamm-spezifische Unterschiede in der Lymphangiogenese erst in jüngster Zeit untersucht.

Abbildung 2

■ Die Abwesenheit von Tyrosinase führt zu einer erhöhten entwicklungsbedingten und entzündungsbedingten Lymphangiogenese. **(A) & (B)**: Repräsentative Flachpräparate der Maushornhaut aus C57BL/6N **(A)** und albino C57BL/6N (B6N-Tyr^{c-Brd}) **(B)** (rot: LYVE-1 positive Lymphgefäße). Untere Abbildungen: Höhere Vergrößerung des umrahmten Bereichs. Gestrichelte Linien zeigt die Grenze zwischen Limbus und Hornhaut. **(C)** Quantifizierung des lymphatisch vaskularisierten Bereichs der Flachpräparate und Charakterisierung der lymphatischen Gefäßarchitektur durch Bestimmung der Anzahl der Verzweigungspunkte **(D)** und der Anzahl der Endpunkte **(E)**. Repräsentative Flachpräparate der Hornhaut nach entzündungsinduzierter Lymphangiogenese von **(F)** C57BL/6N und **(G)** albino B6N-Tyr^{c-Brd} (rot: LYVE-1 positive Lymphgefäße). Gestrichelte Linien zeigen die Grenze zwischen Limbus und Hornhaut. **(H)** Quantifizierung des entzündlichen lymphatischen vaskularisierten Bereichs. Übernommen aus [36].



Es wurden auch hier Stamm-spezifische Unterschiede in der kornealen Lymphangiogenese sowohl in der entzündungs-induzierten Lymphangiogenese, der VEGF-C gesteuerten Lymphangiogenese als auch in der limbalen lymphatischen Vaskulatur der naiven Hornhaut identifiziert [33, 34]. Dabei zeichnete sich der BALB/c Stamm mit wenig endogenen limbalen Lymphgefäßen (niedrig lymphangiogen) und der C57BL/6 Stamm mit vielen endogenen limbalen Lymphgefäßen (hoch lymphangiogen) ab [33]. Mittels einer Pathway-spezifischen Expressionsanalyse der naiven Hornhaut von BALB/c (niedrig lymphangiogen) mit C57BL/6 (hoch lymphangiogen) identifizierten wir nicht nur schon bekannte Regulatoren der Lymphangiogenese, wie TSP-1, sondern auch zwei neue endogene Regulatoren der Lymphangiogenese, das Tumor-Nekrose-Faktor (Ligand)- Superfamilie-Mitglied 10 (*Tnfsf10/Trail*) und der gewebespezifischer Plasminogenaktivator (*Plat/tPA*). Wir konnten zeigen, dass sowohl Trail als auch Plat/tPA in der normalen Hornhaut exprimiert werden und beide Faktoren zum lymphangiogenen Privileg der Hornhaut beitragen [35]. Zudem identifizierten wir kürzlich das *Tyrosinase*-Gen, das teilweise für die Unterschiede in der limbalen Lymphgefäßarchitektur von BALB/c und C57BL/6 Mäusen verantwortlich ist. Um zu verifizieren, dass Tyrosinase die Lymphangiogenese beeinflusst, haben wir die tyrosinase-defizienten Albino C57BL/6 (B6N-Tyr^{cBrd})-Mäuse mit den C57BL/6 Wildtyp Tieren verglichen. Wir konnten zeigen, dass die Albino C57BL/6 (B6N-Tyr^{cBrd})-Mäuse eine signifikant erhöhte limbale Lymphgefäßfläche, eine höhere Anzahl von Lymphgefäßendpunkten und Verzweigungspunkten, sowie eine signifikant erhöhte entzündungsbedingte Lymphangiogenese aufwiesen (**Abb. 2**). Die Ergebnisse zeigen, dass Tyrosinase nicht nur ein neuartiger endogener Regulator der Lymphangiogenese während der Entwicklung, sondern auch bei der entzündlichen Lymphangiogenese ist [36].

Weiterhin verdeutlichen die Ergebnisse, dass die Hornhaut ein geeignetes Modell zur Identifizierung neuer Regulatoren der Lymphangiogenese darstellt.

Die Identifikation neuer Modulatoren der Lymphangiogenese und ein besseres Verständnis der beteiligten Signalwege trägt somit zur Entwicklung neuer therapeutischer Ziele für die Behandlung der pathologischen Lymphangiogenese bei einer Vielzahl von Augen- und extraokulären Erkrankungen, wie Transplantatabstoßung, Tumormetastasen oder dem trockenen Auge bei.

LITERATUR

1. Cursiefen, C. et al. Lymphatic vessels in vascularized human corneas: immunohistochemical investigation using LYVE-1 and podoplanin. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 43, 2127–2135 (2002).
2. Notara, M., Lentzsch, A., Coroneo, M. & Cursiefen, C. The Role of Limbal Epithelial Stem Cells in Regulating Corneal (Lymph)angiogenic Privilege and the Microenvironment of the Limbal Niche following UV Exposure. *Stem Cells Int* 2018, 8620172, doi: 10.1155/2018/8620172 (2018).
3. Bock, F. et al. Novel anti(lymph)angiogenic treatment strategies for corneal and ocular surface diseases. *Prog Retin Eye Res* 34, 89–124, doi:10.1016/j.preteyeres.2013.01.001 (2013).
4. Bock, F. et al. Bevacizumab as a potent inhibitor of inflammatory corneal angiogenesis and lymphangiogenesis. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 48, 2545–2552, doi:10.1167/iovs.06-0570 (2007).
5. Bucher, F. et al. Topical Ranibizumab inhibits inflammatory corneal hem- and lymphangiogenesis. *Acta Ophthalmol* 92, 143–148, doi:10.1111/j.1755-3768.2012.02525.x (2014).
6. Cursiefen, C. et al. Inhibition of hemangiogenesis and lymphangiogenesis after normal-risk corneal transplantation by neutralizing VEGF promotes graft survival. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 45, 2666–2673, doi:10.1167/iovs.03-1380 (2004).
7. Lipp, M. et al. Blockade of the VEGF isoforms in inflammatory corneal hemangiogenesis and lymphangiogenesis. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 252, 943–949, doi:10.1007/s00417-014-2626-2 (2014).
8. Dekaris, I., Gabric, N., Draca, N., Pauk-Gulic, M. & Milićic, N. Three-year corneal graft survival rate in high-risk cases treated with subconjunctival and topical bevacizumab. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 253, 287–294, doi: 10.1007/s00417-014-2851-8 (2015).
9. Koenig, Y. et al. Short- and long-term safety profile and efficacy of topical bevacizumab (Avastin) eye drops against corneal neovascularization. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 247, 1375–1382, doi: 10.1007/s00417-009-1099-1 (2009).
10. Dietrich, T. et al. Cutting edge: lymphatic vessels, not blood vessels, primarily mediate immune rejections after transplantation. *J Immunol* 184, 535–539, doi: 10.4049/jimmunol.0903180 (2010).
11. Dietrich, T. et al. Inhibition of inflammatory lymphangiogenesis by integrin alpha5 blockade. *Am J Pathol* 171, 361–372, doi: 10.2353/ajpath.2007.060896 (2007).
12. Emami-Naeini, P. et al. Soluble vascular endothelial growth factor receptor-3 suppresses allosensitization and promotes corneal allograft survival. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 252, 1755–1762, doi: 10.1007/s00417-014-2749-5 (2014).

13. Young, A. R. Acute effects of UVR on human eyes and skin. *Prog Biophys Mol Biol* 92, 80–85, doi:10.1016/j.pbiomolbio.2006.02.005 (2006).
14. Maloof, A. J., Ho, A. & Coroneo, M. T. Influence of corneal shape on limbal light focusing. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 35, 2592–2598 (1994).
15. Notara, M. et al. Short-Term Ultraviolet A Irradiation Leads to Dysfunction of the Limbal Niche Cells and an Antilymphangiogenic and Anti-inflammatory Microenvironment. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 57, 928–939, doi: 10.1167/iov.15-18343 (2016).
16. Notara, M. et al. UV light-blocking contact lenses protect against short-term UVB-induced limbal stem cell niche damage and inflammation. *Sci Rep* 8, 12564, doi: 10.1038/s41598-018-30021-8 (2018).
17. Cursiefen, C. et al. VEGF-A stimulates lymphangiogenesis and hemangiogenesis in inflammatory neovascularization via macrophage recruitment. *J Clin Invest* 113, 1040–1050, doi: 10.1172/JCI20465 (2004).
18. Watari, K. et al. Role of macrophages in inflammatory lymphangiogenesis: Enhanced production of vascular endothelial growth factor C and D through NF-kappaB activation. *Biochem Biophys Res Commun* 377, 826–831, doi: 10.1016/j.bbrc.2008.10.077 (2008).
19. El-Chemaly, S. et al. Abnormal lymphangiogenesis in idiopathic pulmonary fibrosis with insights into cellular and molecular mechanisms. *Proc Natl Acad Sci USA* 106, 3958–3963, doi: 10.1073/pnas.0813368106 (2009).
20. Maruyama, K. et al. Inflammation-induced lymphangiogenesis in the cornea arises from CD11b-positive macrophages. *J Clin Invest* 115, 2363–2372, doi: 10.1172/JCI23874 (2005).
21. Kiesewetter, A., Cursiefen, C., Eming, S. A. & Hos, D. Phase-specific functions of macrophages determine injury-mediated corneal hem- and lymphangiogenesis. *Sci Rep* 9, 308, doi: 10.1038/s41598-018-36526-6 (2019).
22. Hos, D. et al. IL-10 Indirectly Regulates Corneal Lymphangiogenesis and Resolution of Inflammation via Macrophages. *Am J Pathol* 186, 159–171, doi: 10.1016/j.ajpath.2015.09.012 (2016).
23. Bock, F. et al. Blockade of VEGFR3-signalling specifically inhibits lymphangiogenesis in inflammatory corneal neovascularisation. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 246, 115–119, doi: 10.1007/s00417-007-0683-5 (2008).
24. Cursiefen, C. et al. Nonvascular VEGF receptor 3 expression by corneal epithelium maintains avascularity and vision. *Proc Natl Acad Sci USA* 103, 11405–11410, doi: 10.1073/pnas.0506112103 (2006).
25. Salabarría, A. C. et al. Local VEGF-A blockade modulates the microenvironment of the corneal graft bed. *Am J Transplant*, doi: 10.1111/ajt.15331 (2019).
26. Albuquerque, R. J. et al. Alternatively spliced vascular endothelial growth factor receptor-2 is an essential endogenous inhibitor of lymphatic vessel growth. *Nat Med* 15, 1023–1030, doi:10.1038/nm.2018 (2009).
27. Singh, N. et al. Soluble vascular endothelial growth factor receptor 3 is essential for corneal alymphaticity. *Blood* 121, 4242–4249, doi: 10.1182/blood-2012-08-453043 (2013).
28. Cursiefen, C. et al. Roles of thrombospondin-1 and -2 in regulating corneal and iris angiogenesis. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 45, 1117–1124 (2004).
29. Heishi, T. et al. Endogenous angiogenesis inhibitor vasohibin1 exhibits broad-spectrum antilymphangiogenic activity and suppresses lymph node metastasis. *Am J Pathol* 176, 1950–1958, doi:10.2353/ajpath.2010.090829 (2010).
30. Watanabe, M. et al. Mice deficient in cystathionine beta-synthase: animal models for mild and severe homocysteinemia. *Proc Natl Acad Sci USA* 92, 1585–1589 (1995).
31. Wong, H. L. et al. MT1-MMP sheds LYVE-1 on lymphatic endothelial cells and suppresses VEGF-C production to inhibit lymphangiogenesis. *Nat Commun* 7, 10824, doi: 10.1038/ncomms10824 (2016).
32. Rohan, R. M., Fernandez, A., Udagawa, T., Yuan, J. & D'Amato, R. J. Genetic heterogeneity of angiogenesis in mice. *FASEB J* 14, 871–876, doi:10.1096/fasebj.14.7.871 (2000).
33. Regenfuss, B. et al. Genetic heterogeneity of lymphangiogenesis in different mouse strains. *Am J Pathol* 177, 501–510, doi: 10.2353/ajpath.2010.090794 (2010).
34. Nakao, S. et al. Lymphangiogenesis and angiogenesis: concurrence and/or dependence? Studies in inbred mouse strains. *FASEB J* 24, 504–513, doi:10.1096/fj.09-134056 (2010).
35. Regenfuss, B. et al. The Naive Murine Cornea as a Model System to Identify Novel Endogenous Regulators of Lymphangiogenesis: TRAIL and rPA. *Lymphat Res Biol* 13, 76–84, doi: 10.1089/lrb.2015.0004 (2015).
36. Buttner, C. et al. Tyrosinase Is a Novel Endogenous Regulator of Developmental and Inflammatory Lymphangiogenesis. *Am J Pathol* 189, 440–448, doi: 10.1016/j.ajpath.2018.10.014 (2019).

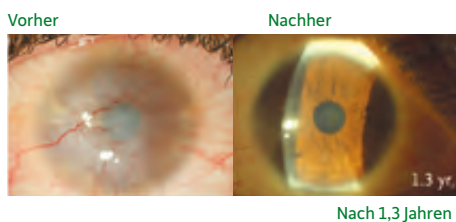
Dr. rer. nat. Thomas Clahsen

Zentrum für Augenheilkunde
 Universität zu Köln
 Medizinische Fakultät und Uniklinik Köln
 Kerpener Str. 62
 50937 Köln
 Tel. 0221/478-32785
 Fax 0221/478-97836
 E-Mail: Thomas.Clahsen@uk-koeln.de

KONTAKT

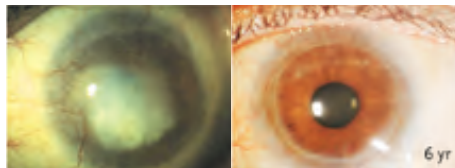
Limbusstammzelltherapie und langfristige Hornhautregeneration¹

Transplantat aus autologen limbalen Kulturen (Holoclar®) ohne weitere Behandlung¹



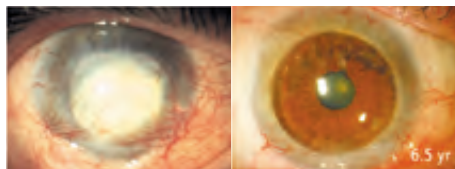
Nach 1,3 Jahren

Transplantat aus autologen limbalen Kulturen (Holoclar®), gefolgt von Keratoplastik¹



Patient 22

6 Jahre



Patient 26

6,5 Jahre



Patient 46

4 Jahre

Ein Transplantat aus autologen limbalen Kulturen reichte bei einem Patienten mit totaler Limbusstammzelleninsuffizienz des rechten Auges aufgrund einer Säureverätzung – ohne Vernarbung des Hornhautstromas und mit Reduzierung der Sehschärfe auf das Zählen von Fingern – aus, um das **funktionale Hornhautepithel zu regenerieren** (Bild rechts) und die **normale Sehschärfe wiederherzustellen** (Sehschärfe 0,7).

Die Bilder zeigen die Augen von Patienten, die 13, 30 bzw. 3 Jahre vor der Krankenhausaufnahme durch Laugenverätzungen beschädigt und ohne Erfolg chirurgisch behandelt worden waren.

Bei allen drei Augen lagen eine totale Limbusstammzelleninsuffizienz, eine vollständige Hornhauttrübung und eine Vernarbung des Hornhautstromas vor (Bilder links). Die Sehschärfe war auf das Zählen von Fingern (bei Patient 22) bzw. auf die Wahrnehmung von Handbewegungen (bei den Patienten 26 und 46) reduziert.

Bei allen drei Patienten konnte mit Hilfe von autologen Limbusstammzellenkulturen das funktionale Hornhautepithel erfolgreich regeneriert werden.

Zur Verbesserung der Sehschärfe nach der Transplantation wurden die Patienten einer penetrierenden Keratoplastik unterzogen.

Bei allen drei Augen wurde das Spenderstroma durch die transplantierten Limbusstammzellen neu abgedeckt.

Beim letzten Nachsorgetermin (nach 6, 6,5 bzw. 4 Jahren) waren alle Augen von einem stabilen Hornhautepithel bedeckt (Bilder rechts).

Die Keratoplastik führte zu einer **vollständigen Wiederherstellung der Sehschärfe bei den Patienten 22 und 46 (0,9 bzw. 0,8).**

Aufgrund einer konkomitierenden Amblyopie verbesserte sich die Sehschärfe von Patient 26 lediglich auf 0,3 (die Laugenverätzung war 30 Jahre vor der Krankenhausaufnahme erfolgt).

Bei Patient 46 zeigt das Folgebild, dass die Blutgefäße der Bindehaut an der Grenze zwischen Binde- und Hornhaut enden (Pfeile); sie dringen nicht in die wieder aufgebaute Hornhautoberfläche vor.

¹ Rama P, Matuska S, Paganoni G, et al. Limbal stem-cell therapy and long-term corneal regeneration. *N Engl J Med.* 2010;363(2):147-55

Holoclar, lebendes Gewebeäquivalent, 79.000-316.000 Zellen/cm²

Wirkstoff: Ex vivo expandierte autologe menschl. Hornhautepithelzellen, die Stammzellen enthalten. **Zus.:** Transparentes rundes Patch mit 300.000 bis 1.200.000 lebensfähigen autologen menschl. Hornhautepithelzellen (79.000 - 316.000 Zellen/cm²), einschließlich durchschnittlich 3,5% (0,4 bis 10%) limbalen Stammzellen u. von Stammzellen abgeleiteten transient amplifizierenden Zellen sowie ausdifferenzierten Zellen. **Sonst. Best.:** Transportmedium (Dulbecco's Modified Eagles Medium, ergänzt mit L-Glutamin), Fibrinträger. **Anwend.:** Behandlung von erwachsenen Patienten mit mittelschwerer bis schwerer Limbusstammzelleninsuffizienz, unilateral od. bilateral, aufgrund von Verbrennungen od. Verätzungen des Auges. **Gegenanz.:** Überempfindlichkeit gegen einen der Bestandteile von Holoclar, Rinderserum od. murine 3T3-J2-Zellen. **Nebenw.:** Sehr häufig: Blepharitis. Häufig: Blutung am Eingriffsort, Hornhautdefekte, Glaukom, Augenschmerzen, ulzerative Keratitis. Gelegentlich: Bindehautadhäsion, Bindehauthyperämie, Hornhautödem, Hornhautperforation, Augenreizung, Lichtempfindlichkeit, Metaplasie Implantat, Hornhautinfektion, Nahtruptur, Ohnmacht, subkutane Blutung. **Warnhinw.:** Potenziell infiziertes biologisches Material. Mit Vorsicht handhaben; Schütteln, Umdrehen und andere mechanische Belastungen des Holoclar-Behältnisses vermeiden. Nur zur autologen Anwendung. Augentropfen, die Benzalkoniumchlorid u./od. andere Konservierungsstoffe enthalten, sind zu vermeiden. **Verschreibungspflichtig.** Stand: Februar 2015. Chiesi Farmaceutici S.P.A., Parma, Italien



Die erste von der EMA zugelassene Stammzelltherapie zur Behandlung der Limbusstammzelleninsuffizienz aufgrund von Verbrennung oder Verätzung des Auges.¹

¹Quelle: Assessment Report Holoclar (EPAR). EMA/25273/2015.

Holoclar, lebendes Gewebeäquivalent, 79.000-316.000 Zellen/cm²

Wirkstoff: Ex vivo expandierte autologe menschl. Hornhautepithelzellen, die Stammzellen enthalten. **Zus.:** Transparentes rundes Patch mit 300.000 bis 1.200.000 lebensfähigen autologen menschl. Hornhautepithelzellen (79.000 - 316.000 Zellen/cm²), einschließlich durchschnittlich 3,5 % (0,4 bis 10 %) limbalen Stammzellen u. von Stammzellen abgeleiteten transient amplifizierenden Zellen sowie ausdifferenzierten Zellen. **Sonst. Best.:** Transportmedium (Dulbecco's Modified Eagles Medium, ergänzt mit L-Glutamin), Fibrinträger. **Anwend.:** Behandlung von erwachsenen Patienten mit mittelschwerer bis schwerer Limbusstammzelleninsuffizienz, unilateral od. bilateral, aufgrund von Verbrennungen od. Verätzungen des Auges. **Gegenanz.:** Überempfindlichkeit gegen einen der Bestandteile von Holoclar, Rinderserum od. murine 3T3-J2-Zellen. **Nebenw.:** Sehr häufig: Blepharitis. Häufig: Blutung am Eingriffsort, Hornhautdefekte, Glaukom, Augenschmerzen, ulzerative Keratitis. Gelegentlich: Bindehautadhäsion, Bindehauthyperämie, Hornhautödem, Hornhautperforation, Augenreizung, Lichtempfindlichkeit, Metaplasie Implantat, Hornhautinfektion, Nahtrüptur, Ohnmacht, subkutane Blutung. **Warnhinw.:** Potenziell infiziertes biologisches Material. Mit Vorsicht handhaben; Schütteln, Umdrehen und andere mechanische Belastungen des Holoclar-Behältnisses vermeiden. Nur zur autologen Anwendung. Augentropfen, die Benzalkoniumchlorid u./od. andere Konservierungsstoffe enthalten, sind zu vermeiden. **Verschreibungspflichtig.** Stand: Februar 2015. Chiesi Farmaceutici S.P.A., Parma, Italien



VEGF-A-induzierte Signaltransduktion in retinalen Endothelzellen

DR. HEIDRUN L. DESSLER¹, PROF. DR. GERHARD K. LANG¹,
 PROF. DR. GABRIELE E. LANG¹

**1 Klinik für
 Augenheilkunde**
 Universitätsklinikum
 Ulm

Die Pathogenese verschiedener okulärer Erkrankungen ist mit einer verstärkten Expression des »vascular endothelial growth factor-A« (VEGF-A) im Glaskörper assoziiert, wobei insbesondere die Spleißvariante VEGF-A₁₆₅ die Permeabilität retinaler Endothelzellen (REC) *in vivo* und *in vitro* erhöht [1–4]. Folgerichtig werden an VEGF-A bindende Proteine erfolgreich zur Therapie z. B. des diabetischen Makulaödems eingesetzt [5–7].

Verwendung unseres Zellkulturmodells immortalisierter REC vom Rind (iBREC) diesen Aspekt systematisch untersucht [10, 11]. Ergebnisse unserer bisherigen Studien erlauben die Hypothese, dass die durch VEGF-A induzierte Barrierestörung von iBREC vornehmlich durch VEGFR2 vermittelt wird: Mitglieder der VEGF-Proteinfamilie, die VEGFR2 aktivieren, erhöhen die Permeabilität der iBREC, die nur an VEGFR1 bindenden aber nicht [4, 9, 12, 13].

Bindung von VEGF-A an seine Rezeptoren mit nachfolgender Aktivierung intrazellulärer Proteine führt u. a. zu einer Störung der Endothelzellschranke [8]. Retinale Endothelzellen exprimieren die VEGF-Rezeptoren VEGFR1, VEGFR2 oder Neuropilin [9]. Wegen der unübersichtlichen und widersprüchlichen Datenlage ist unklar, ob die Hemmung einzelner intrazellulärer, an der Signalweiterleitung beteiligter, Proteine ausreicht, die durch VEGF-A induzierte Barrierestörung zu blockieren, oder ob die Signalweiterleitung redundant ist. Daher haben wir unter

VEGFR2 VERMITTELT DIE SIGNAL- TRANSDUKTION HINSICHTLICH BARRIERESTÖRUNG RETINALER ENDOTHELZELLEN

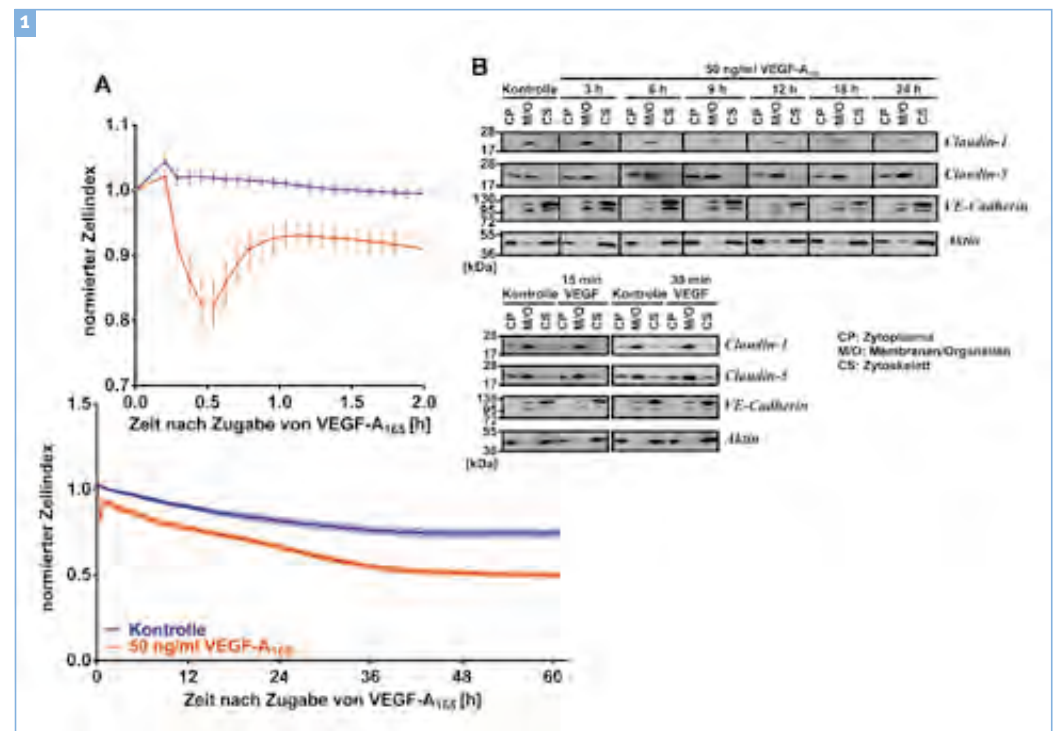
Um schwache oder transiente Veränderungen der Barrierefunktion detektieren zu können, messen wir kontinuierlich den sogenannten Zellindex einer auf Goldelektroden kultivierten, durchgängigen iBREC-Einzelzellschicht; bei einer stabilen Barriere

Abbildung 1

Die verzögerte Reaktion von iBREC auf VEGF-A₁₆₅ korreliert mit einer Störung der Tight-Junctions

VEGF-A₁₆₅ wurde zu konfluenten iBREC gegeben und (A) der Zellindex kontinuierlich bestimmt oder (B) die Zellen zur Herstellung subzellulärer Fraktionen zu verschiedenen Zeitpunkten geerntet. (A) Kurz nach Zugabe des Wachstumsfaktors sinkt der Zellindex ab, der nach einer kurzen Erholungsphase dann kontinuierlich über mindestens 60 Stunden niedrig bleibt.

(B) Ca. sechs Stunden nach VEGF-A-Zugabe beginnt die Expression von Claudin-1 stabil abzusinken, während sich die von Claudin-5 und VE-Cadherin nicht offensichtlich ändert. Keines der untersuchten Proteine ist in seiner Expression kurz nach VEGF-A-Zugabe verändert.



ist der Zellindex hoch und bei der Störung derselben niedrig [11, 14]. So sinkt kurz nach Zugabe von VEGF-A₁₆₅ der Zellindex ab, stabilisiert sich wieder, um anschließend anhaltend über Tage stabil abzusinken (**Abb. 1**). Wie schon in unseren Studien gezeigt, korreliert die langanhaltende, aber nicht die frühe Reaktion der iBREC auf VEGF-A₁₆₅ mit der Abnahme des Tight-Junction (TJ)-Proteins Claudin-1, während die Expression des TJ-Proteins VE-Cadherin und des Adhärenz-Junctions (A)-Proteins VE-Cadherin nicht wesentlich verändert ist (**Abb. 1**) [4, 9, 11–13]. Die aus verschiedenen Proteinen zusam-

gesetzten Tight-Junctions und Adhärenz-Junctions sind an der Regulation des parazellulären Flusses beteiligt [15]. Vorbehandlung der Zellen mit 10 nM Tivozanib (→ Hemmung von VEGFR2) verhindert das durch VEGF-A₁₆₅ induzierte Absinken des Zellindex vollständig, höhere Konzentrationen (→ Hemmung von VEGFR1, VEGFR2 und anderen (Rezeptor)-Tyrosinkinasen) sind nicht effizienter (**Abb. 2A**) [11,16]. Auch ZM323881, das ausschließlich VEGFR2 blockiert, verhindert über viele Stunden das durch VEGF-A₁₆₅ induzierte Absinken des Zellindex, wogegen der Inhibitor von Neuropilin

DANKSAGUNG

Die Autoren bedanken sich bei der Getrud Kusen Stiftung, Hamburg und Novartis Pharma GmbH, Nürnberg für die finanzielle Unterstützung der diesem Bericht zugrunde liegenden Projekte.

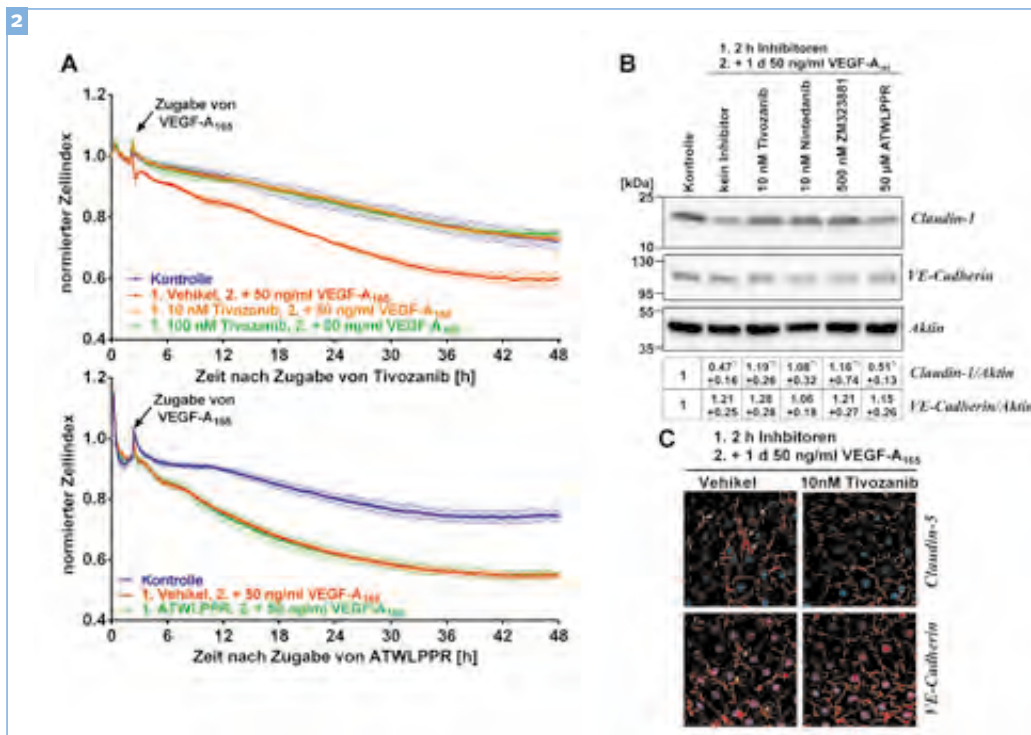


Abbildung 2

Hemmung von VEGFR2 verhindert die frühe und späte Reaktion der iBREC auf VEGF-A₁₆₅

Konfluente iBREC wurden mit spezifischen Inhibitoren (Hemmung des VEGFR2: 10 nM Tivozanib oder Nintedanib, 500 nM ZM323881; Hemmung von VEGFR1/2 sowie anderer Rezeptor-Tyrosinkinasen: 100 nM Tivozanib; Hemmung von Neuropilin: 50 µM ATWLPPR) inkubiert, bevor VEGF-A₁₆₅ zugegeben wurde und entweder (**A**) der Zellindex kontinuierlich bestimmt oder die Zellen nach 24 Stunden (**B**) zur Herstellung von Zellextrakten geerntet bzw. (**C**) für die Immunfluoreszenzfärbung fixiert wurden. (**A**) 10 und 100 nM Tivozanib verhindern im Gegensatz zu ATWLPPR, das keinen Effekt hat, das Absinken des CI komplett.

(**B**) Die Inhibitoren Nintedanib, Tivozanib und ZM323881 – nicht aber ATWLPPR – verhindern den Verlust von Claudin-1; die Expression von VE-Cadherin ändert sich nicht offensichtlich. (**C**) VEGF-A₁₆₅ induziert eine veränderte Lokalisation von Claudin-5 (rot) und VE-Cadherin (rot) hin zu einer unregelmäßigeren Präsenz in der Plasmamembran (→gelbe Pfeile). Dies wird durch Tivozanib verhindert.

*) $p < 0.04$ im Vergleich zur Kontrolle, **) $p < 0.04$ im Vergleich zu VEGF-A₁₆₅

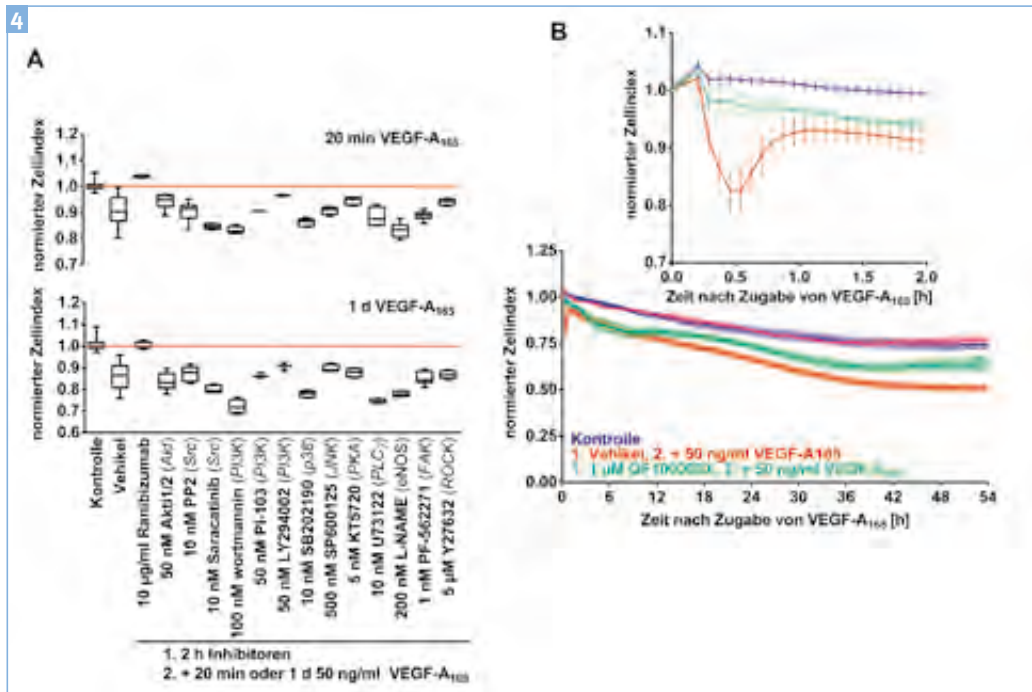


Abbildung 4

■ **Alleinige Hemmung intrazellulärer Signalproteine verhindert die frühe und späte Reaktion der iBREC auf VEGF-A₁₆₅ nicht**

Auf Goldelektroden kultivierte iBREC wurden zunächst für zwei Stunden mit Inhibitoren verschiedener an der intrazellulären Signaltransduktion beteiligter Proteine inkubiert bevor VEGF-A₁₆₅ zugegeben und der Zellindex bestimmt wurde. Die Konzentrationen der Inhibitoren wurden so gewählt, dass eine spezifische Wirkung gegeben war.

(A) Weder die kurzfristige, noch die späte Reaktion der iBREC auf den Wachstumsfaktor werden durch die Inhibitoren beeinflusst. Allein das an VEGF-A bindende Fab-Fragment Ranibizumab kann die durch den Wachstumsfaktor induzierte Störung verhindern. **(B)** Vorbehandlung mit dem Inhibitor GF109203X blockiert nur die frühe, nicht aber die langfristige Reaktion der iBREC auf VEGF-A₁₆₅. eNOS: endotheliale NO-Synthase, FAK: »focal adhesion«-Kinase, JNK: c-Jun-N-terminale Kinase, PI3K: Phosphatidylinositol-3-Kinase, PKA: Proteinkinase A, PLCγ: Phospholipase Cγ, ROCK: Rho-assoziierte »coiled-coil containing« Proteinkinase

tion, die für die klinische Fragestellung jedoch relevanter ist (**Abb. 4B**) [11]. Blockieren der Proteinkinase C reicht folgerichtig auch nicht aus, die bereits durch VEGF-A₁₆₅ etablierte Schrankenstörung von iBREC rückgängig zu machen [20].

SCHLUSSFOLGERUNG

Hinsichtlich der durch längere Behandlung mit VEGF-A₁₆₅ hervorgerufenen Barrierestörung retinaler Endothelzellen erfolgt die Signalweiterleitung über VEGFR₂, während andere VEGF-Rezeptoren keine oder eine sehr untergeordnete Rolle spielen. Auch die Aktivierung weiterer Wachstumsfaktorzeporen ist eher nicht von Bedeutung. Da die intrazelluläre Signalweiterleitung redundant ist, wird die alleinige Hemmung einzelner intrazellulärer Proteine als Therapiestrategie vermutlich nicht erfolgreich sein.

LITERATUR

1. Aiello L.P., Avery R.L., Arrigg P.G. et al., N Engl J Med 1994; 331: 1480–1487.
2. Gaum T., Xu Q., Jousen A.M. et al., Invest Ophthalmol Vis Sci 2001; 42: 2408–2413.
3. Antonetti D.A., Barber A.J., Hollinger L.A. et al. J Biol Chem 1999; 274: 23463–23467.
4. Deissler H.L., Lang G.K., Lang G.E. Exp Eye Res 2013; 115: 162–171.
5. Lang G.E., Berta A., Eldem B.M. et al., Ophthalmology 2013; 120: 2004–2012.
6. Do D.V., Nguyen Q.D., Boyer D. et al., Ophthalmology 2012; 119: 1658–1665.
7. Arevalo J.F., Sanchez J.G. et al., J Ophthalmol 2011; Article ID 584238.
8. Ferrara N. Endocr Rev 2004; 25: 581–611.
9. Deissler H., Deissler H., Lang G.E. Br J Ophthalmol 2011; 95: 1151–1156.
10. Deissler H.L., Deissler H., Lang G.K., Lang G.E. Int J Mol Med 2005; 15: 65–70.
11. Deissler H.L., Lang G.K., Lang G.E. Cell Physiol Biochem 2017; 42: 1493–1513.
12. Deissler H.L., Lang G.K., Lang G.E. Exp Eye Res 2014; 122: 20–31.
13. Deissler H.L., Lang G.K., Lang G.E. Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol 2015; 253: 885–894.
14. Sun M., Fu H., Cheng H. et al. Anal Biochem 2012; 425: 96–103.
15. Dejana E., Tournier-Lasserre E., Weinstein B.M. Dev Cell 2009; 16: 209–221.
16. Nakamura K., Taguchi E., Miura T. et al. Cancer Res 2006; 66: 9134–9142.
17. Whittles C.E., Pocock T.M., Wedge S.R. et al. Microcirculation 2002; 9: 513–522.
18. Starzec A., Vassy R., Martin A. et al. Life Sci 2006; 79: 2370–2381.
19. Deissler H.L., Stutzer J.-N., Lang G.K., Grisanti S., Lang G.E., Ranjbar M. Manuskript in Arbeit.
20. Deissler H.L., Deissler H., Lang G.E. Invest Ophthalmol Vis Sci 2010; 51: 535–542.



Dr. rer. nat. Heidrun Deißler leitet seit 2003 das Forschungslabor der Klinik für Augenheilkunde am Universitätsklinikum Ulm. Nach Abschluss ihres Studiums der Chemie an den Universitäten Essen und Marburg promovierte sie 1993 in Essen und war nach einem Forschungsaufenthalt an der University of Glasgow als wissenschaftliche Mitarbeiterin am Institut für Genetik der Universität zu Köln bis 2003 tätig. In Ulm liegt ihr Forschungsschwerpunkt auf der Aufklärung molekularer Mechanismen, die bei der Pathogenese der Diabetischen Re-

tinopathie und des Makulaödems eine Rolle spielen. Außerdem interessiert sie sich für den Wirkmechanismus VEGF-bindender Proteine in retinalen Endothelzellen, sowie für Transport, Stabilität und Abbau von IgG oder verwandten Proteinen in und durch diesen Zelltyp.

Die Arbeiten von Frau Dr. Deißler wurden durch verschiedene Start-Up-Grants der Universität Ulm, der Gertrud Kusen Stiftung und der Geschwister Freter Stiftung, sowie im Rahmen eines Landesforschungsschwerpunktes und durch Forschungsförderungen der Novartis Pharma GmbH und der Bayer Vital GmbH unterstützt. Sie hat zahlreiche Beiträge in hochrangigen internationalen Fachzeitschriften publiziert und ihre Arbeiten wurden durch den Universitätspreis der Universität zu Köln 1998, den Meyer-Schwickerath-Preis der Arbeitsgemeinschaft »Diabetes und Auge« 2008 und den EYEnovative Förderpreis der Novartis Pharma GmbH 2011 gewürdigt. Frau Dr. Deißler ist außerdem Gutachterin für internationale Fachzeitschriften und Mitglied verschiedener wissenschaftlicher Gesellschaften.

KONTAKT



Dr. rer. nat. Heidrun Deißler

Leitung des Forschungslabors der Klinik für Augenheilkunde
Universitätsklinikum Ulm
Prittwitzstraße 43
89075 Ulm
Tel. 0731/50059155
Fax 0731/50059192
E-Mail: heidrun.deissler@uniklinik-ulm.de



Prof. Dr. med. Gerhard Lang ist Direktor der Universitäts-Augenklinik in Ulm. Er hat an der Universität Erlangen-Nürnberg Humanmedizin studiert, die Ausbildung als Augenarzt an der Augenklinik der Universität Erlangen-Nürnberg absolviert und war ein Jahr als Fellow am Wilmer Eye Institute, Baltimore, USA. Er ist Mitglied in zahlreichen nationalen und internationalen

Gremien. Er war Präsident der Deutschen Ophthalmologischen Gesellschaft 2009–2010 und Präsident des World Ophthalmology Congress 2010 in Berlin. Sein klinischer Schwerpunkt liegt im Bereich der vorderen Augenabschnitte.

Er ist seit 2002 Schriftleiter der »Klinischen Monatsblätter für Augenheilkunde«, Thieme-Verlag Stuttgart. Er hat über 230 Originalarbeiten und 20 Buchkapitel sowie zahlreiche Bücher veröffentlicht, die in mehrere Sprachen übersetzt wurden. Für seine Tätigkeit wurde er mit zahlreichen wissenschaftlichen Preisen und dem Bundesverdienstkreuz am Bande ausgezeichnet.

KONTAKT



Prof. Dr. Gerhard K. Lang

Direktor der
Klinik für Augenheilkunde
Universitätsklinikum Ulm
Prittwitzstraße 43
89075 Ulm

Prof. Dr. med. Gabriele Lang, ist Professorin für Augenheilkunde an der Augenklinik des Universitätsklinikums Ulm. Sie ist die Leiterin der Sektion Konservative Retinologie und Laserchirurgie. Sie hat an der Universität Erlangen-Nürnberg Humanmedizin studiert. Sie hat ihre Ausbildung als Augenärztin an der Augenklinik der Universität Erlangen-Nürnberg gemacht und war ein Jahr als Fellow am Wilmer Eye Institute, Baltimore, USA. Ihr klinisches Hauptarbeitsgebiet ist die Diagnose und Behandlung von Netzhauterkrankungen. Sie forscht präklinisch und klinisch im Bereich diabetische Retinopathie, retinale Venenverschlüsse und altersbezogene Makuladegeneration. Sie war Mitglied des Gesamtpräsidiums der Deutschen Ophthalmologischen Gesellschaft von 1999–2011 und Präsidentin der Deutschen Ophthalmologischen Gesellschaft 2001–2002. Die Position der Präsidentin der Initiativgruppe Früherkennung diabetischer Augenerkrankungen hatte sie von 2003–2007 und der Vizepräsidentin der Retinologischen Gesellschaft von 2004–2008 inne. Sie war Programmdirektorin des World Ophthalmology Congress 2010 in Berlin. Seit 2002 ist sie Schriftleiterin der »Klinischen Monatsblätter für Augenheilkunde«, der ältesten augenärztlichen Zeitschrift der Welt.

Von der Deutschen Ophthalmologischen Gesellschaft wurde ihr 2012 für ihre wissenschaftlichen Verdienste der »Albrecht von Graefe Preis« verliehen. Sie ist Autorin von mehr als 200 Publikationen in wissenschaftlichen Zeitschriften. Sie hat über 40 Buchkapitel geschrieben und ein Buch über »Diabetische Retinopathie«, »Photodynamische Therapie« und »Augenheilkunde Essentials« herausgegeben. Sie ist Mitglied in mehreren nationalen und internationalen Advisory Boards und Steering Committees. Sie ist verantwortlich für zahlreiche, durch Drittmittel geförderte Forschungsprojekte der Universitäts-Augenklinik Ulm, unter anderem von der EU geförderten Consortiums-Studien.



Prof. Dr. Gabriele E. Lang

Leiterin der Sektion
Konservative Retinologie
und Laserchirurgie
Klinik für Augenheilkunde
Universitätsklinikum Ulm
Prittwitzstraße 43
89075 Ulm

KONTAKT



Die Stadienverteilung des Keratokonus im unterschiedlichen Lebensalter – Eine Querschnittsanalyse aus dem Homburger Keratokonus Center HKC

DR. ELIAS FLOCKERZI¹, DR. SUSANNE GOEBELS¹, SONIA RAZAFIMINO¹, DR. ELENA ZEMOVA¹, LOIC HAMON¹, THERESIA NZAU¹, ULRIKE KLÜHSPIES¹, PD DR. TIMO EPPIG², PROF. DR. ACHIM LANGENBUCHER², PROF. DR. BERTHOLD SEITZ¹

1 Klinik für Augenheilkunde

Universitätsklinikum des Saarlandes UKS, Homburg

2 Institut für Experimentelle Ophthalmologie

Universitätsklinikum des Saarlandes UKS, Homburg

Beim Keratokonus (KK) handelt es sich um eine Hornhautektasie mit fortschreitender Verdünnung und Ausbildung eines irregulären Astigmatismus mit Visuseinschränkung [1]. Im Jahr 2010 wurde das Homburger Keratokonus Center (HKC) gegründet um den KK anhand eines möglichst großen Patientenkollektivs zu untersuchen. Idealerweise wird jeder KK-Patient bei Erstvorstellung in Homburg eingeschlossen und anschließend beide Corneae standardisiert topo-, tomographisch und biomechanisch untersucht. Aktuell umfasst das HKC mehr als 1500 Patienten. Im Jahr 2016 stellten Belin und Duncan als neue KK-Stadieneinteilung das »ABCD Grading System« vor [2, 3], welches auf den vier Parametern A (anteriore Krümmung), B (posteriore Krümmung), C (dünnste Pachymetrie) und D (bestkorrigierter Fernvisus) basiert und für jeden dieser Parameter fünf Stadien vorsieht (0 als einfachste, unauffällige oder subklinische, und 4 als schwerste Ausprägung). Diese Einteilung ist in der Software der Pentacam (Oculus, Wetzlar, Deutschland) implementiert und als wertvolle Hilfe zur Unterscheidung von progressiven und nicht-progressiven KK etabliert [4]. Darauf basierend wurden 1917 nicht voroperierte Corneae der ersten 1000 HKC-Patienten anhand der erhobenen Befunde ihrer Erstvor-

stellung (bei Kontaktlinsenträgern mit drei Tagen Karenz) nachklassifiziert. Zur Auswertung wurden die Patienten in Altersdekaden gruppiert und die Stadienverteilung in den Altersdekaden ausgewertet.

Die Auswertung der Parameter A und B als Maße für die Vorder- (A) und Rückflächenkrümmung (B) erbrachte in allen Altersdekaden signifikant mehr A0 als B0 klassifizierte Corneae ($p < 0,02$, Wilcoxon Test für verbundene Stichproben). Eine analoge Verteilung zeigte sich für die Stadien 1 und 2 ($A_1 > B_1$, $p < 0,03$ sowie $A_2 > B_2$, $p < 0,02$). Im Stadium 3 waren etwa gleich viele Corneae A₃ und B₃ klassifiziert ($p > 0,5$). Nur im Stadium 4 wurden in allen Altersdekaden signifikant mehr Corneae B₄ als A₄ klassifiziert ($p < 0,02$, **Abb. 1**).

Da für beide Parameter A und B jeweils die Ausprägungen in fünf Stadien möglich sind, bestehen theoretisch 25 mögliche AB-Kombinationen. Mehr als 70 % der Corneae (1347 von 1917) wurden allerdings durch fünf AB-Kombinationen erfasst. Diese sind A₄B₄ ($n=451$, 24 %), A₀B₀ ($n=311$, 16 %), A₂B₄ ($n=242$), A₂B₂ ($n=189$) und A₁B₂ ($n=154$).

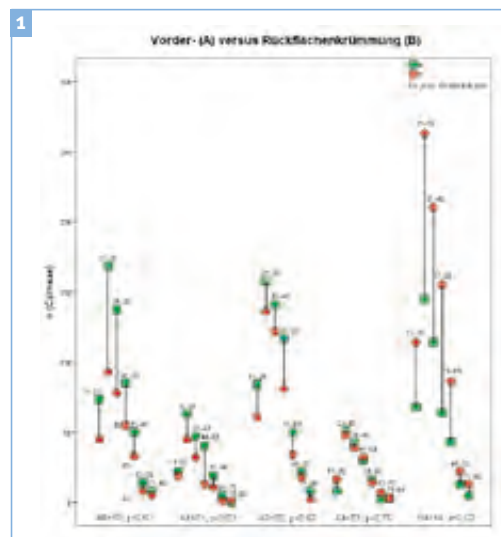
Bei der Auswertung der dünnsten Pachymetrie (C) wurden in allen Altersdekaden (Ausnahme: Patienten über 60 Jahre) signifikant mehr Corneae C₀ als C₁ klassifiziert ($p < 0,04$). In den Folgestadien zeigte sich eine Abnahme der Anzahl an Corneae mit zunehmendem Ausdünnungsstadium ($C_1 > C_2$, $p < 0,03$; $C_2 > C_3$, $p < 0,01$; $C_3 > C_4$, $p < 0,02$, Wilcoxon Test für verbundene Stichproben, **Abb. 2**).

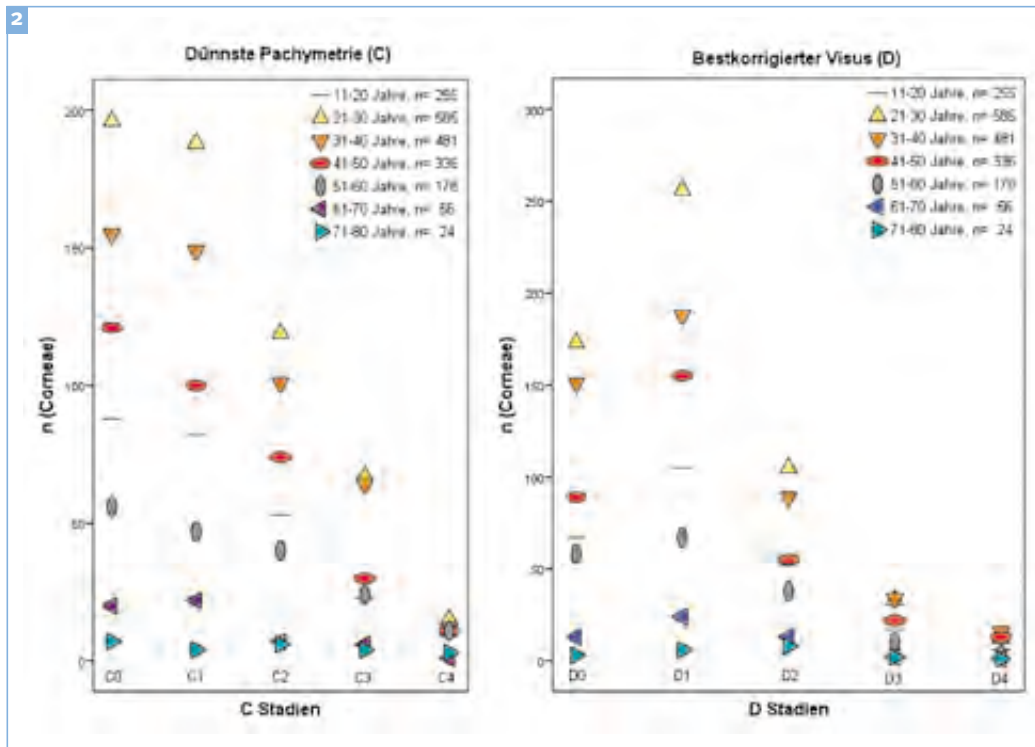
Bei Betrachtung des bestkorrigierten Visus (D) wurden die meisten Corneae in allen Altersdekaden (Ausnahme: Patienten über 70 Jahre) als D₁ (Visus 0,5 bis $< 1,0$) klassifiziert, gefolgt von D₀ ($\geq 1,0$), D₂ (0,2 bis $< 0,5$), D₃ (0,05 bis $< 0,2$) und D₄ ($< 0,05$, **Abb. 2**).

Letzterer ist der schwächste Parameter, da eine sofortige Bestkorrektur beim bislang nicht kontaktlinsen-versorgten KK-Patient schwer möglich ist. Die meisten Patienten erzielten einen Visus von 0,5

Abbildung 1

■ Vergleich Vorder- (grün) und Rückflächenkrümmung (rot). Signifikant mehr Corneae klassifiziert A₀>B₀ ($p < 0,02$), A₁>B₁ ($p < 0,03$) und A₂>B₂ ($p < 0,02$) in allen Altersdekaden (über den Messpunkten angegeben). Kein signifikanter Unterschied zwischen der Anzahl an A₃ und B₃ klassifizierten Corneae ($p = 0,75$). Signifikant mehr Corneae klassifiziert B₄>A₄ ($p < 0,02$) in allen Altersdekaden. P-Werte berechnet mittels Wilcoxon Test für verbundene Stichproben.



**Abbildung 2**

■ **Dünnsste Pachymetrie (C):** Absolute Anzahl Corneae in Stadien C₀, C₁, C₂, C₃ und C₄ in den verschiedenen Altersdekaden (Legende). Signifikant mehr Corneae klassifiziert C₀>C₁ ($p<0,04$), C₁>C₂ ($p<0,03$), C₂>C₃ ($p<0,01$) und C₃>C₄ ($p<0,02$) in allen Altersdekaden (bis auf >60 Jahre). **Bestkorrigierter Visus (D):** Absolute Anzahl Corneae in Stadien D₀, D₁, D₂, D₃ und D₄ in den verschiedenen Altersdekaden (Legende). Signifikant mehr Corneae klassifiziert D₁>D₀ ($p<0,008$), D₀>D₂ ($p<0,08$), D₂>D₃ ($p<0,008$) und D₃>D₄ ($p<0,02$) in allen Altersdekaden (bis auf >70 Jahre). P-Werte berechnet mittels Wilcoxon Test für verbundene Stichproben.

bis 1,0 (D₁) oder besser (D₀), da bereits 36% (n=364) der Patienten formstabile Kontaktlinsen trugen. In allen Altersdekaden wiesen die meisten Corneae eine normale Dicke auf, wobei diese mit fortschreitender Erkrankung abnahm. Nimmt die Dicke ab, nimmt die Vorderflächenkrümmung zu (71% der A₄ klassifizierten Corneae wurden als C₄ klassifiziert), was zusammen mit einer reduzierten Keratoytendichte im vorderen Stroma [5] auf eine Erkrankung der Hornhautvorderfläche hindeutet. Da jedoch 96% der B₄ klassifizierten Corneae als C₄ eingestuft wurden, scheint der Effekt der mit abnehmender Dicke zunehmenden Verkrümmung bei fortgeschrittenen Stadien auf der Hornhaurückfläche noch deutlicher hervorzutreten als auf der Vorderfläche. Die aktuelle Auswertung deutet somit darauf hin, dass bei späten Stadien häufig vor allem die Rückflächenkrümmung zunimmt. Ein Schwachpunkt der Klassifikation ist die Erfassung früher, subklinischer oder forme fruste KK, da diese im Stadium 0 eingeordnet und somit anhand der Klassifikation schwer von gesunden Augen abgegrenzt werden können. Berücksichtigt werden muss bei der Auswertung, dass die Universitäts-Augenklinik des Saarlandes ein Hornhauttransplantationszen-

trum ist [6], weshalb viele Patienten mit fortgeschrittenem KK zur Keratoplastik vorstellig werden. Dies könnte zu einer Verzerrung der Stadienverteilung führen. Eine Entzerrung wird durch den Einschluss der meist weniger betroffenen Partneraugen erreicht, welche – asymmetrisch zum schlechteren Auge [7] – seltener fortschreiten. Dies erklärt auch die hohe Anzahl an A₀B₀ klassifizierten KK, welche meist subklinische Formen an Partneraugen schwerer Formen darstellen.

Diese altersdekaden-abhängige Stadienverteilung, welche sich als in allen Dekaden vergleichbar erwies, dient als Basis für eine longitudinale KK-Analyse über mehrere Jahre. Da Frühstadien vor allem die Vorderflächenkrümmung zu beeinflussen scheinen, gleichzeitig aber durch Veränderungen der Rückfläche diagnostiziert werden oder mit Spätstadien der Rückflächenkrümmung einhergehen können, kann die Entstehung des KK derzeit weder isoliert der Hornhautvorder- noch der Hornhaurückfläche zugeschrieben werden.

LITERATUR

1. Goebels S., Eppig T., Wagenpfeil S. et al. Staging of Keratoconus Indices Regarding Tomography, Topography, and Biomechanical Measurements. *Am J Ophthalmol* 2015; 159 (4): 733–738.e3.
2. Belin M.W., Duncan J.K. Keratoconus: The ABCD Grading System. *Klin Monatsbl Augenheilkd* 2016; 233 (6): 701–707.
3. Belin M.W., Duncan J., Ambrósio R., Gomes J.A.P. A new tomographic method of staging / classifying keratoconus: The ABCD grading system. *Int J Kerat Ect Cor Dis* 2015; 4 (3): 85–93.
4. Kosekahya P., Caglayan M., Koc M. et al. Longitudinal evaluation of the progression of keratoconus using a novel progression display. *Eye Contact Lens* 2019; epub ahead of print, doi: 10.1097/ICL0000000000000582.
5. Sherwin T., Ismail S., Loh I.-P., McGhee J.J. Histopathology (from keratoconus pathology to pathogenesis). In: *Keratoconus: Recent advances in diagnosis and treatment*. Cham, Switzerland: Springer International Publishing AG; 2017. p. 25–41.
6. Flockerzi E., Maier P., Böhringer D., et al. Trends in corneal transplantation from 2001 to 2016 in Germany: A report of the DOG-section cornea and its keratoplasty registry. *Am J Ophthalmol* 2018; 188: 91–98.
7. Eppig T., Spira-Eppig C., Goebels S., et al. Asymmetry between left and right eyes in keratoconus patients increases with the severity of the worse eye. *Curr Eye Res* 2018; 43(7): 848–855.



Dr. med. Elias Flockerzi, Jahrgang 1989, absolvierte das Medizinstudium in Homburg (Saarland) und ist seit 2015 als Assistenzarzt an der Klinik für Augenheilkunde am Universitätsklinikum des Saarlandes (UKS) in Homburg tätig. Er arbeitet u.a. in der Forschungsgruppe des Homburger Keratokonus Center (HKC), welches die Erkrankung Keratokonus anhand derzeit mehr als 1600 Patienten untersucht.

KONTAKT



Dr. med. Elias Flockerzi
Klinik für Augenheilkunde am
Universitätsklinikum des Saarlandes UKS
Kirrberger Straße
66421 Homburg
Tel. 06841 / 16-22302
Fax 06841 / 16-22479
E-Mail: elias.flockerzi@uks.eu

INTERLENS

Contactlinsen-Institute e.V.

Kompetenz

Spezialisierung

Präzision

Komfort

Anpassung

Individualität

Qualität

Service

Beratung deutschlandweit

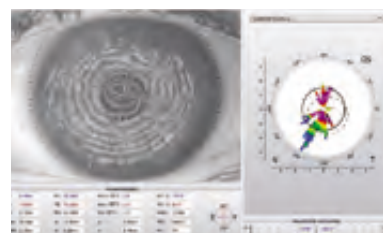
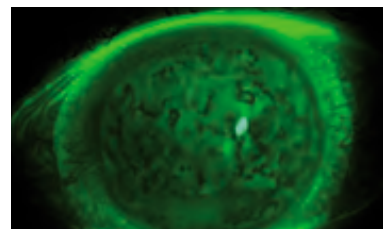
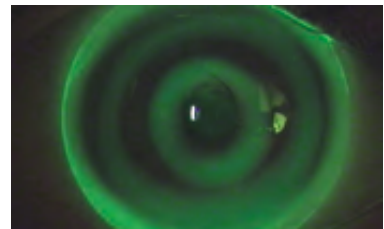
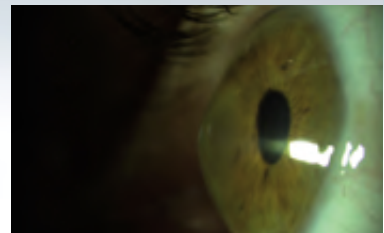
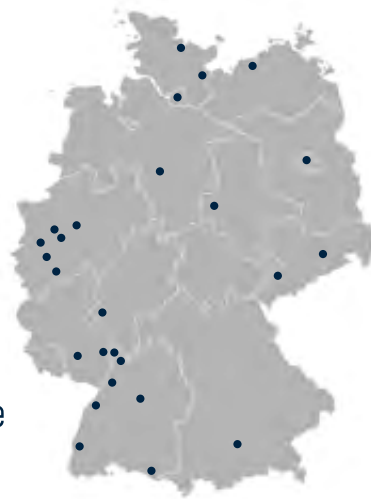
Wir sind über **30 Kontaktlinsen-Institute**, verteilt über ganz Deutschland, die in der INTERLENS e.V. ihr Spezialwissen bündeln und weiterentwickeln.

Wir sind gerne Ihr Partner bei der Versorgung Ihrer Patienten bei Keratokonus, Keratoplastik, Z.n. Lasik etc. sowie bei congenitaler Cataract, Myopie-Management oder Presbyopie.

Wir sind auch in Ihrer Nähe!

Informieren Sie sich auf unserer Website.

www.interlens.de

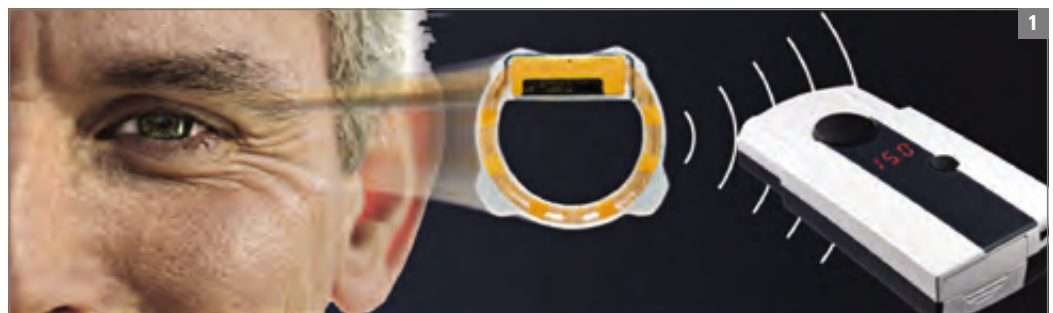


Kompetenz im Blick

Telemetrische Selbstmessung des intraokularen Drucks mit dem eyemate-IO® Drucksensorimplantat

Eine der größten Herausforderungen in der Diagnostik und Therapie des Glaukoms stellt die regelmäßige und akkurate Messung des Augeninnendrucks (IOD) dar. Konventionelle Verfahren erfordern in der Regel spezielle Geräte und ausgebildetes Personal. Dieser Umstand begrenzt die Messhäufigkeit dieses hochdynamischen Parameters auf üblicherweise eine Messung im Quartal. Die Variabilität des IOD und die maximalen Druckwerte werden dadurch in aller Regel nicht ausreichend erfasst, obwohl sie therapeutisch relevant sein können [1, 2]. Hinzu kommt, dass sämtliche konventionellen Messverfahren den IOD nur indirekt von außen messen, und deshalb von verschiedenen systematischen und zufälligen Fehlerquellen beeinflusst werden [3, 4].

Abb. 1: Der sulcusfixierte Sensor wird durch das Handlesegerät berührungslos mit Strom versorgt und ist nur für die Dauer der Messung aktiv. Dadurch kommt er ohne Batterie aus und kann lebenslang im Auge verbleiben.



Literatur

1. Caprioli, J. & Coleman, A. L. Intraocular pressure fluctuation a risk factor for visual field progression at low intraocular pressures in the advanced glaucoma intervention study. *Ophthalmology* 115, 1123-1129.e3 (2008).
2. Leidl, M. C., Choi, C. J., Syed, Z. A. & Melki, S. A. Intraocular pressure fluctuation and glaucoma progression: what do we know? *Br. J. Ophthalmol.* 98, 1315-1319 (2014).
3. Whitacre, M. M. & Stein, R. Sources of error with use of Goldmann-type tonometers. *Surv. Ophthalmol.* 38, 1-30 (1993).
4. Tonnu, P.-A. et al. A comparison of four methods of tonometry: method agreement and interobserver variability. *Br. J. Ophthalmol.* 89, 847-850 (2005).
5. Choritz, L. & Thieme, H. Telemetric IOP measurement via implantable pressure sensor - 12 month results from the ARGOS-02 trial. *Ophthalmol.* 114, 56 (2017). - Meeting Abstract

Im Rahmen der prospektiven, multizentrischen, einarmigen, unverblindeten ARGOS-02 Studie wurden deshalb die Sicherheit und Performance eines neuartigen implantierbaren, permanent im Auge verbleibenden Drucksensors (eyemate®, Implandata Ophthalmic Products GmbH, Hannover) klinisch untersucht [5]. Der ringförmige, faltbare Sensor wurde hierfür mithilfe eines modifizierten IOL-Injektors bei insgesamt 22 Glaukompatienten während einer geplanten Kataraktoperation in den Sulcus ciliaris implantiert (Abb. 1). Die Patienten wurden anschließend über einen Zeitraum von 12 Monaten nachbeobachtet. Primäre Endpunkte der Studie waren Art und Anzahl implantatbedingter unerwünschter Ereignisse (Sicherheitsendpunkt) sowie die Messkonkordanz zwischen eyemate® und Goldmann-Appplanationstonometrie (Performance-Endpunkt) drei Monate nach der Implantation. Sekundäre Endpunkte umfassten das Auftreten längerfristiger implantatbezogener Ereignisse, die langfristige Messkonkordanz, das Auftreten von Implantat-Fehlfunktionen sowie die Evaluation der durch mehrfach tägliche Selbstmessung erfassten IOD-Werte der Patienten.

Sicherheit

Im Lauf der Studie traten bei 4 Patienten unerwünschte Ereignisse auf, die zur stationären Behandlung der Patienten führten: in zwei Fällen kam es kurz nach Implantation (7 und 13 Tage postoperativ) zu einer kurzfristigen Fibrinreaktion. Bei einem Patienten kam es 9 Tage nach Implantation zu einer temporären Hornhautdekomensation, die folgenlos ausheilte. Bei einem Patienten musste 345 Tage nach der Implantation eine drucksenkende Operation durchgeführt werden. Die Ursache des IOD-Anstiegs lag am ehesten in einer Pigmentfreisetzung während der kompli-

kativen Implantation des Sensors. Bei keinem der Patienten kam es im Verlauf zu einem Visusverlust; Netzhautdicke, Endothelzellzahl und Kammerwinkelweite und -pigmentierung blieben im Wesentlichen stabil. Der Sensor verblieb bei allen Patienten bis zum Ende der Studie funktionsfähig im Auge.

Performance

Vergleichsmessungen zwischen eyemate® und GAT wurden ab dem ersten postoperativen Monat bei allen Visiten durchgeführt. Dabei zeigte sich eine gute Messkonkordanz zwischen den beiden Methoden (Cronbach's alpha: 0,882; 95% KI: 0,835-0,915), mit einem leichten Anstieg der Messabweichung bei höheren IOD-Werten.

Die Messbereitschaft der Patienten war mit durchschnittlich 7,9 ± 1,4 Messungen pro Tag sehr hoch, im Rahmen der Studie wurden insgesamt mehr als 49.000 Einzelmessungen erfasst. Aus diesen ließen sich u.a. Tagesdruckverläufe und der Effekt von Medikamenten ableiten.

Auch die Patientenzufriedenheit mit dem Messsystem war sehr hoch. Zwei Sensoren mussten im Lauf der Studie nach einer UBM Untersuchung, bzw. YAG-Laser Anwendung rekaliert werden, am Ende der Studie waren alle Sensoren noch funktionsfähig.

Die Ergebnisse der ARGOS-02 Studie führten zur CE-Kennzeichnung des eyemate®-Systems, und der Sensor kann an ausgewählten Zentren bei Glaukompatienten klinisch eingesetzt werden. Weitere Langzeitbeobachtungen zur Sicherheit und Performance, sowie verschiedene wissenschaftliche Untersuchungen mit dem Sensor dauern derzeit an.

KONTAKT

Implandata Ophthalmic Products GmbH
 Kokenstraße 5
 30159 Hannover
 Tel.: +49 (0)511 2204 2580
 info@implandata.com

Autoimmune, druckabhängige und vaskuläre Komponenten beim Glaukom und deren Zusammenspiel

PRIV.-DOZ. DR. ADRIAN GERICKE^{1*}, PRIV.-DOZ. DR. VERENA PROKOSCH^{1*};
DR. NADINE VON THUN UND HOHENSTEIN-BLAUL¹;
PROF. DR. NORBERT PFEIFFER¹, PROF. DR. DR. FRANZ H. GRUS¹

Das Glaukom stellt eine Gruppe von Erkrankungen mit wahrscheinlich unterschiedlicher Ursache dar. Ein erhöhter Intraokularer Druck (IOD) stellt aktuell den wichtigsten und einzigen behandelbaren Risikofaktor für die Entstehung und Progression des Glaukoms dar, obwohl auch andere Faktoren, wie eine abnorme Durchblutungsregulation und immunologische Mechanismen eine Rolle zu spielen scheinen. Ob die einzelnen Risikofaktoren sich gegenseitig beeinflussen können, ist bisher nicht geklärt. Da das Glaukom trotz Normalisierung des IOD fortschreiten kann, bestehen durch erhöhten IOD aktivierte molekulare Prozesse wahrscheinlich auch druckunabhängig fort.

AUTOIMMUNE KOMPONENTE BEIM GLAUKOM

Mehrere Studien deuten auf eine mögliche autoimmune Beteiligung an der Pathogenese des Glaukoms hin. Krankheitsspezifische Veränderungen in komplexen Expressionsspiegeln von Immunglobulin G (IgG) Autoantikörpern (AK) gegen Augengewebe konnten in Patienten mit unterschiedlichen Glaukomformen nachgewiesen werden. Darüber hinaus sind diese AK-Profile sehr stabil und konnten in Studienpopulationen verschiedener Kontinente gefunden werden. Besonders erwähnenswert ist die Tatsache, dass nicht nur erhöhte AK nachgewiesen wurden, sondern auch eine Reduktion einiger AK beobachtet werden konnte. Analysen bei Glaukompatienten zeigten beispielsweise die Hochregulation von AK gegen z.B. Hitzeschockprotein 70 (HSP70), Alpha-Fodrin, oder Myelin-Basisches Protein (MBP) und ein vermindertes Vorkommen von AK gegen α B-Crystallin oder Vimentin, um nur einige zu nennen (zusammengefasst in [1]). Während erhöhte AK einen autoaggressiven Verlust retinaler Ganglienzellen (RGC) im Tiermodell hervorrufen, zeigen unsere *in vitro* und *in vivo*-Studien eine schützende Wirkung von einigen beim Glaukom vermindert vorliegenden AK (z.B. AK gegen gamma-Synuclein oder gegen GFAP (saures Gliafaserprotein)), die auf reduzierten Stress in der Netzhaut zurückzuführen zu sein scheint (zusammengefasst in [2]).

VASKULÄRE KOMPONENTE BEIM GLAUKOM

Arterielle Hyper- und Hypotension, abnorme Blutflussparameter und Vasospasmen wurden in Zusammenhang mit dem Glaukom gebracht. Des Weiteren wurden bei Glaukompatienten eine reduzierte Kapillardichte in der Netzhaut und im Sehnervenkopf sowie erhöhte Endothelmarkerwerte in Kammerwasser und Blutserum nachgewiesen [3, 4]. Papillenrandblutungen, die zu den typischen Befunden beim Glaukom zählen, deuten zudem auf eine gestörte vaskuläre Integrität hin. Wir haben es geschafft, Gefäßfunktionen im Mausmodell zu untersuchen [5]. Damit konnten wir zeigen, dass eine moderate Erhöhung des IOD zu einer endothelialen Dysfunktion und einer gestörten Autoregulation in retinalen Arteriolen führt. Zudem war die Konzentration an reaktiven Sauerstoffverbindungen und die Expression des pro-oxidativen Redoxgens NOX2 in retinalen Gefäßen erhöht, was auf eine Beteiligung von oxidativem Stress hindeutet. Die Befunde zeigen erstmalig eine Interaktion zwischen Intraokularer Druck und Gefäßfunktion.

BIOMARKER UND NEUROPROTEKTION

Spezifische Veränderungen können Biomarker darstellen, die die Diagnose erleichtern oder aber auch neurotoxische Effekte haben und ihre Reversibilität neuroprotektiv sein. Daher wurde eine Vielzahl von neuroprotektiven Mitteln vorgeschlagen, die auf molekulare Veränderungen abzielen: Sie lösen einen RGC-Verlust aus und zwar aufgrund von (1) Exzitotoxizität, (2) oxidativem Stress, (3) Stickoxidschaden, (4) Mikroglia-Überaktivierung und (5) Apoptose. Beim Glaukom werden toxische Substanzen wie Glutamat, reaktive Sauerstoffspezies und Stickoxid (NO) freigesetzt. Mikroglia werden überaktiviert, die Mitochondrienfunktion nimmt ab und die Transkription von überlebens- oder tödlichen Genen wird moduliert. Gemeinsame abschließende Signalwege werden aktiviert mit anschließender Neuronen-Apoptose bei RGC. Ein erhöhter Augeninnendruck und andere Mechanismen scheinen einen sich selbst aufrechterhaltenden Prozess der RGC-Degeneration auszulösen.

1 Experimentelle und Translationale Ophthalmologie
Augenklinik und Poliklinik der Universitätsmedizin an der Johannes Gutenberg Universität Mainz

* geteilte Erstautorenschaft



Priv.-Doz. Dr. Verena Prokosch



Priv.-Doz. Dr. Adrian Gericke



Prof. Dr. Dr. Franz H. Grus

Auf zellulärer Ebene können typische Reaktionen der verschiedenen Zellen und Zellverbände der RGC, der Mikroglia sowie der Endothelzellen und Gefäße gesehen und proteomische und genetische Veränderungen analysiert werden.

Die Modelle eignen sich gut, um die gewünschten Augeninnendrucksituationen zu imitieren und/oder RGC-Verlust zu provozieren. Die Gefäße und Gefäßzellen zeigten Augeninnendruck induzierte Veränderungen der Morphologie und Funktion. Insbesondere die Crystalline, H₂S, β III-Tubulin und CRMP-5 zeigten auf molekularer Ebene interessante Expressionsverschiebungen bei erhöhtem Augeninnendruck und im weiteren Versuchsverlauf neuroprotektive und/oder sogar regenerative Effekte *in vivo* und *in vitro* [6, 7].

Neuroprotektion könnte eine wesentliche Rolle bei der Verlangsamung der mit Sehverlust verbundenen pathologischen Prozesse spielen und durch den Schutz von RGCs und des Sehnervs zur Verringerung des Sehverlusts beitragen.

LITERATUR

1. Bell, K., O.W. Gramlich, N. Von Thun Und Hohenstein-Blaul, S. Beck, S. Funke, C. Wilding, N. Pfeiffer, and F.H. Grus, Does autoimmunity play a part in the pathogenesis of glaucoma? *Prog Retin Eye Res*, 2013. 36: p. 199–216.
2. Von Thun Und Hohenstein-Blaul, N., S. Kunst, N. Pfeiffer, and F.H. Grus, Biomarkers for glaucoma: from the lab to the clinic. *Eye (Lond)*, 2017. 31 (2): p. 225–231.
3. Mann, C., F. Anders, H. Liu, K. Brockhaus, A. Liu, F.H. Grus, N. Pfeiffer, S. Thanos, and V. Prokosch, [Morphological and Quantitative Changes in Retinal and Optic Nerve Vesicles in Experimental Glaucoma Model with Elevated IOP for 7 Weeks]. *Klin Monbl Augenheilkd*, 2018.
4. Mann, C., S. Thanos, K. Brockhaus, F.H. Grus, N. Pfeiffer, and V. Prokosch, [Endothelial Cell Reaction to Elevated Hydrostatic Pressure and Oxidative Stress in Vitro]. *Klin Monbl Augenheilkd*, 2018.
5. Gericke, A., E. Goloborodko, N. Pfeiffer, and C. Manicam, Preparation Steps for Measurement of Reactivity in Mouse Retinal Arterioles Ex Vivo. *J Vis Exp*, 2018 (135).
6. Anders, F., J. Teister, A. Liu, S. Funke, F.H. Grus, S. Thanos, H.D. von Pein, N. Pfeiffer, and V. Prokosch, Intravitreal injection of beta-crystallin B2 improves retinal ganglion cell survival in an experimental animal model of glaucoma. *PLoS One*, 2017. 12(4): p. e0175451.
7. Lauzi, J., F. Anders, H. Liu, N. Pfeiffer, F. Grus, S. Thanos, S. Arnhold, and V. Prokosch, Neuroprotective and neuroregenerative effects of CRMP-5 on retinal ganglion cells in an experimental *in vivo* and *in vitro* model of glaucoma. *PLoS One*, 2019. 14 (1): p. e0207190.

KONTAKT



Prof. Dr. Dr. Franz H. Grus
 Augenklinik und Poliklinik
 der Universitätsmedizin Mainz
 Experimentelle und Translationale
 Ophthalmologie
 Langenbeckstraße 1
 55131 Mainz
 Tel. 06131 / 173328
 Fax 06131 / 175566
 E-Mail: fgrus@eye-research.org
 Internet: www.eye-research.org

Prof. Dr. Dr. Franz H. Grus ist Leiter der »Experimentellen und Translationalen Ophthalmologie« an der Augenklinik der Universitätsmedizin der Johannes Gutenberg Universität Mainz (Direktor: Prof. Dr. Norbert Pfeiffer).

Priv.-Doz. Dr. Adrian Gericke ist Oberarzt an der Augenklinik der Universitätsmedizin der Johannes-Gutenberg-Universität Mainz.

Priv.-Doz. Dr. Verena Prokosch ist Oberärztin an der Augenklinik der Universitätsmedizin der Johannes-Gutenberg-Universität Mainz.

ZUSAMMEN STÄRKER



PROSTAGLANDIN

BETA-BLOCKER

Fixaprost®

Latanoprost 50 Mikrogramm/ml + Timolol 5 mg/ml

Die erste konservierungsmittelfreie
Latanoprost / Timolol-Kombination

⊕ nachgewiesene Wirksamkeit

⊕ bessere Verträglichkeit

⊕ auf Festbetrag



Fixaprost® 50 Mikrogramm/ml + 5 mg/ml Augentropfen, Lösung im Einzeldosisbehältnis. **Wirkstoffe:** Latanoprost und Timolol. **Zusammensetzung:** 1 ml Lösung enthält etwa 50 Mikrogramm Latanoprost und 5 mg Timolol. Ein Tropfen enthält etwa 1,5 Mikrogramm Latanoprost und 0,15 mg Timolol. Sonstige Bestandteile: Macroglygcerolhydroxystearat (Ph. Eur.), Sorbitol (Ph. Eur.), Macrogol 4000, Carbomer 974P, Natriumedetat (Ph. Eur.), Natriumhydroxid (zur pH-Wert-Einstellung), Wasser für Injektionszwecke. **Anwendungsgebiete:** Zur Senkung des Augeninnendrucks (IOD) beim Offenwinkelglaukom und bei okulärer Hypertension bei Patienten, bei denen als Augentropfen angewendete Betablocker oder Prostaglandin-Analoga nicht ausreichend wirksam sind. **Gegenanzeigen:** Fixaprost ist kontraindiziert bei Patienten mit reaktiven Atemwegserkrankungen einschließlich Bronchialasthma oder Bronchialasthma in der Anamnese, schwerer chronisch-obstruktiver Lungenerkrankung; Sinusbradykardie, Sick-Sinus-Syndrom, sinuatrialem Block, atrioventrikulärem Block 2. oder 3. Grades ohne Herzschrittmacher, manifeste Herzinsuffizienz, kardiogenem Schock; Überempfindlichkeit gegen die Wirkstoffe oder einen der sonstigen Bestandteile. **Nebenwirkungen:** *Sehr häufig (>1/10):* Verstärkte Irispigmentierung. *Häufig (≥ 1/100 bis < 1/10):* Augenschmerzen, Irritationen des Auges (einschließlich Stechen, Brennen und Jucken, Fremdkörpergefühl). *Gelegentlich (≥ 1/1.000 bis < 1/100):* Kopfschmerzen, Erkrankung der Hornhaut, Konjunktivitis, Blepharitis, Hyperämie des Auges, verschwommenes Sehen, verstärkte Tränensekretion, Hautausschlag, Juckreiz. **Latanoprost:** Keratitis herpetica, Schwindel, Veränderungen an Wimpern und Flaumhaaren (länger, dicker, stärker pigmentiert sowie erhöhte Anzahl); Keratitis punctata, periorbitales Ödem, Iritis, Uveitis; Makulaödem, einschließlich zystoides Makulaödem; trockenes Auge, Keratitis, Hornhautödem; Hornhauterosion; Trichiiasis; Iriszyste; Photophobie; Veränderungen des Periorbitabereichs und des Lids, die zu einer Vertiefung des Oberlidswulks führen, Augenlidödem; lokal begrenzte Hautreaktion auf den Augenlidern; Pseudopemphigoid der Bindehaut des Auges; Dunkelfärbung der Lidhaut, Angina pectoris; instabile Angina pectoris; Palpitationen, Asthma, Verstärkung von bestehendem Asthma, Atemnot, Myalgie, Arthralgie, Brustschmerzen. **Timololmaleat:** Systemische allergische Reaktionen einschließlich anaphylaktische Reaktion, Angioödem, Urtikaria, lokalisierter und generalisierter Ausschlag, Pruritus, Hypoglykämie, Gedächtnisverlust, Schlaflosigkeit, Depressionen, Alpträume, Zerebrovaskuläre Zwischenfälle, zerebrale Ischämie, Schwindel, vermehrte Anzeichen und Symptome einer Myasthenia gravis, Parästhesie, Kopfschmerzen, Synkope, Ablösung der Choroidea nach einer filtrierenden Operation, Hornhauterosion, Keratitis, Diplopie, reduzierte Empfindlichkeit der Hornhaut, Anzeichen und Symptome von okulärer Irritation (z. B. Brennen, Stechen, Jucken, Tränen und Rötung), trockene Augen, Ptosis, Blepharitis, verschwommenes Sehen, Tinnitus, Herzstillstand, Herzinsuffizienz, atrioventrikulärer Block, Stauungsinsuffizienz, Schmerzen im Brustbereich, Arrhythmien, Bradykardie, Ödeme, Palpitationen, kalte Hände und Füße, Hypotonie, Raynaud-Syndrom, Bronchospasmus (vor allem bei Patienten mit vorbestehendem bronchospastischen Leiden), Husten, Dyspnoe, Bauchschmerzen, Erbrechen, Diarrhoe, Mundtrockenheit, Dysgeusie, Dyspepsie, Übelkeit, Hautausschlag, psoriasisartiger Ausschlag, Verschlechterung von Psoriasis, Alopezie, Myalgie, sexuelle Dysfunktion, verminderte Libido, Asthenie, Müdigkeit. **Verreibungspflichtig.** Théa Pharma GmbH, Schillerstr. 3, 10625 Berlin. Stand: Juli 2018.

 **Théa**
let's open our eyes

Einfluss von Augenbewegungen auf die Signalverarbeitung in den Nervenzellen der Retina

PROF. DR. TIM GOLLISCH¹

**1 Klinik für
Augenheilkunde**
Universitätsmedizin
Göttingen

Die Netzhaut ist ein erstaunlich komplexes Nervenzellgewebe. Hier findet nicht nur die Absorption von Licht durch die Fotopigmente und die damit verbundene Generierung elektrischer Signal in den Fotorezeptoren statt, sondern auch ein erheblicher Teil der visuellen Informationsverarbeitung. Ein Netzwerk aus mehr als 60 unterschiedlichen Arten von Nervenzellen [1] filtert die einkommenden visuellen Signale und extrahiert relevante Information, während Überflüssiges und Verrauschtes verworfen wird. Schließlich wird die erhaltene Information in Form von elektrischen Pulsen (Aktionspotentialen) entlang des optischen Nervs durch die Axone der retinalen Ganglienzellen an unterschiedliche Hirnareale weitergeleitet. Die Komplexität der Signalverarbeitung in der Netzhaut kommt in der Vielfalt der Subtypen dieser Ganglienzellen zum Ausdruck. Jeder dieser schätzungsweise 20 bis 30 Subtypen deckt mit seinen Einzelzellen dabei das gesamte visuelle Feld ab, sodass die Netzhaut Dutzende unterschiedlich gefilterte Abbilder des visuellen Umfelds parallel an nachfolgende Hirnareale liefert [2]. Diese Vielfalt der Signalverarbeitung zu verstehen gehört zu den derzeit zentralen Fragestellungen der Grundlagenforschung an der Netzhaut. Ein verbessertes Verständnis ist daneben aber auch für die weitere Entwicklung von Sehprothesen und Therapien zur Wiederherstellung des Sehsinns von Bedeutung, um beispielsweise Behandlungen bei Degenerationskrankheiten der Fotorezeptoren zu ermöglichen [3, 4].

In der experimentellen Ophthalmologie an der Augenklinik der Universitätsmedizin Göttingen behandeln wir diese Fragestellungen mittels Untersuchungen an Tiermodellen, insbesondere den traditionellen Modellen der Maus- und Salamander-Netzhaut. Diese Netzhäute teilen mit der menschlichen Netzhaut den grundlegenden Aufbau der Nervenzellschaltkreise und erlauben die Isolierung von gesundem Netzhautgewebe, welches dann in Nährlösung gehalten und bezüglich der visuellen Signalverarbeitung untersucht werden kann. So lassen sich die elektrischen Pulse hunderter von Ganglienzellen mittels sogenannter Multielektroden-Arrays messen, während gleichzeitig die Fotorezeptoren durch die Projektion eines Computerbildschirms stimuliert werden.

Traditionell basiert ein Großteil der Untersuchungen zur Signalverarbeitung in der Netzhaut auf stark vereinfachten visuellen Reizen, wie etwa der stufenweisen Änderung der Lichtintensität. Es wird jedoch zunehmend deutlich, dass viele Aspekte der Signalverarbeitung nur im Kontext komplexer, natürlicher Lichtreize zum Vorschein kommen. Ein spezifischer Ansatz, den wir daher in unserer Forschung verfolgen, ist, den Einfluss von natürlichen Augenbewegungen auf die Signale der Netzhaut zu untersuchen. Menschen wie auch Tiere fixieren beim natürlichen Sehen für kurze Zeit einen bestimmten Punkt im visuellen Raum, um dann mittels einer ruckartigen Augen- oder Körperbewegung (»Sakkade«) einen neuen Fixationspunkt anzusteuern. Obwohl bekannt ist, dass derartige schnelle Bildabfolgen sowohl erregende wie auch hemmende Signale in der Netzhaut auslösen [5, 6], weiß man noch wenig darüber, wie sich diese Dynamik auf die Verarbeitung der Bildinformation auswirkt. Zusätzlich ist auch während der Fixation das auf die Netzhaut fallende Bild nicht komplett bewegungslos, sondern erfährt durch kleine Augenbewegungen (»Fixationsaugenbewegungen«) eine ständige Verschiebung, die wir zwar nicht wahrnehmen, mit denen das visuelle System jedoch umgehen muss.

Die Auswirkungen beider Arten von Bewegungen der Blickrichtung, Sakkaden und Fixationsaugenbewegungen, lassen sich an der isolierten Netzhaut gut untersuchen, da sich die Bewegungsmuster durch Verschieben des auf die Fotorezeptoren projizierten Bildes simulieren lassen. Da die Netzhaut auch im Normalzustand keine Information aus dem Gehirn über die Augenbewegungen erhält, ist es aus Sicht ihrer Nervenzellen äquivalent, ob sich das Auge oder die Bildprojektion bewegt. Auf diese Weise konnten wir in Messungen an der Netzhaut der Maus zeigen, dass unterschiedliche Subtypen von Ganglienzellen auf unterschiedliche Weise auf Sakkaden reagieren [7]. Während für die Aktivität einiger Zellen nur relevant war, welcher Bildabschnitt nach der Sakkade auf die Zelle fiel, reagierten andere Zellen besonders stark, wenn sich die entsprechenden Bildabschnitte vor und nach der Sakkade besonders stark unterschieden. Wiederum andere Zellen wurden dann aktiv, wenn nach der

Sakkade ein möglichst ähnlicher Bildabschnitt auf die Zelle fiel wie davor. Dieser letzte Zelltyp ist von besonderem Interesse, da die Sensitivität für wiederkehrende Bildmuster unerwartet und ungewöhnlich ist – meist fahren Zellen ihre Aktivität bei wiederkehrenden Reizen durch Adaptierungsprozesse herunter. Es lässt sich hier daher eine spezielle Funktion zum Beispiel bei der Bildstabilisierung vermuten. Weitere Experimente zeigten, dass diese Ganglienzellen ihre Sensitivität für wiederkehrende Bildelemente aus einem speziellen Schaltkreis beziehen, in dem hemmende Signaleingänge selbst wieder durch andere Nervenzellen gehemmt werden können [7].

Auch Untersuchungen mit simulierten Fixationsaugenbewegungen haben überraschende Ergebnisse geliefert. So haben wir mittels Messungen an Salamander-Netzhäuten die Frage gestellt, wie richtungsselektive Ganglienzellen reagieren, wenn ein Bild im Muster der Fixationsaugenbewegungen verschoben wird. Richtungsselektive Ganglienzellen sind spezielle Nervenzellen der Netzhaut, die bei kontinuierlich bewegten Bildern besonders stark reagieren, wenn die Bewegung in eine spezielle Richtung (die »Vorzugsrichtung« der Zelle) erfolgt; bei Bewegung in die gegensätzliche Richtung wird die Aktivität jedoch gehemmt. Unsere Ergebnisse zeigten jedoch, dass im Rahmen der komplexen Bewegungsmuster der Fixationsaugenbewegungen einzelne richtungsselektive Ganglienzellen auch bei Bewegungen entgegen der Vorzugsrichtung aktiv werden konnten [8], da auch diese Bewegungen präferierte Helligkeitsänderungen hervorrufen können. Dennoch kann das visuelle System aus den Zellantworten die Bewegungsrichtung des Bildes auslesen, und zwar indem es die Aktivitäten mehrerer richtungsselektiver Zellen vergleicht. Durch Berechnung von Aktivitätsdifferenzen lässt sich Information über die Bewegungsrichtung herausziehen, während Information über Helligkeitsänderungen verworfen wird. So erweist sich die Aktivitätsdifferenz zweier Zellen als besonders informativ; sie enthält mehr Information als die beiden

Einzelzellen in der Summe – ein Fall von »Das Ganze ist mehr als die Summe seiner Teile« oder auch »Synergie«.

Diese Beispiele zeigen, dass neue Erkenntnisse über die Signalverarbeitung in der Netzhaut gewonnen werden können, wenn die Dynamik natürlicher Augenbewegungen berücksichtigt wird. Weder die serielle Inhibition im Schaltkreis der untersuchten Ganglienzellen der Maus-Netzhaut noch die synergistische Information von Paaren von richtungsselektiven Ganglienzellen ergeben sich aus den üblichen Messungen mit standardisierten, einfachen Lichtreizen. Erst die Betrachtung unter natürlichen Reizmustern hat die entsprechenden Schaltkreise hinreichend aktiviert und ihre Bedeutung für die Aktivität der Ganglienzellen hervortreten lassen.

LITERATUR

1. Masland R.H. The neuronal organization of the retina. *Neuron* 2012; 76: 266–280.
2. Gollisch T., Meister M. Eye smarter than scientists believed: neural computations in circuits of the retina. *Neuron* 2010; 65: 150–164.
3. Stingl K., Zrenner E. Electronic approaches to restitute vision in patients with neurodegenerative diseases of the retina. *Ophthalmic Rev* 2013; 50: 215–220.
4. Roska B., Sahel J.A. Restoring vision. *Nature* 2018; 557: 359–367.
5. Noda H., Adey W.R. Retinal ganglion cells of the cat transfer information on saccadic eye movement and quick target motion. *Brain Res* 1974; 70: 340–345.
6. Roska B., Werblin F. Rapid global shifts in natural scenes block spiking in specific ganglion cell types. *Nat Neurosci* 2003; 6: 600–608.
7. Krishnamoorthy V., Weick M., Gollisch T. Sensitivity to image recurrence across eye-movement-like image transitions through local serial inhibition in the retina. *Elife* 2017; 6: e22431.
8. Kühn N.K., Gollisch T. Activity correlations between direction-selective retinal ganglion cells synergistically enhance motion decoding from complex visual scenes. *Neuron* 2019; 101: 963–976.



Prof. Dr. Tim Gollisch ist Forschungsprofessor in der Klinik für Augenheilkunde der Universitätsmedizin Göttingen. Nach Abschluss eines Physik-Studiums an der Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg mit Aufenthalt am Weizmann Institute of Science, Israel, und am California Institute of Technology, USA, promovierte er 2004 an der Humboldt-Universität Berlin in Biophysik. Es folgte ein dreijähriger Aufenthalt als Wissenschaftler am Department for Cellular and Molecular Biology der Harvard Universität, USA, und die Leitung einer Forschungsgruppe am Max-Planck-Institut für Neurobiologie in München-Martinsried. 2010 wurde er an die

Universitätsmedizin Göttingen berufen. Sein wissenschaftlicher Fokus liegt auf der Analyse der visuellen Signalverarbeitung in der Netzhaut.

Prof. Dr. Tim Gollisch

Klinik für Augenheilkunde
Universitätsmedizin Göttingen
Waldweg 33
37073 Göttingen
E-Mail: tim.gollisch@med.uni-goettingen.de
www.retina.uni-goettingen.de

KONTAKT



Fluoreszenzlebensdauerophthalmoskopie (FLIO) bei altersbedingter Makuladegeneration

DR. RER. NAT. MARTIN HAMMER¹, DR. RER. NAT. ROWENA SCHULTZ¹,
 PROF. DR. MED. DANIEL MELLER¹

1 Universitätsklinikum
 Jena

Die altersbedingte Makuladegeneration ist eine multifaktoriell bedingte Erkrankung. Epidemiologische Studien haben weiche Drusen und Pigmentverschiebungen als Risikoindikatoren für eine Krankheitsprogression erkannt [1–3]. Um die Ursachen dafür zu verstehen ist es wichtig herauszufinden, welche chemischen Verbindungen in Drusen vorkommen und wie sie physiologische Vorgänge in der äußeren Netzhaut, dem retinalen Pigmentepithel (RPE) und der Choriocapillaris beeinflussen können. Weiche Drusen und basallineare Ablagerungen auf und in der Bruchschens Membran enthalten im Wesentlichen Lipide und Lipoproteine, die entweder aus der Phagozytose der Photorezeptoraußensegmente stammen können oder aus der Aderhaut für die Versorgung der Photorezeptoren zur Verfügung gestellt werden [4–6]. Diese Ablagerungen können den Transport von Makromolekülen [7] und Sauerstoff [8] von der Aderhaut zur Netzhaut behindern. Weiterhin können diese Lipide unter hohen Sauerstoffkonzentrationen und Lichteinstrahlung vermehrt peroxidiert werden [9]. Lipidperoxide verursachen RPE-Zellstress und Makrophagenaktivierung und können so zur Pathogenese der AMD beitragen [10, 11]. Das RPE über Drusen kann entweder in Apoptose gehen oder sich von seiner Basalmembran ablösen und in die Netzhaut migrieren [12]. Solche migrierten RPE-Zellen erscheinen in der Funduskopie als Hyperpigmentierungen und im OCT als hyperreflektive Punkte [13].

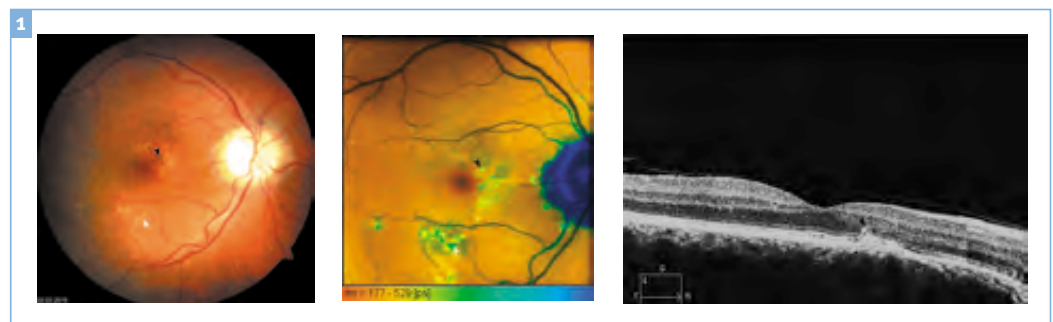
In der Fundusautofluoreszenz (FAF) erscheinen Hyperpigmentierungen hyperfluoreszent während Drusen nur gelegentlich hyperfluoreszent sind [14]. Um verschiedene Fluorophore unterscheiden zu

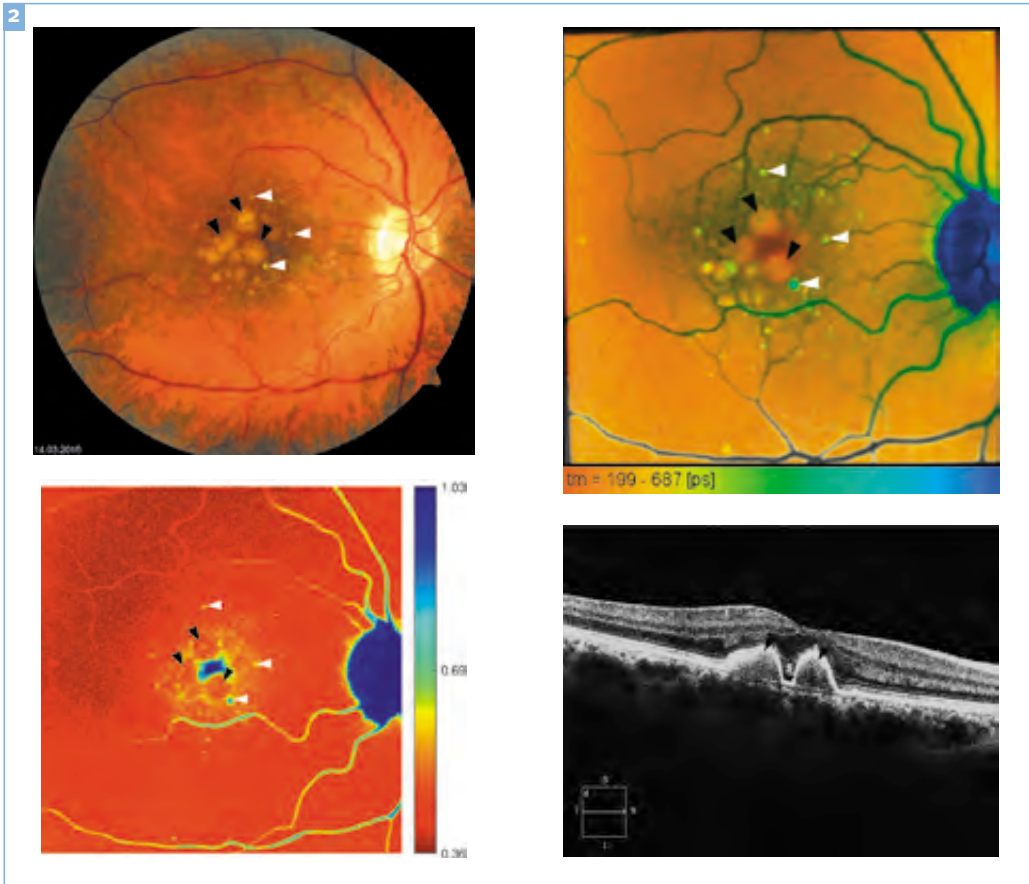
können habe wir FLIO entwickelt [15, 16]. FLIO benutzt ein Laser-Scanning Ophthalmoskop (Spectralis, Heidelberg Engineering GmbH) um die FAF mit kurzen Laserpulsen anzuregen. Das Zeitverhalten der Fluoreszenz wird aufgezeichnet und hieraus werden die Fluoreszenzlebensdauern berechnet. Zusätzlich wird die spektrale Information der Fluoreszenz erfasst. Da die Aufnahme in zwei separaten Spektralkanälen erfolgt, kann diese mit dem Intensitätsverhältnis in diesen beiden Kanälen (spectral ratio) beschrieben werden.

Mit diesem Verfahren konnten wir zeigen, dass Hyperpigmentierungen deutlich verlängerte Fluoreszenzlebensdauern haben (**Abb. 1**). Dies könnte auf eine veränderte Lipofuszinzusammensetzung hindeuten. Aber auch Drusen zeigen gelegentlich verlängerte Fluoreszenzlebensdauern (**Abb. 1, Abb. 2**), im Mittel über alle 2760 von uns untersuchten weichen Drusen war das jedoch nicht der Fall. Dagegen konnte eine signifikante Verschiebung des Fluoreszenzmaximums der Drusen zu kürzeren Wellenlängen festgestellt werden. Damit konnten erstmals entsprechende post-mortem Befunde [17] in vivo bestätigt werden. Da Drusen anatomisch vom stark fluoreszierenden Pigmentepithel überdeckt sind ist ihr Beitrag zur gesamten FAF bei der in-vivo vorgenommenen *en face* Beobachtung nur schwer auszumachen. So können mit fluoreszenten Molekülen angereicherte Drusen zu einer Hyperfluoreszenz beitragen während eine Ausdünnung des RPE über der Druse auch eine Hypofluoreszenz hervorrufen kann. Entsprechend verschieden können auch die Beiträge von Lipofuszin im RPE und Fluorophoren in Drusen zur gemessenen Fluores-

Abbildung 1

■ 74-jähriger AMD-Patient.
 Links: Fundusfoto, Mitte:
 FLIO-Bild, Rechts: OCT.
 Schwarze Pfeilspitze:
 Hyperpigmentierung (im
 OCT auch als hyperreflek-
 tiver Punkt in der äußeren
 Retina zu sehen), weiße
 Pfeilspitze: Druse.



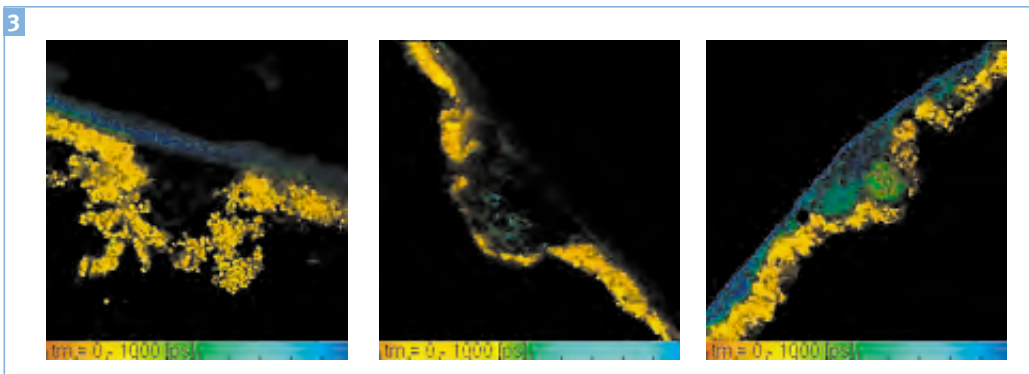
**Abbildung 2**

■ 66-jähriger Patient mit Pigmentepithelabhebungen (PED, schwarze Pfeilspitzen) und Drusen (weiße Pfeilspitzen). Von links oben nach rechts unten: Fundusfoto, FLIO-Bild (PED zeigen kurze Fluoreszenzlebensdauern, Drusen lange), spectral ratio (höher für Drusen) und OCT (Pfeilspitzen zeigen PED)

zenzlebensdauer sein. Bei einer Untersuchung von histologischen Schnitten menschlicher Spenderaugen am 2-Photonen-Mikroskop konnten wir 171 Drusen identifizieren und hinsichtlich ihrer Fluoreszenzeigenschaften vermessen (Abb. 3). Während auch hier eine sehr homogene spektrale Verschiebung zu kürzeren Wellenlängen gegenüber der RPE-Fluoreszenz bestätigt werden konnte, zeigte sich hinsichtlich der Fluoreszenzlebensdauer eine große Heterogenität, wenn sie auch generell länger war als die des RPE. Dies zeigt, dass die Zusammensetzung des Gemisches verschiedener Lipide und Lipoproteine in einzelnen Drusen sehr verschieden sein kann. FLIO hilft uns diese verschiedenen Drusen zu differenzieren. Der Einsatz dieser Technik

in longitudinalen Studien an AMD-Patienten kann entsprechend darüber Auskunft geben, welche Drusen mit dem Risiko einer Krankheitsprogression assoziiert sind.

Zusammenfassend kann gesagt werden, dass FLIO eine vielversprechende neue Methode in der ophthalmologischen Bildgebung ist. Sie gibt uns die Möglichkeit der Charakterisierung von Stoffwechselprodukten, die in der Pathogenese der AMD eine entscheidende Rolle spielen können. Das lässt neue Erkenntnisse zur Ätiologie der Erkrankung erwarten und wird zukünftig zur Erweiterung unserer diagnostischen Möglichkeiten sowie zu einem verbesserten Therapiemonitoring beitragen.

**Abbildung 3**

■ RPE, Drusen und Bruchsche Membran in der 2-Photonen Fluoreszenzlebensdauer mikroskopie. Während die Bruchsche Membran einheitlich lange Fluoreszenzlebensdauern zeigt und das RPE Lipofuszingranula mit kurzen Lebensdauern, können Drusen sehr variabel sein. Sie können kaum fluoreszentes Material enthalten (links), einzelne fluoreszente Punkte zeigen (mitte) oder mit fluoreszentes Material gefüllt sein (rechts). Dabei zeigt die rechte Abbildung, dass eine Druse auch zwei Kerne unterschiedlicher Zusammensetzung, erkennbar an den unterschiedlichen Lebensdauern (blau und grün kodiert) enthalten kann.

LITERATUR

1. Gass J.D. (1973) Drusen and disciform macular detachment and degeneration. *Arch Ophthalmol* 90: 206–217.
2. Ferris F.L., Davis M.D., Clemons T.E., Lee L.Y., Chew E.Y., Lindblad A.S. (2005) A simplified severity scale for age-related macular degeneration: AREDS Report No. 18. *Arch Ophthalmol-Chic* 123: 1570–1574.
3. Ferris F.L., 3rd, Wilkinson C.P., Bird A., Chakravarthy U., Chew E., Csaky K., Sadda S.R., Beckman Initiative for Macular Research Classification C (2013) Clinical classification of age-related macular degeneration. *Ophthalmology* 120: 844–851 DOI 10.1016/j.ophtha.2012.10.036.
4. Curcio C.A., Johnson M., Rudolf M., Huang J.-D. (2011) The oil spill in ageing Bruch membrane. *British Journal of Ophthalmology* 95: 1638–1645.
5. Loane E., Nolan J.M., O'Donovan O., Bhosale P., Bernstein P.S., Beatty S. (2008) Transport and retinal capture of lutein and zeaxanthin with reference to age-related macular degeneration. *Surv Ophthalmol* 53: 68–81 DOI 10.1016/j.survophthal.2007.10.008.
6. Wang L., Li C.M., Rudolf M., Belyaeva O.V., Chung B.H., Messinger J.D., Kedishvili N.Y., Curcio C.A. (2009) Lipoprotein particles of intraocular origin in human Bruch membrane: an unusual lipid profile. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 50: 870–877 DOI 10.1167/iovs.08-2376.
7. Cankova Z., Huang J.D., Kruth H.S., Johnson M. (2011) Passage of low-density lipoproteins through Bruch's membrane and choroid. *Exp Eye Res* 93: 947–955 DOI 10.1016/j.exer.2011.10.016.
8. Linsenmeier R.A., Zhang H.F. (2017) Retinal oxygen: from animals to humans. *Prog Retin Eye Res* 58: 115–151 DOI 10.1016/j.preteyeres.2017.01.003.
9. Spaide R.F., Ho-Spaide W.C., Browne R.W., Armstrong D. (1999) Characterization of peroxidized lipids in Bruch's membrane. *Retina* 19: 141–147.
10. Spaide R.F., Armstrong D., Browne R. (2003) Continuing medical education review: choroidal neovascularization in age-related macular degeneration – what is the cause? *Retina* 23: 595–614.
11. Wang H., Hartnett M.E. (2016) Regulation of signaling events involved in the pathophysiology of neovascular AMD. *Mol Vis* 22: 189–202.
12. Zacks D.N., Johnson M.W. (2004) Transretinal pigment migration: an optical coherence tomographic study. *Arch Ophthalmol* 122: 406–408 DOI 10.1001/archophth.122.3.406.
13. Folgar F.A., Chow J.H., Farsiou S., Wong W.T., Schuman S.G., O'Connell R.V., Winter K.P., Chew E.Y., Hwang T.S., Srivastava S.K., Harrington M.W., Clemons T.E., Toth C.A. (2012) Spatial correlation between hyperpigmentary changes on color fundus photography and hyperreflective foci on SDOCT in intermediate AMD. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 53: 4626–4633 DOI 10.1167/iovs.12-9813.
14. Bindewald A., Bird A.C., Dandekar S.S., Dolar-Szczasny J., Dreyhaupt J., Fitzke F.W., Einbock W., Holz F.G., Jorzik J.J., Keilhauer C., Lois N., Mlynski J., Pauleikhoff D., Staurenghi G., Wolf S. (2005) Classification of fundus autofluorescence patterns in early age-related macular disease. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 46: 3309–3314.
15. Schweitzer D., Schenke S., Hammer M., Schweitzer F., Jentsch S., Birkner E., Becker W., Bergmann A. (2007) Towards metabolic mapping of the human retina. *Microsc Res Tech* 70: 410–419 DOI 10.1002/jemt.20427.
16. Sauer L., Andersen K.M., Dysli C., Zinkernagel M.S., Bernstein P.S., Hammer M. (2018) Review of clinical approaches in fluorescence lifetime imaging ophthalmoscopy. *J Biomed Opt* 23: 1–20 DOI 10.1117/1.JBO.23.9.091415.
17. Tong Y., Ben Ami T., Hong S., Heintzmann R., Gerig G., Ablonczy Z., Curcio C.A., Ach T., Smith R.T. (2016) Hyperspectral Autofluorescence Imaging of Drusen and Retinal Pigment Epithelium in Donor Eyes with Age-Related Macular Degeneration. *Retina* 36 Suppl 1: S127–S136 DOI 10.1097/IAE.0000000000001325.



KONTAKT



Dr. rer. nat. Martin Hammer
 Universitätsklinikum Jena
 Am Klinikum 1
 07747 Jena
 Tel. 03641 / 9390860
 E-Mail: Martin.Hammer@med.uni-jena.de

SPECTRALIS® High-Magnification-Modul

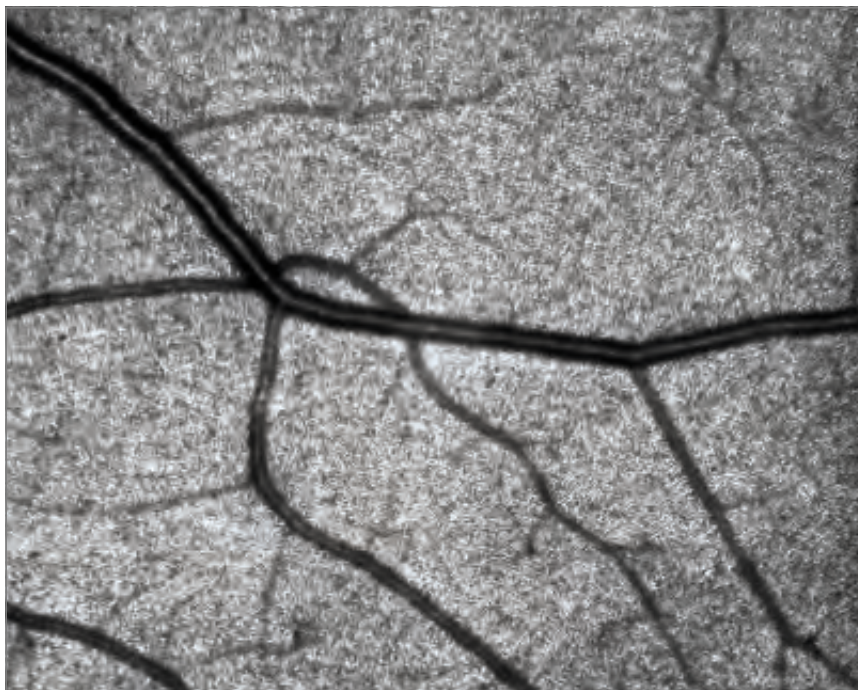
Mit dem neuesten Objektiv für das SPECTRALIS von Heidelberg Engineering die Mikrostrukturen der Netzhaut genauer untersuchen

Das High-Magnification-Modul (HMM) wurde entworfen, um die Mikrostrukturen im hinteren Augenabschnitt noch detaillierter darstellen zu können. Dabei verwendet das HMM nicht einfach einen digitalen Zoom, sondern setzt auf die außerordentliche Technologie des SPECTRALIS, kombiniert mit einer besonders hohen Abtastdichte. Die Detailgenauigkeit der mit dem HMM aufgenommenen Bilder kann ganz neue Einblicke in die Pathogenese und das Fortschreiten von Netzhauterkrankungen gewähren. Dadurch können chirurgische Eingriffe und Behandlungsentscheidungen präzisiert werden.



„Es ist sehr vielversprechend, dass Infrarotbilder des Fundus mit dieser Vergrößerung mit dem bewährten SPECTRALIS-Gerät aufgenommen werden können. Anscheinend können wir damit sogar zu den Photorezeptoren schauen. Das High-Magnification-Modul haben wir erst vor kurzem in unsere multimodale Bildgebungsroutine aufgenommen und freuen uns darauf, seinen klinischen Wert voll auszureizen.“

Prof. Dr. Giovanni Staurenghi,
Professor für Ophthalmologie an der Universität Mailand



Die multimodale Bildgebungsplattform SPECTRALIS bietet die Flexibilität, im Standardbild von 30°, im Weitwinkelbild von 55° oder im Ultraweitwinkelbild von 102° Regionen mit Auffälligkeiten zu bestimmen und diese mit dem High-Magnification-Modul in einem hochaufgelösten Bild von 8° x 8° gezielt zu vergrößern. In diesem vergrößerten Ausschnitt werden in Scans mit einer wesentlich höheren Abtastdichte sehr detaillierte Informationen über die Mikrostrukturen im Auge gesammelt.

Der mit dem HMM generierte Bildausschnitt ermöglicht die genauere Untersuchung der Bereiche mit Auffälligkeiten und ist dabei immer noch groß genug, um die zu untersuchende Region schnell zu lokalisieren und aufzunehmen.

Exzellente konfokale Optiken sind ausschlaggebend

Das nicht-invasive High-Magnification-Modul nutzt die Möglichkeiten der konfokalen Scanning-Laser-Ophthalmoskopie (cSLO) der SPECTRALIS-Plattform auf optimale Weise, indem es sie mit den optischen Eigenschaften des Laserlichts kombiniert, sodass retinale Mikrostrukturen so hochaufgelöst dargestellt werden, wie es typischerweise im klinischen Alltag bislang nicht möglich ist.

Klinische Anwendungen

Die Anwendung dieser neuen Technologie ist innovativ und wird derzeit mit bereits etablierten Bildgebungsverfahren kombiniert – zum Beispiel zur Untersuchung von Patienten mit versehrter Ellipsoidzone oder Veränderungen der äußeren Netzhautschichten, Drusen im Frühstadium, drusenartigen Ablagerungen im Zusammenhang mit AMD, pachychoroidalen Erkrankungen sowie Nervenfaserbündeldefekten oder für die Beurteilung der retinalen Gefäßwände.

Der mit dem HMM generierte Bildausschnitt ermöglicht die genauere Untersuchung der Bereiche mit Auffälligkeiten und ist dabei immer noch groß genug, um die zu untersuchende Region schnell zu lokalisieren und aufzunehmen.

Die HMM-Bilder zeigen Details der Mikrostrukturen, die mit den meisten Bildgebungsverfahren vermutlich nicht entdeckt worden wären.

www.HeidelbergEngineering.de

KONTAKT

Heidelberg Engineering GmbH
Max-Jarecki-Straße 8
69115 Heidelberg
Tel.: +49 (0)6221 6463-317
www.HeidelbergEngineering.de

Zellaufgelöste Netzhautfunktion

DR. WOLF M. HARMENING¹

**1 Emmy Noether
Nachwuchs-
gruppenleiter**
Universitäts-
Augenklinik Bonn

Der Einsatz adaptiver Optiken in der Netzhautbildung ermöglicht durch die Kompensation der natürlichen Wellenfrontfehler des Auges eine nahezu beugungsbegrenzte laterale Ortsauflösung in bildgebenden Verfahren [Hermann et al., 2004; Marcos et al., 2017; Williams, 2011]. Dadurch werden extrem scharfe und kontrastreiche Bilder der Netzhaut erreicht, und bislang unzugängliche mikroskopische Strukturen sichtbar. Insbesondere werden adaptive Optiken in der Scanning Laser Ophthalmoskopie eingesetzt (AOSLO) [Roorda et al., 2002]. Mit einer konfokalen Lichtdetektion kann hier neben der Darstellung der Zapfen- und Stäbchen-Photorezeptoren [Dubra et al., 2011] die Netzhaut optisch sektioniert werden. Dadurch werden höher liegende Schichten, wie Kapillare [Tam, Martin, & Roorda, 2010] und der retinalen Nervenfaserschicht sichtbar [Carroll, Kay, Scoles, Dubra, & Lombardo, 2013]. Durch veränderte Lichtdetektionskonfigurationen können auch die weniger Licht streuenden Strukturen im lebenden Auge hochaufgelöst dargestellt werden, wie z.B. die weiter distal liegenden RPE-Zellen [Tam, Liu, Dubra, & Fariss, 2016], die Photorezeptorsegmente [Scoles et al., 2014], und die Ganglienzellschicht [Rossi et al., 2017].

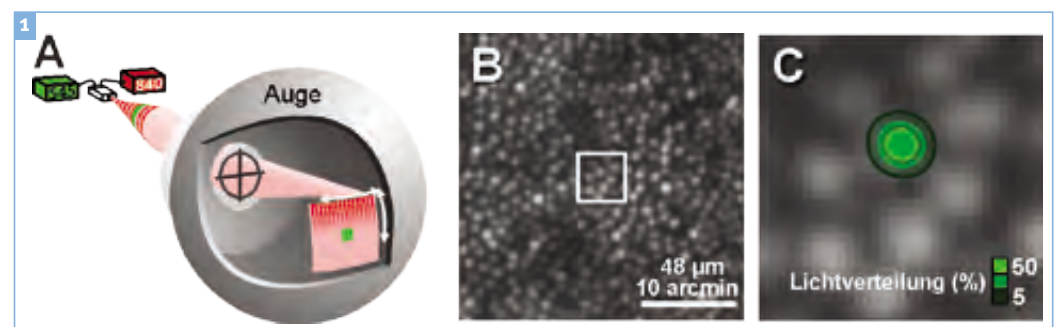
Neben der verbesserten Bildgebung eignet sich das AOSLO als technologische Plattform, um zellgenaue funktionelle Untersuchung der Netzhaut *in vivo* durchführen zu können [Harmening, Tuten, Roorda, & Sincich, 2014]. Durch den optischen double-pass Aufbau in diesen Geräten werden sowohl die von der Netzhaut reflektierten Lichtstrahlen als auch

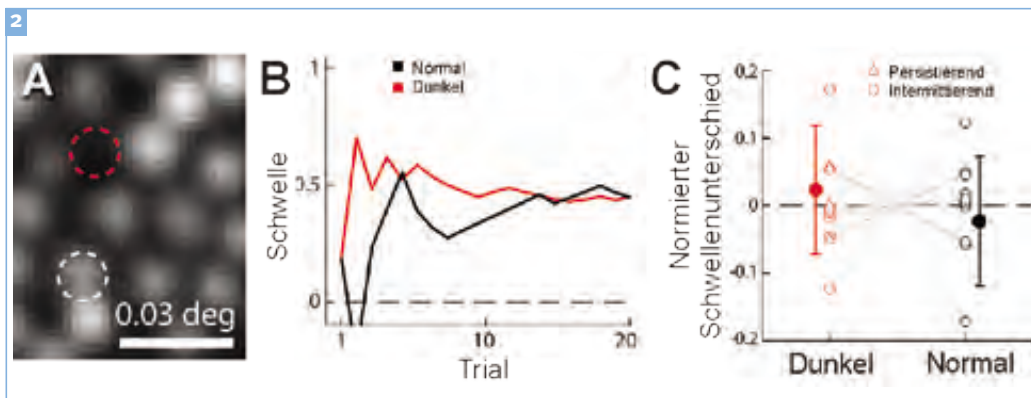
die einfallenden Wellenfronten korrigiert, sodass neben der Bildgebung auch eine Stimulation der Netzhaut mit höchster Präzision möglich wird (**Abb. 1A**). Über schnelle akustooptische Schalter können mehrere Lichtquellen in den bildgebenden Pfad eingekoppelt werden, sodass Stimulationen mit multiplen Wellenlängen durchgeführt werden können [Grieve, Tiruveedhula, Zhang, & Roorda, 2006; Harmening, Tiruveedhula, Roorda, & Sincich, 2012]. Durch die Kombination dieser Schlüsseltechnologien mit einer Echtzeit-Bildstabilisierung können extrem kleine und optisch scharfe Lichtpunkte auf die Netzhaut mit hoher räumlicher Kontingenz gebracht werden (**Abb. 1B+C**). Da solche Stimulationen nicht-invasiv im lebenden Auge durchgeführt werden, ergibt sich die einmalige Gelegenheit für die Sehforschung, neuronale Struktur und Funktion auf mikroskopischer Ebene direkt miteinander zu korrelieren [Roorda, 2011].

Herkömmliche mikroperimetrische Messung der Netzhautfunktion sind klinisch etabliert, können aber durch die optische Aufweitung des Stimulationspunktes durch intraokulare Abbildungsfehler und unkorrigierte Augenbewegungen selten direkt mit der zugrundeliegenden Netzhautstruktur in Verbindung gebracht werden. Die Genauigkeit und Auflösung AOSLO-basierter Mikroperimetrie übersteigt jene bisheriger Verfahren signifikant. Durch automatische Bildregistrierung werden longitudinale Untersuchungen möglich, da frühere retinale Orte mit Einzelzellgenauigkeit wiedergefunden werden [Tuten, Tiruveedhula, & Roorda, 2012]. Jüngste Ergebnisse zeigen, dass mithilfe einer

Abbildung 1

■ AOSLO als Mikrostimulator. **A:** Schnelle akustooptische Schalter im AOSLO können das einfallende Licht so modulieren, dass extrem kleine visuelle Stimuli auf der Netzhaut generiert werden. **B/C:** Die tatsächliche Lichtverteilung während wiederholter psychophysikalischer Stimulation ist unter Berücksichtigung von Beugungseffekten und Fehler in der Korrektur von Fixationsaugenbewegungen geeignet, um einzelne Photorezeptoren funktionell zu testen.



**Abbildung 2**

■ **Struktur-/Funktionkorrelation.** **A:** Zapfenphotorezeptoren erscheinen mit unterschiedlicher Helligkeit im AOSLO Bild (rot: dunkel, weiß: normal). **B:** Lichtsensitivitätsschwellen wurden in Dunkel/Normal-Zellpaaren mit Zapfenstimuli psychophysikalisch gemessen. Dargestellt ist eine Beispielschwellesschwellenmessung; jede Schwelle wurde wiederholt gemessen. **C:** Sensitivitätsschwellen von »dunklen« und »normalen« Zapfen unterscheiden sich nicht. *Abbildung verändert nach [Bruce et al., 2015].*

AOSLO-basierten Mikrostimulation physiologische Eigenschaften einzelner Photorezeptorzellen direkt messbar sind, wie etwa deren Wellenleitercharakter [Bruce et al., 2015; Harmening et al., 2014], retinaler Schaltkreise [Tuten et al., 2018; Tuten, Harmening, Sabesan, Roorda, & Sincich, 2017], Farbsehen [Sabesan, Schmidt, Tuten, & Roorda, 2016; Schmidt, Boehm, Foote, & Roorda, 2018], und Funktionsveränderungen im Verlauf retinaler Erkrankung [Tu et al., 2017; Wang et al., 2015].

Die AOSLO-Mikrostimulation und deren klinische Anwendung sind noch relativ jung und bislang nur an wenigen Forschungsstandorten verfügbar. Als ein typischer struktureller Auswerteparameter bei der Beurteilung von Netzhautintegrität in der AO-Bildgebung hat sich die Dichte der Zapfenphotorezeptoren etabliert [Giannini et al., 2017]. Diese ist in vielen Fällen einer krankheitsbedingten Degeneration der Zapfen reduziert. Teilweise werden sogar, räumlich relativ scharf abgegrenzt, überhaupt keine Rezeptoren im Bild sichtbar. Es ist jedoch in diesen Fällen zu einfach anzunehmen, dass ein Fehlen der retinalen Struktur auch mit einem Fehlen visueller Funktion einhergeht. So konnte z.B. gezeigt werden, dass in der Netzhaut von Patienten mit idiopathischer makulärer Teleangiectasien Zapfenphotorezeptoren bei wiederholter Bildgebung normal erscheinen oder fehlen. Weiterhin wurde durchschnittliche Lichtsensitivität in Bereichen gemessen, wo Photorezeptoren scheinbar fehlten [Tu et al., 2017; Wang et al., 2015].

Auch in der gesunden Netzhaut erscheinen Zapfenphotorezeptoren mit unterschiedlicher Bildhelligkeit [Pallikaris, Williams, & Hofer, 2003], und manche haben dauerhaft unterdurchschnittliche Reflektivität

in der AOSLO Bildgebung und sind dauerhaft dunkel (s. **Abb. 2A**). Mithilfe der zellgenauen AOSLO Mikroperimetrie konnte erstmals gezeigt werden, dass solche dunkle Zapfen aber normale visuelle Funktion besitzen (**Abb. 2B/C**) [Bruce et al., 2015]. Die Ursache für diese Diskrepanz ist nicht geklärt, aber es ist sehr wahrscheinlich, dass die optische Pfadlänge der Photorezeptoraußensegmente deren Helligkeit in der AOSLO Bildgebung bestimmen [Jonnal et al., 2014; Kocaoglu et al., 2016]. Diese Ergebnisse zeigen deutlich, dass – wie bei jeder modernen Untersuchungsmethode – wir noch besser verstehen müssen, wie die neugewonnenen Daten interpretiert werden können. Ein Kernelement auf diesem Weg scheint die Kopplung der dargestellten Struktur mit seiner visuellen Funktion [Cooper, Tuten, Dubra, Brainard, & Morgan, 2017; Hillmann et al., 2016].

Der mikroskopische Zugang zu einzelnen Neuronen der lebenden Netzhaut stellt ein Quantensprung in der Sehforschung dar, und wird neue Wege in der Grundlagenforschung und klinischen Forschung des Sehens eröffnen. Dies ist insbesondere für die Medikamentenforschung bei neurodegenerativen Erkrankungen der Netzhaut wichtig (z. B. der altersabhängigen Makuladegeneration, Retinopathia pigmentosa, u. a.), da die betroffenen Strukturen der Netzhaut im intakten Auge direkt beobachtet werden, und dadurch neue Behandlungsstrategien effizienter als bisher auf ihre Wirksamkeit überprüft werden können. Eine Kopplung der heutigen höchstauflösenden Bildgebung mit funktioneller Testung ist in Reichweite und wird das Spektrum messbarer Veränderungen der Netzhaut und damit unser Verständnis der Ursachen und Mechanismen retinaler Funktion und Dysfunktion erweitern.

LITERATUR

- Bruce, K.S., Harmening, W.M., Langston, B.R., Tuten, W.S., Roorda, A., & Sincich, L.C. (2015). Normal Perceptual Sensitivity Arising From Weakly Reflective Cone Photoreceptors. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 56 (8), 4431–4438. <https://doi.org/10.1167/iov.15-16547>
- Carroll, J., Kay, D.B., Scoles, D., Dubra, A., & Lombardo, M. (2013). Adaptive optics retinal imaging – clinical opportunities and challenges. *Current Eye Research*, 38 (7), 709–721. <https://doi.org/10.3109/02713683.2013.784792>
- Cooper, R.F., Tuten, W.S., Dubra, A., Brainard, D.H., & Morgan, J.I.W. (2017). Non-invasive assessment of human cone photoreceptor function. *Biomedical Optics Express*, 8 (11), 5098. <https://doi.org/10.1364/BOE.8.005098>
- Dubra, A., Sulai, Y., Norris, J.L., Cooper, R.F., Dubis, A.M., Williams, D.R., Palczewski, K. (2011). Noninvasive imaging of the human rod photoreceptor mosaic using a confocal adaptive optics scanning ophthalmoscope. *Biomedical Optics Express*, 2 (7), 1864–1876. <https://doi.org/10.1364/BOE.2.001864>
- Giannini, D., Lombardo, G., Mariotti, L., Devaney, N., Serrao, S., & Lombardo, M. (2017). Reliability and agreement between metrics of cone spacing in adaptive optics images of the human retinal photoreceptor mosaic. *Investigative Ophthalmology and Visual Science*, 58 (7), 3127–3137. <https://doi.org/10.1167/iov.16-20890>
- Grieve, K., Tiruveedhula, P., Zhang, Y., & Roorda, A. (2006). Multi-wavelength imaging with the adaptive optics scanning laser ophthalmoscope. *Optics Express*, 14 (25), 12230–12242.
- Harmening, W.M., Tiruveedhula, P., Roorda, A., & Sincich, L.C. (2012). Measurement and correction of transverse chromatic offsets for multi-wavelength retinal microscopy in the living eye. *Biomedical Optics Express*, 3 (9), 2066–2077. <https://doi.org/10.1364/BOE.3.002066>
- Harmening, W.M., Tuten, W.S., Roorda, A., & Sincich, L.C. (2014). Mapping the Perceptual Grain of the Human Retina. *The Journal of Neuroscience*, 34 (16), 5667–5677. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.5191-13.2014>
- Hermann, B., Fernández, E.J., Unterhuber, A., Sattmann, H., Fercher, A.F., Drexler, W., Artal, P. (2004). Adaptive-optics ultrahigh-resolution optical coherence tomography. *Optics Letters*, 29 (18), 2142–2144. <https://doi.org/10.1364/OL.29.002142>
- Hillmann, D., Spahr, H., Pfäffle, C., Sudkamp, H., Franke, G., & Hüttmann, G. (2016). In vivo optical imaging of physiological responses to photostimulation in human photoreceptors. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 113 (46), 13138–13143. <https://doi.org/10.1073/pnas.1606428113>
- Jonnal, R.S., Kocaoglu, O.P., Zawadzki, R.J., Lee, S.H., Werner, J.S., & Miller, D.T. (2014). The cellular origins of the outer retinal bands in optical coherence tomography images. *Investigative Ophthalmology and Visual Science*, 55 (12), 7904–7918. <https://doi.org/10.1167/iov.14-14907>
- Kocaoglu, O.P., Liu, Z., Zhang, F., Kurokawa, K., Jonnal, R.S., & Miller, D.T. (2016). Photoreceptor disc shedding in the living human eye. *Biomedical Optics Express*, 7 (11), 4554. <https://doi.org/10.1364/BOE.7.004554>
- Marcos, S., Werner, J.S., Burns, S.A., Merigan, W.H., Artal, P., Atchison, D.A., Sincich, L.C. (2017). Vision science and adaptive optics, the state of the field. *Vision Research*. <https://doi.org/10.1016/j.visres.2017.01.006>
- Pallikaris, A., Williams, D.R., & Hofer, H.J. (2003). The reflectance of single cones in the living human eye. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 44 (10), 4580–4592. <https://doi.org/10.1167/iov.03-0094>
- Roorda, A. (2011). Adaptive optics for studying visual function: A comprehensive review. *Journal of Vision*, 11, 1–21. <https://doi.org/10.1167/11.5.6>
- Roorda, A., Romero-Borja, F., Donnelly, W.J. I., Queener, H., Hebert, T.J., Campbell, M.C.W., Campbell, M.C.W. (2002). Adaptive optics scanning laser ophthalmoscopy. *Optics Express*, 10 (9), 405–412.
- Rossi, E.A., Granger, C.E., Sharma, R., Yang, Q., Saito, K., Schwarz, C., Williams, D.R. (2017). Imaging individual neurons in the retinal ganglion cell layer of the living eye. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 201613445. <https://doi.org/10.1073/pnas.1613445114>
- Sabesan, R., Schmidt, B.P., Tuten, W.S., & Roorda, A. (2016). The elementary representation of spatial and color vision in the human retina. *Science Advances*, 2 (9), e1600797. <https://doi.org/10.1126/sciadv.1600797>
- Schmidt, B.P., Boehm, A.E., Foote, K.G., & Roorda, A. (2018). The spectral identity of foveal cones is preserved in hue perception. *BioRxiv*, 18 (11), 1–20. <https://doi.org/10.1101/317750>
- Scoles, D., Sulai, Y.N., Langlo, C.S., Fishman, G.A., Curcio, C.A., Carroll, J., & Dubra, A. (2014). In Vivo Imaging of Human Cone Photoreceptor Inner Segments. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 55 (7), 4244–4251. <https://doi.org/10.1167/iov.14-14542>
- Tam, J., Liu, J., Dubra, A., & Fariss, R. (2016). In Vivo Imaging of the Human Retinal Pigment Epithelial Mosaic Using Adaptive Optics Enhanced Indocyanine Green Ophthalmoscopy. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 57 (10), 4376–4384. <https://doi.org/10.1167/iov.16-19503>
- Tam, J., Martin, J.A., & Roorda, A. (2010). Noninvasive visualization and analysis of parafoveal capillaries in humans. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 51 (3), 1691–1698. <https://doi.org/10.1167/iov.09-4483>

- Tu, J. H., Foote, K. G., Lujan, B. J., Ratnam, K., Qin, J., Gorin, M. B., Roorda, A. (2017). Dysflective cones: Visual function and cone reflectivity in long-term follow-up of acute bilateral foveolitis. *American Journal of Ophthalmology Case Reports*, 7, 14–19. <https://doi.org/10.1016/j.ajoc.2017.04.001>
- Tuten, W. S., Cooper, R. F., Tiruveedhula, P., Dubra, A., Roorda, A., Cottaris, N. P., Morgan, J. I. W. (2018). Spatial summation in the human fovea: the effect of optical aberrations and fixational eye movements. *BioRxiv*, 283119. <https://doi.org/10.1101/283119>
- Tuten, W. S., Harmening, W. M., Sabesan, R., Roorda, A., & Sincich, L. C. (2017). Spatiochromatic interactions between individual cone photoreceptors in the human retina. *The Journal of Neuroscience*, in press (39), 9498–9509. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0529-17.2017>
- Tuten, W. S., Tiruveedhula, P., & Roorda, A. (2012). Adaptive optics scanning laser ophthalmoscope-based microperimetry. *Optometry and Vision Science*, 89 (5), 563–574. <https://doi.org/10.1097/OPX.0b013e3182512b98>
- Wang, Q., Tuten, W. S., Lujan, B. J., Holland, J., Bernstein, P. S., Schwartz, S. D., Roorda, A. (2015). Adaptive optics microperimetry and OCT images in macular telangiectasia type 2 retinal lesions show preserved function and recovery of cone visibility. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 56 (2), 1–30. <https://doi.org/10.1167/iovs.14-15576>
- Williams, D. R. (2011). Imaging single cells in the living retina. *Vision Research*, 51 (13), 1379–1396. <https://doi.org/10.1016/j.visres.2011.05.00>

Dr. rer. nat. Wolf Harmening, Jahrgang 1978, ist Emmy Noether Nachwuchsgruppenleiter in der Augenklinik des Universitätsklinikums Bonn (Direktor: Prof. Dr. med. Frank G. Holz). Er studierte Elektrotechnik und Biologie an der Rheinisch-Westfälischen Technischen Hochschule Aachen, wo er 2008 in der Neurobiologie promovierte. Anschließend arbeitete er als wissenschaftlicher Mitarbeiter im Institut für Zoologie und Tierphysiologie der RWTH-Aachen. Nach einem zweijährigen Forschungsaufenthalt an der School of Optometry der University of California, Berkeley (Labor Prof. Dr. Austin Roorda), kehrte er als Emmy Noether Gruppenleiter zurück nach Deutschland. Sein wissenschaftlicher Fokus liegt auf der hochauflösenden Netzhautbildgebung und der Charakterisierung visueller Wahrnehmung im Menschen.

Dr. Wolf M. Harmening

Emmy Noether Nachwuchsgruppenleiter
 Universitäts-Augenklinik Bonn
 Ernst-Abbe-Str. 2
 53127 Bonn
 Tel. 0228 / 287-15882
 E-Mail: wolf.harmening@ukbonn.de
<https://ao.ukbonn.de>



KONTAKT



Forschung in kleinen Dimensionen – zum Einsatz von Nanopartikeln und Nanofasernetzen

PROF. DR. RER. NAT. PETER HEIDUSCHKA¹

1 Forschungslabor
der Universitäts-
Augenklinik Münster

Auch in der ophthalmologischen Forschung hat der Einsatz von neuen Materialien längst Einzug gehalten. Dies betrifft sowohl die verwendeten Stoffe als auch die Größenmaßstäbe. Von Nanotechnologie spricht man bei Größen von einigen wenigen bis Dutzenden von Nanometern. Hierbei spielen vor allem zwei Einsatzgebiete eine große Rolle. Zum einen sind dies die Nanopartikel, von denen gute Verteilungseigenschaften in den verschiedensten Geweben erwartet werden. Sie sollen der Applikation von Wirkstoffen dienen, aber auch als Marker oder Tracer sowie als Kontrastmittel für die verschiedensten Untersuchungen. Zum anderen wird der Einsatz von Netzen, Membranen und anderen Strukturen untersucht, die als Ersatz oder Unterstützung von Geweben gedacht sind und aus Fasern, Folien oder Röhren aufgebaut sind, deren Dicke im Bereich von Nanometern liegt.

Im Forschungslabor der Universitäts-Augenklinik Münster arbeiten wir sowohl mit Nanopartikeln als auch an einem Projekt mit Nanofasernetzen.

NEUARTIGE NANOPARTIKEL ALS WIRKSTOFFTRÄGER

Im Rahmen eines Forschungsprojekts werden neuartige Nanopartikel eingesetzt, die von unserem Kooperationspartner in Tbilissi in Georgien auf der Grundlage von Polyarginin entwickelt wurden. Es kommen dabei verschiedene Varianten im Hinblick auf den Aufbau der Polymere und die Bedingungen ihrer Herstellung zum Einsatz, die

zum Teil PEGyliert wurden. Der Durchmesser der Nanopartikel liegt in der Größenordnung von 100 nm. Vorversuche zeigten, dass sich diese Nanopartikel durch eine hohe Stabilität und Biokompatibilität auszeichnen. Nach der Zugabe zu kultivierten Zellen werden sie von den Zellen aufgenommen und in den Lysosomen abgebaut. Ein eingeschlossener Wirkstoff wird freigesetzt. Um dieses Prinzip zu testen, sind in die bei unserem Vorhaben verwendeten Nanopartikeln Fluoreszenzfarbstoffe eingeschlossen, die es erlauben, den genauen Ort der Nanopartikel innerhalb des Auges zu lokalisieren.

Bei unseren Untersuchungen applizieren wir die verschiedenen Arten an Nanopartikeln topisch, auf die Hornhaut des Auges der Maus. Im Anschluss untersuchen wir das Ausmaß der Penetration in die Hornhaut und die tieferen Strukturen des Auges, wie Vorderkammer, Retina und Linse, aber auch die Sklera. Getestet wird weiterhin der Einfluss der Dauer der Einwirkung der Suspensionen der Nanopartikel auf die Menge der eingedrungenen Nanopartikel, gemessen an der Menge des im Auge nachweisbaren Fluoreszenzfarbstoffes. Als ersten Schritt betrachten wir die Fluoreszenz des Hornhautgewebes in der Draufsicht (*en face*). Weiterhin werden Gefrierschnitte angefertigt, die fluoreszenzmikroskopisch untersucht werden. Außerdem werden das Kammerwasser, der Glaskörper und homogenisierte Proben verschiedener Gewebe des Auges, wie der Linse, der Netzhaut und der Sklera, fluorimetrisch untersucht. In den ersten Versuchen konnte bereits eine Penetration der Nanopartikel in das Epithel der Hornhaut demonstriert werden (siehe **Abbildung 1**).

Die Nanopartikel penetrieren auch ins Innere des Auges, wie wir anhand der Fluoreszenz der oben genannten Gewebeproben, die in Abhängigkeit von der Zeit anstieg, zeigen konnten. Die Nanopartikel werden zusätzlich in der Zellkultur getestet. Dabei zeigte sich, dass sie bedeutend langsamer aufgenommen werden, wenn sie PEGyliert sind. Dies entspricht dem *in vivo* vorgefundenen Verhalten, dass PEGylierte Nanopartikel langsamer ins Gewebe eindringen.

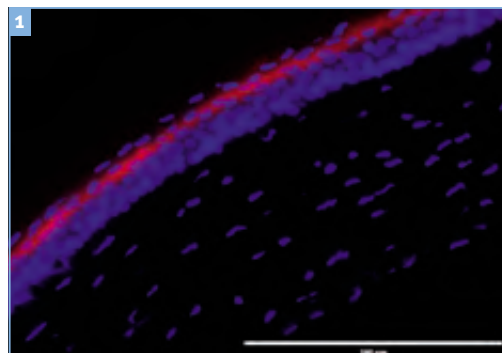


Abbildung 1

■ Gefrierschnitt durch die Hornhaut der Maus, 15 Minuten nach topischer Applikation. Blau: Mit DAPI gefärbte Zellkerne, rot – in den Nanopartikeln eingeschlossenes Rhodamin. Maßstab: 200 µm.

Wir streben mit diesem Forschungsprojekt an, einen Grundstein für eine therapeutische Anwendung der Nanopartikel legen zu können, wodurch möglicherweise zukünftig bekannte Therapien optimiert werden können, z.B. mit Anti-VEGF-Wirkstoffen oder Steroiden.

NETZE AUS NANOFASERN ALS TRÄGER FÜR ZELLEN

Bei einigen Krankheiten, wie der geographischen Atrophie, degeneriert das retinale Pigmentepithel (RPE). Infolgedessen sterben auch die Photorezeptoren in den betroffenen Gebieten ab, was zu irreversiblen Gesichtsfeldverlusten führt. Der Ersatz des degenerierten RPE ist deshalb Gegenstand vieler Forschungen. Nachdem sich die einfache subretinale Injektion von Suspensionen gesunder RPE-Zellen als wenig zielführend erwies, konzentrierte sich die Forschung in den Folgejahren auf das Konzept, RPE-Zellen auf polymeren Trägern (Folien, Membranen, u.ä.) zu kultivieren und diese dann mitsamt dem Träger subretinal zu implantieren.

Wir untersuchen die Kultivierbarkeit von RPE-Zellen aus Netzen aus Nanofasern. Diese werden im Rahmen einer Kooperation mit Prof. Fuchsluger (Rostock) am Lehrstuhl für Polymerwerkstoffe der Universität Erlangen hergestellt. Die Dicke der Fasern beträgt nur einige bis einige Dutzend Nanometer. Sie werden mittels *Electrospinning* hergestellt, und die resultierenden Netze ähneln in ihrer Struktur der extrazellulären Matrix. Die

Fasern bestehen aus Polycaprolacton (PCL), einem hydrophoben, semi-kristallinen und thermoplastischen Polyester, welcher bereits für verschiedene medizinische Anwendungen zugelassen ist. Weiterhin verwenden wir ein Co-Polymer aus PCL mit Chitosan (CHI), einem deacetylierten Polysaccharid, das vom Chitin abstammt.

Für die Untersuchung der Kultivierbarkeit von RPE-Zellen und ihr Verhalten auf diesen Netzen verwenden wir primäre RPE-Zellen aus den Augen des Schweins. Die Zellen werden aus den Augen isoliert und zuerst in normalen Kulturgefäßen herangezüchtet, dann dort herausgelöst und auf die Netze verbracht. Es zeigte sich, dass die RPE-Zellen an den Nanofasernetzen aus PCL oder PCL+CHI adhären. Sie reagieren auf den neuen Untergrund mit einem deutlichen transienten Anstieg der Expression der pro-inflammatorischen Zytokine TNF- α , IL-1 β und IL-6, während sich die Expression von PEDF oder VEGF nur geringfügig ändert. Elektronenmikroskopische Aufnahmen legen nahe, dass sich auf den Netzen die natürliche Polarität der RPE-Zellen ausbildet. Weitere Versuche laufen, um das Langzeitverhalten der RPE-Zellen auf den Nanofasernetzen zu untersuchen. Außerdem testen wir die Eignung verschiedener Oberflächenmodifikationen, indem z.B. Kollagen in die Polymermatrix eingeschlossen wird. Sobald wir auf so einem Nanofasernetz eine stabile Besiedlung der RPE-Zellen erreicht haben, die keine nennenswerte Menge an Entzündungsmediatoren freisetzen, können die ersten Versuche zur Implantation in den subretinalen Raum von Tieraugen stattfinden.

Herr Prof. Dr. rer. nat. Peter Heiduschka, Jahrgang 1960, ist Leiter des Forschungslabors der Universitäts-Augenklinik Münster. Er studierte bis 1985 Chemie und Mathematik in Halle/S. und promovierte dort 1988 zum Thema der durch Proteasen katalysierten Peptidsynthese. Er begann seine Forschungstätigkeit auf dem Gebiet der analytischen Chemie in Halle/S. und ging 1992 an das Institut für physikalische und theoretische Chemie der Universität Tübingen. Der Wechsel zur augenheilkundlichen Forschung vollzog sich 1995, als er an ein Forschungslabor der Universitäts-Augenklinik Tübingen ging, und 1997 an die Abteilung für Experimentelle Ophthalmologie der Universitäts-Augenklinik Münster. Dort arbeitete er an Prozessen der De- und Regeneration des Sehnervs. Im Jahr 2002 schloß er seine Habilitation zum Thema »zelluläre und funktionelle Aspekte der Neuroprotektion und Regeneration im zentralen Nervensystem am Beispiel des visuellen

Systems der Ratte« ab. Nach 2-jähriger Tätigkeit als Laborleiter in einer Forschungsabteilung der Novartis Pharma AG/Basel zur Degeneration von Photorezeptoren wechselte er mit dem Schwerpunkt RPE an die Universitäts-Augenklinik Tübingen, von der aus er 2010 als Laborleiter nach Münster zurückkehrte, wo er sich nun vor allem mit der retinalen und choroïdalen Neovaskularisation befasst.

Prof. Dr. rer. nat. Peter Heiduschka
Universitäts-Augenklinik Münster
Forschungslabor
Domagkstraße 15
48149 Münster
Tel. 0251/83-57532
Fax 0251/83-59120
E-Mail: heidusch@uni-muenster.de



KONTAKT



Elektrochemotherapie bei ophthalmologischen Tumoren als vielversprechende neue Behandlungsoption

DR. JOANA HEINZELMANN¹, PRIV.-DOZ. DR. DR. UDO SIEBOLTS²,
PROF. DR. ARNE VIESTENZ¹, DR. MILTIADIS FIORENTZIS¹

1 Universitätsklinik und Poliklinik für Augenheilkunde,
Universitätsklinikum Halle/Saale

2 Institut für Pathologie,
Universitätsklinikum Halle/Saale

Die Forschungsgruppe der Universitätsaugenklinik an der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg beschäftigt sich neben der Erforschung der biologischen Eigenschaften von Tumoren des Auges auch mit der Identifizierung dafür geeigneter effektiver innovativer Behandlungsstrategien. Dabei liegt ein Fokus auf der Adaption der Elektrochemotherapie (ECT) als ein potenzielles alternatives Therapieverfahren für intraokuläre Tumore, welches bereits bei anderen Tumorentitäten erfolgreich angewendet wird.

Das Aderhautmelanom ist die häufigste primär maligne Tumorentität des Auges bei Erwachsenen mit einer Inzidenzrate von 4,3:1.000.000 weltweit pro Jahr [1]. Es entsteht aus Melanozyten in der Chorioidea (85%), in dem Ziliarkörper (10%) und in der Iris (5%) [2]. Im Gegensatz zum kutanen Melanom erfolgt die Metastasierung des Aderhautmelanoms hämatogen, da die Chorioidea über keine Lymphgefäße verfügt. Meist ist die Ausbreitung des Primärtumors auf den Bulbus begrenzt, größere und sich diffus ausbreitende Melanome können jedoch in den extraskleralen Raum invadieren [3]. Tumore des Ziliarkörpers sind mit einer späteren Diagnose und einer ungünstigen Prognose assoziiert, da sie ein höheres Metastasierungspotential aufweisen.

80% der Aderhautmelanome weisen eine Mutation im guanine nucleotide binding protein G(q) subunit alpha (*GNAQ*)-Gen oder quinine nucleotide binding protein subunit alpha 11 (*GNA11*)-Gen auf [4]. Weitere häufige Alterationen sind der Verlust auf Chromosom 1p, 3, 6q und 8p sowie der Zugewinn auf Chromosom 1q, 6p und 8q. Der Verlust einer Kopie des Chromosoms 3 (Monosomie 3) ist mit einem signifikant höherem Metastasierungsrisiko und schlechterer Überlebenschancen assoziiert [4]. Auf diesem Chromosom befindet sich das BAP1-Gen, welches als Schlüsselstelle für die Entwicklung von Metastasen gilt. Trotz der verschiedenen Behandlungsoptionen des Primärtumors hat sich die Überlebensrate der Patienten mit einem uvealen Melanom nicht signifikant verbessert und die Mortalitätsrate durch Metastasen bleibt ca. 50%.

Die ECT ist eine Kombination von Chemotherapie und Elektroporation zur lokalen Tumorthherapie.

Hierbei wird die Zellmembran der Tumorzellen durch elektrische Impulse permeabilisiert, wodurch große Moleküle in die Zelle transportiert werden können [5, 6]. In Abhängigkeit der Impulsstärke und -frequenz kann die Permeabilität entweder reversibel oder irreversibel sein [5]. Bei der ECT kann durch intratumorale oder intravenöse Zugabe eines Zytostatikums der zytotoxische Effekt lokal in Tumoren gesteigert werden. In verschiedenen Untersuchungen erwiesen sich hierbei Bleomycin und Cisplatin als die effektivsten Chemotherapeutika [5]. Im klinischen Alltag hat sich die ECT bereits als effektive Therapieoption bei der Behandlung von Hauttumoren und kutanen bzw. subkutanen Hautmetastasen sowie bei tiefer liegenden malignomen der Leber, Knochen und nicht operablen Pankreaskarzinomen etabliert [5, 7–9]. Ebenso konnten bereits erste vielversprechende Ergebnisse bei der Therapie von periokulären Basalzellkarzinomen des Augenlids beschrieben werden [10]. Für intraokuläre Tumore gibt es jedoch bis jetzt nur wenige Daten [11, 12].

In einem durch die Dr. Rolf M. Schwieta Stiftung finanzierten Forschungsprojekt der Halleschen Arbeitsgruppe wird die Wirksamkeit der ECT bei der Behandlung von okulären Melanomen, wie dem Aderhautmelanom und dem konjunktivalen Melanom experimentell validiert. Neben konventionellen Monolayer-Kulturen werden hierfür 3D-Tumorsphäroide von uvealen und konjunktivalen Tumorzellen *in vitro* generiert. 3D-Zellkulturen sind deutlich besser geeignet, um die biologischen Eigenschaften und die Wachstumsbedingungen von Tumoren *in vivo* widerzuspiegeln. Um einen reproduzierbaren Untersuchungsansatz zu gewährleisten, werden für die ECT der Tumorsphäroide speziell angefertigte Elektroden verwendet. In Vorversuchen wurde bereits eine deutliche Überlegenheit von Bleomycin gegenüber Cisplatin als Wirksubstanz bei der ECT-Behandlung nachgewiesen [11]. In anschließenden Zellkulturexperimenten konnten bereits nach 7 Tagen in den 3D-Tumorsphäroide von Uvealmelanomen zytotoxische Effekte der ECT-Behandlung unter Bleomycin-Gabe detektiert werden. Dabei zeigten sich bei Tumorzell-Komplexen von Primärtumoren und Metastasen eine mittlere Größenreduzierung von 20% bzw. 56%. Die Vitalität der Tumorzellkomplexe

war ebenfalls bei der ECT-Behandlung unter Bleomycin-Zugabe signifikant vermindert (um 27% bzw. 42%). Diese Ansprechraten waren bei einer Chemotherapie (alleinige Zugabe des Zytostatikums Bleomycin ohne anschließende Elektroporation der Tumorzellen) nicht zu verzeichnen.

Die *in vitro* Ergebnisse werden an *in vivo* Tumormodellen evaluiert, um die ECT als potentielle Therapie für Augentumore zu etablieren. Ethisch und technisch sind Tierversuche eine Herausforderung. Die Hallesche Arbeitsgruppe arbeitet derzeit an alternativen *in vivo* Modellen.

LITERATUR

- Mahendraraj, K., et al., Trends in incidence, survival, and management of uveal melanoma: a population-based study of 7,516 patients from the Surveillance, Epidemiology, and End Results database (1973–2012). *Clin Ophthalmol*, 2016. 10: p. 2113–2119.
- Virgili, G., et al., Incidence of uveal melanoma in Europe. *Ophthalmology*, 2007. 114 (12): p. 2309–15.
- Shields, C.L., et al., Metastasis of uveal melanoma millimeter-by-millimeter in 8033 consecutive eyes. *Arch Ophthalmol*, 2009. 127 (8): p. 989–98.
- Coupland, S.E., et al., Molecular pathology of uveal melanoma. *Eye (Lond)*, 2013. 27 (2): p. 230–42.
- Marty, M., et al., Electrochemotherapy – An easy, highly effective and safe treatment of cutaneous and subcutaneous metastases: Results of ESOPE (European Standard Operating Procedures of Electrochemotherapy) study. *Ejc Supplements*, 2006. 4 (11): p. 3–13.
- Jaroszkeski, M.J., et al., Toxicity of anticancer agents mediated by electroporation *in vitro*. *Anticancer Drugs*, 2000. 11 (3): p. 201–8.
- Edhemovic, I., et al., Intraoperative electrochemotherapy of colorectal liver metastases. *J Surg Oncol*, 2014. 110 (3): p. 320–7.
- Gothelf, A., L. M. Mir, and J. Gehl, Electrochemotherapy: results of cancer treatment using enhanced delivery of bleomycin by electroporation. *Cancer Treatment Reviews*, 2003. 29 (5): p. 371–387.
- Probst, U., et al., Electrochemotherapy as a New Modality in Interventional Oncology: A Review. *Technol Cancer Res Treat*, 2018. 17: p. 1533033818785329.
- Kis, E.G., et al., Electrochemotherapy in the treatment of locally advanced or recurrent eyelid-periocular basal cell carcinomas. *Sci Rep*, 2019. 9 (1): p. 4285.
- Fiorentzis, M., et al., Electrochemotherapy with bleomycin and cisplatin enhances cytotoxicity in primary and metastatic uveal melanoma cell lines *in vitro*. *Neoplasma*, 2018. 65 (2): p. 210–215.
- Fiorentzis, M., et al., Conjunctival melanoma and electrochemotherapy: preliminary results using 2D and 3D cell culture models *in vitro*. *Acta Ophthalmol*, 2019. 97 (4): p. e632–e640.

Dr. Miltiadis Fiorentzis (Jahrgang 1983) ist leitender Oberarzt an der Universitätsaugenklinik Halle/Saale.

Nach dem Studium der Biologie folgte das Studium der Humanmedizin an der Universität Kreta und an der Charles Universität Prag. Seine Facharztausbildung absolvierte er am Klinikum Saarbrücken (Prof. Dr. C. Teping) und an der Augenklinik und Poliklinik des Universitätsklinikums des Saarlandes bei Prof. Dr. B. Seitz. Er absolvierte erfolgreich ein 1,5-jähriges Fellowship in der vitreoretinalen Chirurgie (AG Prof. A. Viestenz) und eignete sich bei der Liverpool Ocular Oncology Research Group in Liverpool als Forschungsfellow und bei der Liverpool Ocular Oncology Centre als Clinical Fellow (Arbeitsgruppe Prof. S.E. Coupland/Prof. Dr. H. Heimann) die Arbeit mit Aderhautmelanomen und die Therapie von okularen Tumoren an.

Seit 2017 leitet er den Bereich der vitreoretinalen Chirurgie und seit 2018 ist er leitender Oberarzt an der Universitätsaugenklinik Halle/Saale bei Prof. Dr. A. Viestenz.

Er ist seit 2017 klinischer Leiter der Halleschen Augentumorforschungsgruppe in Kooperation mit Frau Dr. rer. nat. Joana Heinzelmann (Leiterin des ophthalmologischen Forschungslabors).

Dr. med. Miltiadis Fiorentzis, FEBO, FICO

Universitätsklinik und Poliklinik
für Augenheilkunde
Universitätsklinikum Halle/Saale
Ernst-Grube Straße 40
06120 Halle/Saale
Tel. 0345 / 5574171
Fax 0345 / 5571848
E-Mail: miltiadis.fiorentzis@uk-halle.de



KONTAKT



Organkulturmodelle der Retina

PRIV.-DOZ. DR. MED. STEPHANIE C. JOACHIM¹,
DR. RER. NAT. TERESA TSAI¹, ANA M. MALIHA (M. SC.)¹,
NATALIE WAGNER (M. SC.)¹, PROF. DR. MED. H. BURKHARD DICK¹

1 Experimental Eye Research Institute
Universitäts-Augenklinik,
Ruhr-Universität Bochum

Untersuchungen zu Erblindungsursachen in Deutschland zeigen, dass vor allem die drei großen chronischen Augenerkrankungen altersbedingte Makuladegeneration (AMD), diabetische Retinopathie sowie das Glaukom ophthalmologische Volks-

krankheiten darstellen, die mehr als 75 Prozent aller Erblindungen ausmachen [1]. Die Entstehungsprozesse dieser Erkrankungen sind bisher jedoch nur unvollständig verstanden, so dass Modellsysteme notwendig sind anhand derer mögliche Pa-

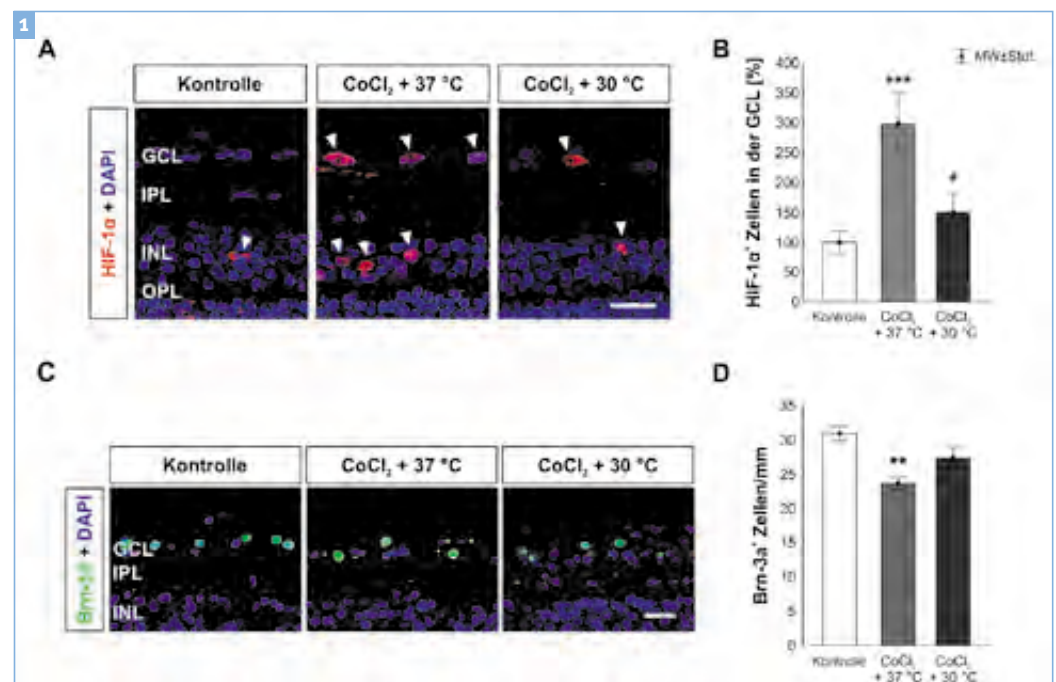


Abbildung 1

■ Schutz retinaler Ganglienzellen vor hypoxischem Stress durch Hypothermie.

A) Hypoxische Zellen wurden mittels spezifischem Marker HIF-1 α nach 4-tägiger Kultivierung angefärbt (rot, Pfeile). In blau sind die Zellkerne (DAPI) dargestellt. **B)** Um die Anzahl hypoxischer Zellen zu analysieren, wurden alle HIF-1 α ⁺ Zellen, welche in der GCL lokalisiert waren, ausgezählt. Die Schädigung mittels CoCl₂ führte zu einer signifikant erhöhten Anzahl an hypoxischen Zellen in der GCL. Die Hypothermiebehandlung hemmte die hypoxischen Prozesse und senkte deutlich die Anzahl an HIF-1 α ⁺ Zellen in der GCL. **C)** Der spezifische Ganglienzellmarker Brn-3a wurde nach 4-tägiger Kultivierung genutzt, um Ganglienzellen anzufärben (grün). DAPI (blau) markiert Zellkerne. **D)** Eine Schädigung durch CoCl₂ führt zu einem deutlichen Verlust retinaler Ganglienzellen, welcher durch eine Hypothermiebehandlung vollständig aufgehoben werden kann. Abkürzungen: GCL: Ganglienzellschicht, IPL: innere plexiforme Schicht, INL: innere Körnerschicht, OPL: äußere plexiforme Schicht. * zeigt signifikante Unterschiede im Vergleich zur Kontrollgruppe. # zeigt signifikante Unterschiede im Vergleich zur CoCl₂ + 37 °C-Gruppe. # $p < 0,05$; ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$. Maßstäbe: 20 μ m [10].

thomechanismen simuliert und untersucht werden können. Diese basieren jedoch meist auf akuten krankheitsinduzierten Tiermodellen, die eigens für die Versuche gezüchtet und getötet werden [2–4]. Nicht nur regulatorische, sondern auch ethische Bedenken führen weltweit zu einem erhöhten Druck aus Politik, Medien, Gesellschaft, Wissenschaft sowie Aufsichtsbehörden und fördern so den Bedarf an alternativen Modellen für die Augenforschung. Insbesondere in Europa planen mehrere Regierungen, die Tierforschung in den nächsten Jahrzehnten einzustellen. Organkulturen aus Explantaten der Schweine- oder Rinderretina, die von Schlachttieren aus der Lebensmittelindustrie gewonnen werden können, bieten hier eine gute Alternative zu Tierversuchen. Trotz der fehlenden Makula sind gerade Schweineaugen dem menschlichen Auge sowohl anatomisch, morphologisch und physiologisch sehr ähnlich. Ein weiterer Vorteil der Organkultur ist, dass die komplexe Struktur der Retina erhalten bleibt. Der Nachteil ist allerdings ihre zeitliche Limitation bedingt durch die fehlende Versorgung mit essentiellen Nährstoffen und Neurotransmitter durch den Sehnerven [5].

Gegenwärtig sind verschiedene Modelle für die Organkultur der Retina etabliert, die eine Reihe von Kulturzeiten abdecken und von verschiedenen Säugetierarten stammen. In den letzten Jahren hat unsere Arbeitsgruppe, in Zusammenarbeit mit der Arbeitsgruppe von Dr. Schnichels aus Tübingen, verlässliche Degenerationsmodelle der Schweineretina etabliert [6, 7]. Diese basieren darauf, dass sowohl ein Sauerstoffmangel (=Hypoxie) als auch oxidativer Stress am frühen Fortschreiten des Ganglienzellverlustes beteiligt sind [8, 9] und mit Hilfe von chemischen Substanzen, wie Wasserstoffperoxid (H_2O_2) und Kobaltchlorid ($CoCl_2$), diese Prozesse *in vitro* simuliert werden können. Sowohl in unserem Wasserstoffperoxid- als auch im Kobaltchloridmodell kommt es zu einer Degeneration der Schweineretina, wobei ein starker Verlust von retinalen Ganglienzellen, Amakrin- und Bipolarzellen induziert wird. Dieser Zellverlust wird von erhöhten Apoptoseraten sowie von entzündlichen Prozessen begleitet [6, 7, 10]. Nach erfolgreicher Etablierung der Degenerationsmodelle wurden diese eingesetzt, um verschiedene therapeutische Ansätze zu analysieren. Dabei konnten wir z. B. zeigen, dass eine Hypothermiebehandlung zu einer Protektion verschiedener retinaler Zellen nach hypoxischem Stress führt [10]. Auch wurden durch die Hypothermiebehandlung hypoxische Prozesse gehemmt

(**Abb. 1 A, B**), wodurch das Zellstressniveau sowie die Apoptoserate deutlich verringert wurden. Dies führte wiederum zum Schutz retinaler Ganglienzellen nach $CoCl_2$ -Behandlung (**Abb. 1 C, D**). Aktuell werden weitere mögliche Therapieansätze in diesem Degenerationsmodellen untersucht, wie z. B. die protektive Wirkung eines iNOS-Hemmers [11, 12] oder von Coenzym Q10.

Der Fokus der beiden bisher etablierten Degenerationsmodelle liegt auf der Induktion einer Degeneration der inneren Schichten der Retina, vor allem der retinalen Ganglienzellen [6, 13–15]. Solche alternative Modelle könnten aber auch für andere Erkrankungen, wie die AMD, von Interesse sein. Die AMD ist unter anderem durch die Akkumulation von Drusen zwischen der Bruch'schen Membran und dem retinalen Pigmentepithel (RPE) charakterisiert. Dadurch kommt es zu einer Unterversorgung und Atrophie des RPEs, was zu einer Degeneration der Photorezeptorzellen führt. Für ein AMD-Organkulturmodell sind somit das Zusammenspiel von Photorezeptoren und RPE-Zellen unabdingbar. In den bisher vorgestellten Modellen werden die Photorezeptoren jedoch durch die Kultivierungsbedingung (=Photorezeptoren auf dem Insert) beschädigt und die RPE-Zellen nicht mitkultiviert. Um die AMD-Degenerationsprozesse näher zu untersuchen, werden die etablierten Organkulturmodelle nun adaptiert. Zunächst wurde die Photorezeptorkultivierung modifiziert indem die Neuroretina nun mittels verschiedener Methoden präpariert und anschließend um 180 Grad gedreht wird, d. h. die Ganglienzellschicht liegt auf dem Insert (**Abb. 2 A**). Dadurch werden mechanische Schäden, u. a. durch Scherkräfte, vermieden, die beim direkten Kontakt der Photorezeptorschicht mit dem Insert auftreten. Durch die neue Kultivierungsbedingung ist nun sowohl eine Verbesserung der Neuroretinastruktur als auch der Morphologie möglich (**Abb. 2 B**). Im nächsten Schritt soll das etablierte AMD-Organkulturmodell zu einem Ko-Kulturmodell erweitert werden, indem das Neuroretina-Explantat in einem Transwell-System gemeinsam mit primären RPE-Zellen kultiviert wird.

Die genannten Ergebnisse untermauern die Bedeutung von Organkulturmodellen in der Augenheilkunde. In Zukunft können diese Modelle zu weiteren Analysen der Degenerationsmechanismen und Therapiemöglichkeiten genutzt werden und bieten somit die Möglichkeit Tierversuche zu reduzieren.

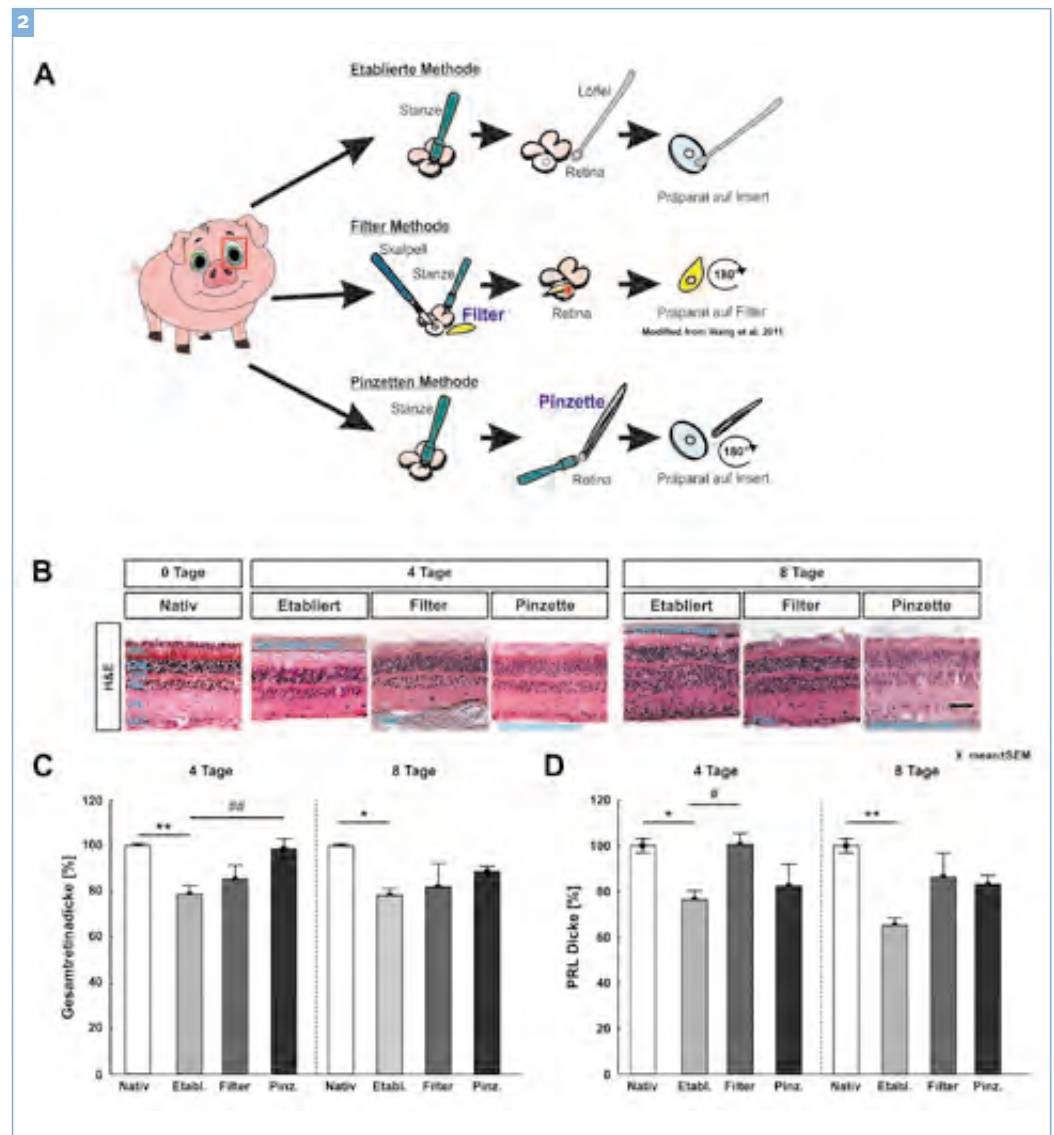


Abbildung 2

■ **Präparationstechniken des ex vivo Photorezeptor-Degenerationsmodells.**

A) Zwei Präparationstechniken, genannt »Filter« und »Pinzette«, wurden mit der etablierten Methode verglichen. Bei beiden neuen Methoden werden die Explantate nach der Präparation um 180° gedreht bevor sie auf die Zellkulturinsert übertragen werden, so dass sie anschließend mit der Ganglienzellschicht auf dem Insert aufliegend kultiviert werden. **B)** Repräsentative H&E-Bilder der Schweineretina-Explantate der verschiedenen Präparationstechniken nach 4 und 8 Tagen in Kultur. **C)** Die Retinadicke der Explantate der etablierten Methode ist im Vergleich zur nativen Situation deutlich vermindert sowohl nach 4- als auch 8-tägiger Kultivierung. Wohingegen die beiden neuen Methoden »Filter« und »Pinzette« die Gesamtdicke der Retina besser erhalten. Besonders bei der Pinzettenmethode kommt es im Vergleich zum etablierten Modell zu einem verbessertem Strukturhalt. **D)** Sowohl mit dem Filter-, als auch dem Pinzettenverfahren konnte ein verbesserter Erhalt der Photorezeptorschicht nach 4 und 8 Tagen in Kultur nachgewiesen werden. Abkürzungen: GCL: Ganglienzellschicht, IPL: innere plexiforme Schicht, INL: innere Körnerschicht, OPL: äußere plexiforme Schicht, ONL: äußere Körnerschicht, PRL: Photorezeptorschicht. * zeigt signifikante Unterschiede im Vergleich zu Nativ. # zeigt signifikante Unterschiede im Vergleich zum etablierten Methode. */# $p < 0,05$, **/## $p < 0,01$. Maßstab: 50 μm .

LITERATUR

1. Christian Wolfram, N.P., Weißbuch zur Situation der ophthalmologischen Versorgung in Deutschland. Deutsche Ophthalmologische Gesellschaft (DOG), 2012.
2. Chidlow, G., et al., The optic nerve head is the site of axonal transport disruption, axonal cytoskeleton damage and putative axonal regeneration failure in a rat model of glaucoma. *Acta Neuropathol*, 2011. 121 (6): p. 737–51.
3. Joachim, S.C., et al., Immune response against ocular tissues after immunization with optic nerve antigens in a model of autoimmune glaucoma. *Molecular vision*, 2013. 19: p. 1804–14.
4. Yang, Q., et al., Microbead-induced ocular hypertensive mouse model for screening and testing of aqueous production suppressants for glaucoma. *Investigative ophthalmology & visual science*, 2012. 53 (7): p. 3733–41.
5. Winkler, J., et al., Cellular and cytoskeletal dynamics within organ cultures of porcine neuroretina. *Experimental eye research*, 2002. 74 (6): p. 777–88.
6. Hurst, J., et al., A novel porcine ex vivo retina culture model for oxidative stress induced by H₂O₂. *Altern Lab Anim*, 2017. 45 (1): p. 11–25.
7. Kuehn, S., et al., Degenerative effects of cobalt-chloride treatment on neurons and microglia in a porcine retina organ culture model. *Exp Eye Res*, 2017. 155: p. 107–120.
8. Greco, A., et al., Emerging Concepts in Glaucoma and Review of the Literature. *Am J Med*, 2016. 129 (9): p. 1000 e7–1000 e13.
9. Zanon-Moreno, V., et al., Oxidative stress in primary open-angle glaucoma. *J Glaucoma*, 2008. 17 (4): p. 263–8.
10. Maliha, A.M., et al., Diminished apoptosis in hypoxic porcine retina explant cultures through hypothermia. *Sci Rep*, 2019. 9 (1): p. 4898.
11. Brzozowski, M.J., P. Jenner, and S. Rose, Inhibition of i-NOS but not n-NOS protects rat primary cell cultures against MPP⁺-induced neuronal toxicity. *J Neural Transm (Vienna)*, 2015. 122 (6): p. 779–88.
12. Broom, L., et al., Neuroprotection by the selective iNOS inhibitor GW274150 in a model of Parkinson disease. *Free Radic Biol Med*, 2011. 50 (5): p. 633–40.
13. Kuehn, S., et al., The novel induction of retinal ganglion cell apoptosis in porcine organ culture by NMDA – an opportunity for the replacement of animals in experiments. *Altern Lab Anim*, 2016. 44 (6): p. 557–568.
14. Kuehn, S., et al., Degenerative effects of cobalt-chloride treatment on neurons and microglia in a porcine retina organ culture model. *Exp Eye Res*, 2017. 155: p. 107–120.
15. Schnichels, S., et al., A novel ex-vivo retina model for oxidative stress – chances for the replacement of animal experiments. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 2016. 57 (12): p. 6415–6415.

PD Dr. med. Stephanie Joachim, leitet die *Experimentelle Ophthalmologie an der Universitäts-Augenklinik (Direktor: Prof. Dr. med. Burkhard Dick) der Ruhr-Universität Bochum*. Frau Joachim studierte Medizin an der Universität Ulm und an der Johannes Gutenberg-Universität in Mainz und promovierte 2006 mit Auszeichnung. Sie arbeitete als wissenschaftliche Mitarbeiterin in den Alcon Laboratories in Fort Worth (Texas, USA) und in der Experimentellen Ophthalmologie der Universitäts-Augenklinik in Mainz. Seit 2011 leitet Fr. Dr. Joachim nun das Labor an der Universitäts-Augenklinik in Bochum, wo sie 2014 habilitierte. Der wissenschaftliche Fokus ihrer Arbeitsgruppe liegt auf der Untersuchung degenerativen Erkrankungen der Retina, insbesondere im Bereich Glaukom, retinale Ischämie, diabetisch Retinopathie sowie altersbedingte Makuladegeneration. Die möglichen Mechanismen dieser Erkrankungen werden durch verschiedene Organkulturen und Tiermodelle untersucht.

FÖRDERUNGEN UND AUSZEICHNUNGEN

PD Dr. Joachim ist Mitglied des European Leadership Development Programme (EuLDP) und Koordinatorin »OphthamoCampus« des Karger

Kompass Ophthalmologie. Ihre Forschungsprojekte wurden mehrfach ausgezeichnet, u. a. mit dem AECOS European Research Award, mit dem Glaukom-Forschungspreis des Bundesverband Auge e. V., mit dem Förderpreis der Sophia & Fritz Heinemann-Stiftung sowie mit dem Wissenschaftspreis des Vereins Rheinisch-Westfälischer Augenärzte. Ihre Projekte werden u. a. durch die Deutsche Forschungsgemeinschaft, die set Stiftung und FoRUM Förderungen unterstützt. Frau Joachim ist Gutachterin für zahlreiche internationale wissenschaftliche Fachzeitschriften und internationale Drittmittelanträge.

PD Dr. med. Stephanie Joachim

Experimental Eye Research Institute
 Universitäts-Augenklinik
 Ruhr-Universität Bochum
 In der Schornau 23 – 25
 44892 Bochum, Deutschland
 Tel. 0234 / 2993156
 Fax 0234 / 2993157
 E-Mail: stephanie.joachim@rub.de



KONTAKT



Zelltherapie und Mikrotechnologie für ophthalmologische Anwendungen

DR. RER. NAT. SANDRA JOHNNEN¹, PRIV.-DOZ. DR. MED. MATTHIAS FUEST¹,
DR. MED. ANTONIS KOUTSONAS¹, PROF. DR. MED. NIKLAS PLANGE¹,
DR. MED. KIM SCHAFFRATH¹, DR. MED. TIBOR LOHMANN¹,
PROF. DR. MED. PETER WALTER¹

1 Klinik für Augenheilkunde, Uniklinik RWTH Aachen

Molekularbiologische und technologische Methoden haben sich in den letzten Jahren rasant entwickelt. Hiervon profitiert die Medizin – und insbesondere die Augenheilkunde – durch ihre Anwendung in translationalen Ansätzen. An der Augenklinik der Uniklinik RWTH Aachen versuchen wir diese Ansätze zügig und sicher Patienten zugänglich zu machen.

GENETISCHES ENGINEERING VON PIGMENTEPITHELZELLEN ZUR AUTOLOGEN TRANSPLANTATION BEI DEGENERATIVEN NETZHAUTERKRANKUNGEN (S. JOHNNEN)

Die Gentherapie ist ein vielversprechender Ansatz für diverse Erkrankungen. Speziell das Auge gilt als gutes Zielorgan. Hier wird die Übertragung der genetischen Information durch virale Vektoren bereits erfolgreich angewendet. Auftretende Nachteile und hohe Kosten bestärken die Weiterentwicklung nicht-viraler Strategien, wie das Einbringen Plasmid-kodierter Gene mittels Elektroporation. Unser Ansatz beinhaltet die auf dem *SB100X* Transposon System basierende, nicht-virale Modifizierung primärer Pigmentepithel (PE) Zellen (**Abbildung 1A**) zur gesteigerten Sezernierung des Pigment Epithelium-Derived Factor (PEDF) [1–3]. Ziel ist die Behandlung der exsudativen altersbedingten Makuladegeneration (AMD). Die Therapie umfasst die

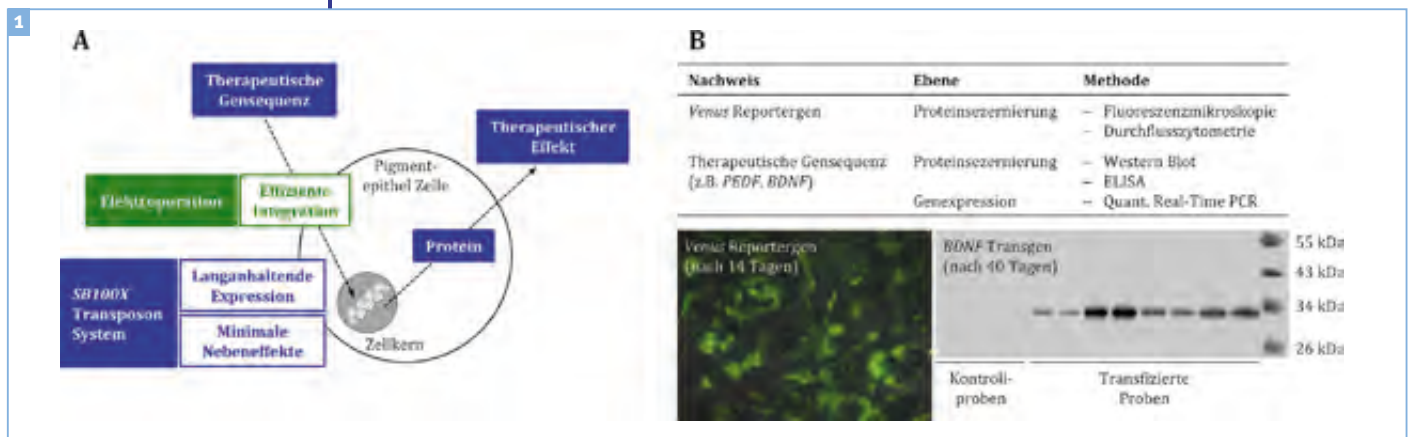
Einschleusung des Gens in direkt zuvor entnommene patienteneigene PE Zellen und die unmittelbar darauffolgende subretinale Transplantation der modifizierten Zellen.

Wichtig für den Übergang aus der präklinischen Forschung hin zur klinischen Anwendung sind die Verwendung geeigneter Plasmide (pFAR, plasmids Free of Antibiotic Resistance genes) und eines zertifizierten Elektroporationsgeräts sowie die Anpassung der Versuchsbedingungen an das klinische Szenario hinsichtlich der zur Verfügung stehenden Zellzahl und des Zellstatus. Wir haben gezeigt, dass geringe Zellzahlen von maximal 1×10^4 primären humanen PE Zellen unter Verwendung des pFAR-SB100X/PEDF Systems effizient transfiziert werden können. Sowohl auf Genexpressionsebene als auch auf Ebene der Proteinsekretion waren signifikant erhöhte PEDF Spiegel nachweisbar [4–6].

Der Austausch des PEDF Gens gegen den Brain-Derived Neurotrophic Factor (BDNF) ermöglicht eine Ausweitung der Therapie auf andere degenerative Augenerkrankungen, wie bspw. die frühe Form der AMD. Auch hier wird eine beständig erhöhte Sezernierung des BDNF Proteins erreicht (**Abbildung 1B**). Durchgeführte Zellkulturexperimente geben einen ersten Hinweis auf die erwartete protektive Funktionalität.

Abbildung 1

■ *Genetisches Engineering von Pigmentepithelzellen zur Behandlung degenerativer Augenerkrankungen. (A) SB100X-basiertes Gentherapiekonzept. (B) Auflistung der angewendeten Methoden zum Nachweis der Transgenexpression und der Proteinsekretion (hier: Nachweis der Sekretion des rekombinanten BDNF).*



ZELLTHERAPIE MIT KORNEALEN STROMALEN KERATOZYTEN (M. FUEST)

Das Hornhautstroma besteht aus lamellenförmig angeordneten Kollagenfibrillen, Extrazellulärmatrix (EZM) und verstreuten kornealen stromalen Keratozyten (KSK). Die Standardtherapie für endotheliale und stromale Hornhauterkrankungen besteht zur Zeit noch in der Hornhauttransplantation.

Diese wird nach wie vor durch Spendermangel, Abstoßungsreaktionen, Immunsuppression, komplizierten und teuren Operationen und langwieriger Nachsorge erschwert. In unserer Arbeitsgruppe untersuchen wir verschiedene Zellarten für Ihre Eignung zur stromalen Zelltherapie.

KSK sind essentiell für die biomechanische Stabilität und Transparenz der Hornhaut. Sie produzieren Kollagen und verschiedene Proteoglykane (u. a. Lumican, Keratocan und Mimecan) der EZM sowie Enzyme für die EZM Reorganisation (z. B. Kollagenasen) [7, 8].

Die ex vivo Kultivierung von KSK wurde bisher von ihrer Tendenz zur Konversion zu stromalen Fibroblasten (SF) stark eingeschränkt. Im Kulturmedium mit Serum und Wachstumsfaktoren beginnen KSK zu proliferieren und zu Fibroblasten zu transformieren (**Abbildung 2A**). Neuere Protokolle ermöglichen jedoch erstmalig die in vitro Expansion von KSK [9, 10].

In einer kürzlich publizierten Arbeit untersuchten wir die Möglichkeit und Sicherheit von intrastromal injizierten KSK in einem Rattenmodell [11]. Injizierte KSK überlebten für bis zu 6 Wochen in der Rattenhornhaut, exprimierten die typischen Zellmarker und führten nicht zu einer Entzündung oder Narben, zu denen es bei injizierten SF kam.

Mit wiederholten Injektionen von KSK konnte ihre Präsenz in der Rattenhornhaut deutlich verlängert werden.

Mittels irregulärer Laserablation wurden Hornhautnarben induziert, die durch die Injektion von KSK deutlich reduziert werden konnten, was injizierte KSK als möglichen Therapieansatz bei akuten Verarbungsprozessen suggeriert (**Abbildung 2B**).

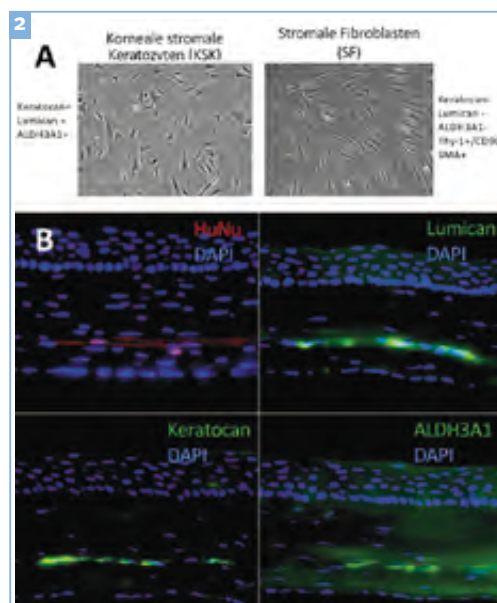


Abbildung 2

■ (A) Ex vivo kultivierte korneale stromale Keratozyten (links, KSK) exprimieren typische Proteoglykane (Keratocan, Lumican, ALDH3A1). Im Kulturmedium mit Serum und Wachstumsfaktoren transformieren diese leicht zu Fibroblasten (rechts, SF), die für Marker wie CD90 oder α -SMA positiv sind und Narben induzieren können. (B) Humane KSK überleben bis zu 6 Wochen nach Injektion in Rattenhornhäute (Humaner Nukleus Marker (HuNu)) ohne zu Fibroblasten zu transformieren und exprimieren typische Proteoglykan-Marker (Lumican, Keratocan, ALDH3A1).

INTRAOKULARE DRUCKMESSUNG MITTELS IMPLANTIERBARER SENSOREN (A. KOUTSONAS, N. PLANGE)

Eine genaue Augendruckmessung sowie die Möglichkeit einer zuverlässigen Selbsttonometrie sind essentiell für die Betreuung von Glaukom Patienten. Vorhandene Systeme zur Augendruckmessung bzw. Selbsttonometrie messen den Druck äußerlich am Auge, somit kann aber der wahre intraokulare Druck nur indirekt geschätzt werden [12].

Eine invasive manometrische Druckmessung ist experimentell möglich, für den klinischen Alltag aber nicht sinnvoll oder praktisch. Frühere Ansätze der Entwicklung eines voll implantierbaren Sensorsystems stießen an ihre Grenzen bezüglich der Größe und Form des Implantates [13].

Erst die technische Weiterentwicklung der Materialien und die Miniaturisierung der elektronischen Komponenten ermöglichte die Fertigstellung eines Prototyps (Implandata Ophthalmic Products GmbH, Hannover, Germany), welches unsere Gruppe erfolgreich bei Patienten mit Glaukom getestet hat [14]. Auch die Langzeitergebnisse zeigen eine gute Verträglichkeit des Sensors [15].

Dieses Sensorsystem, welches mittlerweile noch weiter verfeinert und verkleinert wurde (EYEMATE® System, Implants Ophthalmic Products GmbH), ermöglicht durch eine kontaktlose induktive Druckmessung eine Selbsttonometrie mit Erfassung von wiederholten Augendruck-Tagesprofilen [16].

Dieser Sensor kann sich hoffentlich zukünftig als wichtiges zusätzliches diagnostisches Tool bei Glaukom Patienten etablieren.

ELEKTRISCHE NETZHAUTSTIMULATION MIT OPTIMIERTEN RETINA IMPLANT SYSTEMEN (T. LOHMANN, K. SCHAFFRATH, S. JOHNEN, P. WALTER)

Gegenwärtige Retina Implant Systeme können zwar basale Sehfunktionen (Orientierung, Tag/Nacht, grobe Kontraste) wiederherstellen, jedoch wird eine echte Mustererkennung oft nicht erreicht [17, 20].

Die Limitationen der gegenwärtig verfügbaren Implantate bestehen in der geringen Fläche und ungünstigen Zuordnung zwischen Reizelektroden und Zielzellen aufgrund von Remodeling Prozessen in der degenerierten Retina. Unsere Gruppe arbeitet in Kooperation mit Ingenieuren der RWTH Aachen und Wissenschaftlern des Forschungszentrums Jülich an großflächigen Implantaten, bei denen in der neuesten Version die bisher externe Kamera bereits auf dem implantierten Chip integriert ist [21–25].

Auf diesen großen Implantaten lassen sich sehr viel mehr Elektroden unterbringen als auf bisherigen Systemen. Darüber hinaus wurden Elektroden entwickelt, die nicht mehr auf oder unter der Netzhaut liegen, sondern die aus linearen 3D Arrays bestehen, die in die Netzhaut eingeführt werden und so sehr viel dichter an den Zielzellen liegen. Wir erhoffen uns hiervon in Kombination mit einem Echtzeitfeedback Algorithmus, der die retinale Aktivität simultan zur Stimulation analysiert und so die Reizfolgen modifiziert, eine sehr viel effizientere Stimulation.

Um ein handhabbares Tiermodell zur Implantation solcher Systeme zu entwickeln, haben wir uns intensiv mit der pharmakologischen und physikalischen Induktion von Photorezeptor Degenerationen beschäftigt [26–32].

LITERATUR

1. Thumann G., Stöcker M., Maltusch C., Salz A. K., Barth S., Walter P., Johnen S. High efficiency non-viral transfection of retinal and iris pigment epithelial cells with pigment epithelium-derived factor. *Gene Ther* 2010; 17: 181–189.
2. Johnen S., Izsvák Z., Stöcker M., Harmening N., Salz A. K., Walter P., Thumann G. Sleeping Beauty transposon-mediated transfection of retinal and iris pigment epithelial cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2012; 53: 4787–4796.
3. Johnen S., Djalali-Talab Y., Kazanskaya O., Möller T., Harmening N., Kropp M., Izsvák Z., Walter P., Thumann G. Antiangiogenic and Neurogenic Activities of Sleeping Beauty-Mediated PEDF-Transfected RPE Cells In Vitro and In Vivo. *Biomed Res Int* 2015; 2015: 863–845.
4. Thumann G., Harmening N., Prat-Souteyrand C., Marie C., Pastor M., Sebe A., Miskey C., Hurst L. D., Diarra S., Kropp M., Walter P., Scherman D., Ivics Z., Izsvák Z., Johnen S. Engineering of PEDF-Expressing Primary Pigment Epithelial Cells by the SB Transposon System Delivered by pFAR4 Plasmids. *Mol Ther Nucleic Acids* 2017; 6: 302–314.
5. Garcia-Garcia L., Recalde S., Hernandez M., Bezunarte J., Rodriguez-Madoz J. R., Johnen S., Diarra S., Marie C., Izsvák Z., Ivics Z., Scherman D., Kropp M., Thumann G., Prosper F., Fernandez-Robredo P., Garcia-Layana A. Long-Term PEDF Release in Rat Iris and Retinal Epithelial Cells after Sleeping Beauty Transposon-Mediated Gene Delivery. *Mol Ther Nucleic Acids* 2017; 9: 1–11.
6. Pastor M., Johnen S., Harmening N., Quiviger M., Pailloux J., Kropp M., Walter P., Ivics Z., Izsvák Z., Thumann G., Scherman D., Marie C. The Antibiotic-free pFAR4 Vector Paired with the Sleeping Beauty Transposon System Mediates Efficient Transgene Delivery in Human Cells. *Mol Ther Nucleic Acids* 2018; 11: 57–67.
7. Fuest M., Yam G. H., Peh G. S., Mehta J. S. Advances in corneal cell therapy. *Regen Med* 2016; 11: 601–615.
8. Fuest M., Yam GH, Peh GS, Walter P, Plange N, Mehta JS. [Corneal cell therapy-an overview]. *Ophthalmologie* 2017; 114: 705–715.
9. Yam G. H., Yusoff N. Z., Kadaba A., Tian D., Myint H. H., Beuerman R. W., Zhou L., Mehta J. S. Ex Vivo Propagation of Human Corneal Stromal "Activated Keratocytes" for Tissue Engineering. *Cell Transplant* 2015; 24: 1845–1861.
10. Yam G. H., Williams G. P., Setiawan M., Yusoff N. Z., Lee X. W., Htoon H. M., Zhou L., Fuest M., Mehta J. S. Nerve regeneration by human corneal stromal keratocytes and stromal fibroblasts. *Sci Rep* 2017; 7: 45396.
11. Yam G. H., Fuest M., Yusoff N., Goh T. W., Bandeira F., Setiawan M., Seah X. Y., Lwin N. C., Stanzel TP, Ong H. S., Mehta J. S. Safety and Feasibility of Intrastromal Injection

- of Cultivated Human Corneal Stromal Keratocytes as Cell-Based Therapy for Corneal Opacities. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2018; 59: 3340–3354.
12. Koutsonas A., Walter P., Plange N. [Self-tonometry with a Telemetric Intraocular Pressure Sensor in Patients With Glaucoma]. *Klin Monbl Augenheilkd* 2016; 233: 743–748.
 13. Walter P., Schnakenberg U., vom Bogel G., Ruokonen P., Kruger C., Dinslage S., Ludtke Handjery H. C., Richter H., Mokwa W., Diestelhorst M., Kriegelstein G. K. Development of a completely encapsulated intraocular pressure sensor. *Ophthalmic Res* 2000; 32: 278–284.
 14. Koutsonas A., Walter P., Roessler G., Plange N. Implantation of a novel telemetric intraocular pressure sensor in patients with glaucoma (ARGOS study): 1-year results. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2015; 56: 1063–1069.
 15. Koutsonas A., Walter P., Roessler G., Plange N. Long-term follow-up after implantation of a telemetric intraocular pressure sensor in patients with glaucoma: a safety report. *Clin Exp Ophthalmol* 2018; 46: 473–479.
 16. Koutsonas A., Walter P., Kuerten D., Plange N. Automated, Noncontact Intraocular Pressure Home Monitoring after Implantation of a Novel Telemetric Intraocular Pressure Sensor in Patients with Glaucoma: A Feasibility Study. *Biomed Res Int* 2018; 2018: 4024198.
 17. Schimitzek H., Roessler G., Walter P. [Clinical Results after Implantation of Epiretinal Visual Prostheses]. *Klin Monbl Augenheilkd* 2016; 233: 1227–1232.
 18. Walter P. [Future Developments in Retinal Prostheses]. *Klin Monbl Augenheilkd* 2016; 233: 1238–1243.
 19. Walter P. [Visual prostheses]. *Ophthalmologe* 2016; 113: 175–188.
 20. Walter P., Rossler G., Mazinani B. [Trauma with involvement of the posterior segment of the eye-part 2]. *Klin Monbl Augenheilkd* 2013; 230: 635–651.
 21. Erbslöh A., Viga R., Walter P., Kokozinski R., Grabmaier A. Implementation of a Charge-Controlled Stimulation Method in a Monolithic Integrated CMOS-Chip for Excitation of Retinal Neuron Cells. 25th Austrochip Workshop on Microelectronics (Austrochip) 2017:47–52.
 22. Lohmann T. K., Kanda H., Morimoto T., Endo T., Miyoshi T., Nishida K., Kamei M., Walter P., Fujikado T. Surgical feasibility and biocompatibility of wide-field dual-array suprachoroidal-transretinal stimulation prosthesis in middle-sized animals. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2016; 254: 661–673.
 23. Raffelberg P., Waschkowski F., Viga R., Mokwa W., Walter P., Kokozinski R. Design of a CMOS Image Sensor and Stimulation IC for a Wide-Angle Retina Implant. 13th Conference on PhD Research in Microelectronics and Electronics 2017: 309–312.
 24. Waschkowski F., Brockmann C., Laube T., Mokwa W., Roessler G., Walter P. Development of a very large array for retinal stimulation. *Conf Proc IEEE Eng Med Biol Soc* 2013; 2013: 2748–2751.
 25. Waschkowski F., Hesse S., Rieck A. C., Lohmann T., Brockmann C., Laube T., Bornfeld N., Thumann G., Walter P., Mokwa W., Johnen S., Roessler G. Development of very large electrode arrays for epiretinal stimulation (VLARS). *Biomed Eng Online* 2014; 13: 11.
 26. Biswas S., Haselier C., Mataruga A., Thumann G., Walter P., Müller F. Pharmacological analysis of intrinsic neuronal oscillations in rd10 retina. *PLoS One* 2014; 9: e99075.
 27. Haselier C., Biswas S., Rösch S., Thumann G., Müller F., Walter P. Correlations between specific patterns of spontaneous activity and stimulation efficiency in degenerated retina. *PLoS One* 2017; 12: e0190048.
 28. Rösch S., Aretzweiler C., Müller F., Walter P. Evaluation of Retinal Function and Morphology of the Pink-Eyed Royal College of Surgeons (RCS) Rat: A Comparative Study of in Vivo and in Vitro Methods. *Curr Eye Res* 2017; 42: 273–281.
 29. Rösch S., Johnen S., Mataruga A., Müller F., Pfarrer C., Walter P. Selective photoreceptor degeneration by intravitreal injection of N-methyl-N-nitrosourea. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2014; 55: 1711–1723.
 30. Rösch S., Johnen S., Mazinani B., Müller F., Pfarrer C., Walter P. The effects of iodoacetic acid on the mouse retina. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2015; 253: 25–35.
 31. Rösch S., Johnen S., Müller F., Pfarrer C., Walter P. Correlations between ERG, OCT, and Anatomical Findings in the rd10 Mouse. *J Ophthalmol* 2014; 2014: 874751.
 32. Rösch S., Werner C., Müller F., Walter P. Photoreceptor degeneration by intravitreal injection of N-methyl-N-nitrosourea (MNU) in rabbits: a pilot study. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2017; 255: 317–331.

FÖRDERUNGEN

- EU, TargetAMD (Grant Agreement No: 305134)
- RWTH Aachen, ERS Seed Fund (OPSF337)
- RWTH Aachen, Medizinische Fakultät, START Programm
- Freifrau-von-Nauendorf-Förderpreis
- Rotationsprogramm, RWTH Aachen, Medizinische Fakultät
- IZKF Aachen
- Leonhard-Klein-Stiftung
- DFG (WA 1472/6-3, WA 1472/6-1, WA 1472/10-1, JO 1263/1-3)
- BMBF (16SV5322K)
- Dr. Werner Jackstädt-Stiftung (VLARS)
- PRO RETINA-Stiftung



Dr. rer. nat. Sandra Johnen, ist Leiterin der Arbeitsgruppe Experimentelle Ophthalmologie an der Augenklinik der Uniklinik RWTH Aachen. Nach dem Studium der Biologie an der RWTH Aachen und der Promotion an der HHU Düsseldorf über die Charakterisierung der biochemischen Eigenschaften eines Phosphonat-synthetisierenden Enzyms, begann sie als Postdoktorandin in der Arbeitsgruppe Experimentelle Ophthalmologie. Hier entwickelte sie, zusammen mit Prof. Dr. med. Gabriele Thumann,

Methoden zum genetischen Engineering primärer Pigmentepithelzellen. Im September 2012 hat Dr. Johnen die Leitung der Arbeitsgruppe übernommen. Ziel ihrer Arbeiten ist die Entwicklung nicht-viraler Gentherapiekonzepte zur Behandlung degenerativer Augenerkrankungen mit dem Fokus auf der Etablierung von ex vivo Modellsystemen zur Identifizierung und Charakterisierung therapeutischer Faktoren sowie deren Einbindung in medizinische Implantate.



PD Dr. med. Matthias Fuest, ist leitender Oberarzt der Klinik für Augenheilkunde der RWTH Aachen. Nach dem Studium der Humanmedizin in Freiburg i. Br. begann er 2010 seine Facharztbildung für Augenheilkunde in Aachen. Von 2012 bis 2015 leitete er die Hornhautbank Aachen. Nach deutscher und europäischer Facharztanerkennung forschte er 2016 am Singapore Eye Research Institute im Bereich Corneal Tissue Engineering and Stem Cells. Rückkehr

an die RWTH Aachen und Habilitation zum Thema »Systematische Störfaktoren der apparativen Glaukomdiagnostik« folgten 2017. Klinisch und wissenschaftlich beschäftigt Dr. Fuest sich mit Glaukomdiagnostik und -Therapie, dem kornealen Tissue Engineering und der Weiterentwicklung von lamellären Keratoplastiktechniken, wofür er 2018 mit dem Leonhard-Klein-Preis ausgezeichnet wurde.

Prof. Dr. Peter Walter
Klinik für Augenheilkunde
Uniklinik RWTH Aachen
Pauwelsstr. 30
52074 Aachen
Tel. 0241 / 8088191
Fax 0241 / 8082408
E-Mail: augenklinik@ukaachen.de
www.augenklinik-aachen.de





Erscheinung
1 x jährlich

LEBENDIGE WISSENSCHAFT

SPITZENFORSCHUNG IN DER DERMATOLOGIE

Ein Kooperationsprojekt der Informationszentrale des Instituts für Wissenschaftliche Veröffentlichungen (IWV)
mit der ALPHA Informationsgesellschaft mbH

Informationen erhalten Sie unter:
info@institut-wv.de | www.institut-wv.de
www.alphapublic.de



Bestellungen kostenfrei
per E-Mail: info@institut-wv.de,
Tel.: 06206 939-0 oder an
ALPHA Informationsgesellschaft mbH,
Finkenstraße 10, 68623 Lampertheim
– mit Angabe Ihrer Adresse möglich.

MiRNAs in der Tumordiagnostik – das Ziel, die analytische Sicherheit beim primären vitreoretinalem Lymphom zu verbessern

PRIV.-DOZ. DR. VINODH KAKKASSERY¹, PROF. DR. AYSE TURA¹,
DR. FELIX ROMMEL¹, VERA PAWLIK, PRIV.-DOZ. DR. MAHDY RANJBAR¹,
PROF. DR. SALVATORE GRISANTI¹

1 Klinik für
Augenheilkunde
Universitätsklinikum
Schleswig-Holstein

Voraussetzung für jede gute Tumorbehandlung ist die initiale Diagnosesicherung. Während solide Tumore häufig gut immunhistopathologisch gesichert werden können, schaut es bei den Lymphomen deutlich anders aus. Schon klinisch zeigt sich bei diesem Krankheitsbild, dass eine Einordnung des Befundes und die Abgrenzung zu Differentialdiagnosen schwer fällt. Nekrosen im Tumor erschweren ebenso die morphologische Diagnose. Dieses gilt für alle Lymphome und ebenfalls für Lymphome am Auge.

Das primäre vitreoretinale Lymphom, eine seltene, jedoch extrem maligne Krebserkrankung, wird zu Recht auch Maskeradesyndrom genannt. Neben der klinischen Ähnlichkeit zur Uveitis, ist die Diagnose auch nach einer Gewinnung des Glaskörpers mittels Feinnadelaspiration oder einer Vitrektomie schwierig. Mit einer isolierten Zytologie des Gewebes erreicht man eine Sensitivität von ca. 45 % bis 60 % bei einer Spezifität von 90 % bis 100 % [1]. Ergänzt man diese Zytologie mit einer B-Zell-Phänotypmarkierung, erhöht sich die Sensitivität auf 80 % bei einer 100 % Spezifität [2]. PCR basierte B-Zell-Klonalität Bestimmungen haben bei diesem Krankheitsbild eine Sensitivität von 65 % bis 95 % bei einer Spezifität von ca. 90 % [3]. In letzter Zeit sind zwei Arbeiten aus Deutschland neue Ansatzpunkte für eine Diagnoseverbesserung beim primären vitreoretinalen Lymphom publiziert worden. Die Tübinger Arbeitsgruppe konnte eine MYD88 Mutationsveränderung in 71 % aller untersuchten Lymphomproben nachweisen [4]. Unsere Arbeitsgruppe konnte, basierend auf Vordaten beim ZNS Lymphom, deutlich erhöhte Werte der miRNAs

Abbildung 1

■ *Klinisches Bild einer Patientin mit einem primären vitreoretinalen Lymphom. Typisch sind häufig die kettenartige Anordnung der Zellen im Glaskörper. Im Verlauf konnte bei dieser Patientin mittels einer Glaskörperbiopsie die Diagnose gesichert werden. Es zeigten sich weitere Lymphomabsiedlungen im gesamten Körper wie z. B. im ZNS.*

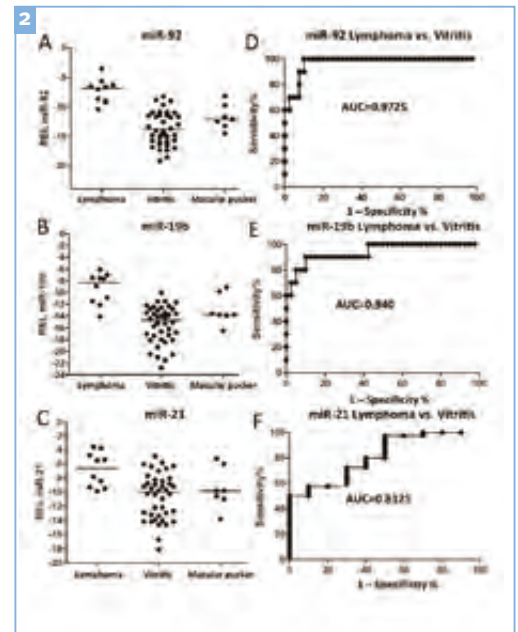
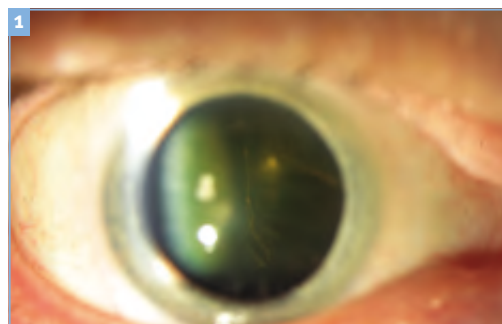


Abbildung 2

■ *zeigt auf der linken Seite die einzelnen gemessenen relativen Werte (Punkte) der miRNAs in Lymphompatienten, in Uveitispatienten und in Makula-Pucker-Patienten. Die Mittelwerte sind mit dem Strich jeweils symbolisiert. Auf der y-Achse handelt sich um eine logarithmische Auftragung. Auf der rechten Seite sind die jeweiligen ROC-Kurven mit den einzelnen Area-Under-The-Curve-Werten aufgetragen. Hier lassen sich Spezifität und Sensitivität jeweils für die einzelnen MiRNAs, abhängig vom Cut-Off-Point, ablesen [5].*

miR-91, -19b, 21 bestimmen. Gerade für das miR-91 zeichnet sich eine Sensitivität von 100% bei einer Spezifität von 90% beim vitreoretinalem Lymphom aus [5]. Während die MYD88 Mutation wahrscheinlich eher eine Rolle in der Therapieentscheidung in der Zukunft haben wird, erweitern die miRNAs potentiell das diagnostische Spektrum. Ein Vorteil dieser Methode ist, dass die Zellen aus dem Glaskörper zur Untersuchung nicht benötigt werden und somit anderweitig analysiert werden können.

LITERATUR

1. Davis, J. L., D. M. Miller, and P. Ruiz, Diagnostic testing of vitrectomy specimens. *Am J Ophthalmol*, 2005. 140 (5): p. 822–829.
2. Missotten, T., et al., Multicolor flowcytometric immunophenotyping is a valuable tool for detection of intraocular lymphoma. *Ophthalmology*, 2013. 120 (5): p. 991–6.
3. Wang, Y., et al., Molecular biomarkers for the diagnosis of primary vitreoretinal lymphoma. *Int J Mol Sci*, 2011. 12 (9): p. 5684–97.
4. Bonzheim, I., et al., High frequency of MYD88 mutations in vitreoretinal B-cell lymphoma: a valuable tool to improve diagnostic yield of vitreous aspirates. *Blood*, 2015. 126 (1): p. 76–9.
5. Kakkassery, V., et al., Vitreous microRNA levels as diagnostic biomarkers for vitreoretinal lymphoma. *Blood*, 2017. 129 (23): p. 3130–3133.

Priv.-Doz. Dr. med. Vinodh Kakkassery ist seit 2018 als Oberarzt an der Klinik für Augenheilkunde des Universitätsklinikums Schleswig-Holstein (Campus Lübeck), mit Schwerpunkt Augentumoren, tätig. Außerdem ist er Strahlenschutzbeauftragter der Augenbrachytherapie, Mitglied der S2-Leitlinienkommission zum Basalzellkarzinom hat die Projektleitung der »Untersuchung der Rolle von Ceramid in Retinoblastomzellen« und die Projektleitung der »Untersuchung von Stammzellantigenen im Retinoblastom« inne.

Sein Medizinstudium schloss er 1999 an der Universität Hamburg ab.

2001 bis 2003 war er an der Klinik für Augenheilkunde am Uniklinikum Hamburg als Arzt im Praktikum der Augenheilkunde tätig. 2003 als Schiffsarzt des Toppsegelschoner Thor Heyerdahl, von 2003 bis 2005 als Assistenzarzt der Augenheilkunde an der Klinik für Augenheilkunde der Charité Berlin. 2005 bis 2006 arbeitete er als Wissenschaftlicher Mitarbeiter am dem Schepens Research Institut, der Harvard University Boston. 2007 wechselte er an das Zentrum für Augenheilkunde des Uniklinikums Essen und war dort bis 2009 als Assistenzarzt der Augenheilkunde tätig. Von 2009 bis 2010 arbeitete er als Funktionsoberarzt/Facharzt der Poliklinik am Uniklinikum Düsseldorf. 2010 bis 2011 war er als Facharzt der Augenheilkunde mit dem Schwerpunkt ophthalmologische Onkologie an der Charité Berlin tätig. 2012 wechsel-

te er an die Augenklinik des Universitätsklinikums Knappschaftskrankenhaus Bochum und war dort bis 2016 als Oberarzt der Klinik mit Schwerpunkt Netzhaut und Augentumoren tätig. 2017 bis 2018 zog es ihn an die Klinik und Poliklinik für Augenheilkunde der Universitätsmedizin Rostock. Dort arbeitete Oberarzt der Klinik mit Schwerpunkt Augentumoren.

Er veröffentlichte zahlreiche wissenschaftliche Beiträge, wurde mit dem Sicca-Forschungspreis der BVA, dem Award Tearfilm an der Ocular Surface Society und dem »Interner Ideenwettbewerb« und der Uniklinik Essen sowie dem UNIAKTV Preis der Universität Duisburg-Essen und der Mercator Stiftung ausgezeichnet. Herr Priv.-Doz. Dr. Kakkassery erhielt mehrere Forschungsförderungen unter anderem das Forschungsstipendium der Dr. Werner Jackstädt-Stiftung, die FoRUM Forschungsförderung, sowie noch weitere.



Priv.-Doz. Dr. med. Vinodh Kakkassery
 Universitätsklinikum Schleswig-Holstein
 (Campus Lübeck)
 Klinik für Augenheilkunde
 Ratzeburger Allee 160
 23538 Lübeck
 E-Mail:
 vinodh.kakkassery@uni-luebeck.de

KONTAKT



Presbyopie-Korrektur

UNIV.-PROF. DR. MED. THOMAS KOHNEN¹,
KERSTIN PETERMANN, M.SC.¹

¹ Klinik für
Augenheilkunde,
Goethe-Universität,
Frankfurt am Main

Mehr als eine Billionen Menschen sind weltweit [1] von Presbyopie betroffen. Für Europa liegt die Prävalenz der Presbyopie bei 83 % [1] und in Deutschland werden jährlich über 800.000 Kataraktoperationen durchgeführt, wodurch sie zu den am häufigsten durchgeführten chirurgischen Eingriffen zählt. Der Verlust der Akkommodationsfähigkeit der kristallinen Linse und damit der Verlust der Unabhängigkeit von Fehlsichtigkeitskorrektur stellt für viele Menschen ein Verlust an Lebensqualität dar [2–4], so dass auch der refraktive Linsenaustausch oder die frühzeitige Presbyopiekorrektur an der Hornhaut eine immer größere Rolle einnehmen, da bisher keine medikamentöse Therapie möglich ist [5].

KORNEALE PRESBYOPIEKORREKTION

Die Monovision findet seit den 1960er Jahren Anwendung. Hierbei wird das dominante Auge für die Ferne emmetropisiert und das Begleitaug durch leichte Myopisierung für die Nähe korrigiert. Dies führt zu einem Verlust der Stereopsis. Daher sollte lediglich ein Unterschied von 1,50 Dioptrien (D) und die dementsprechende Nahwirkung angestrebt werden. Je nach Studienlage wird von subjektiver Zufriedenheit der Patienten mit dem visuellen Outcome in 80–98 % der Fälle berichtet [5, 6].

Bereits seit den 1980er Jahren wurden multifokale Laserablationsprofile erprobt, bei denen entweder der zentrale Bereich der Hornhaut für die Ferne und die Hornhautperipherie für das Nahsehen korrigiert wird oder umgekehrt [7, 8]. Obwohl Studienergebnisse eine hohe Patientenzufriedenheit und weitgehende Brillenfreiheit bei gleichzeitig geringer Komplikationsrate belegen [9], wird die sogenannte PresbyLASIK wegen Verlustes des bestkorrigierten Visus, der nur vermeintlichen Reversibilität und der möglichen Anschlussbehandlungen derzeit nicht von der Kommission für refraktive Chirurgie (KRC) empfohlen [10].

Korneale Inlays, welche stromal in das nicht-dominante Auge implantiert werden, sind eine weitere Möglichkeit, den Nahvisus signifikant zu erhöhen.

Die Studienlage zu den verschiedenen Implantaten (Raindrop Near Vision Inlay (ReVision Optics), ICOLENS, Flexivue Mircolens (Presbia), KAMRA Inlay (AcuFocus Inc.) ist vielfältig und inhomogen [11–14], so dass die KRC derzeit keine Empfehlung hinsichtlich des Anwendungsbereichs gibt und lediglich den Grenzbereich definiert [10].

PRESBYOPIEKORREKTUR MITTELS INTRAOKULARLINSEN

Seit Einführung der Kataraktchirurgie mit Implantation von Intraokularlinsen (IOL) 1949 haben sich Implantations- und Gerätetechnik sowie die Materialien und Optiken der IOL stetig weiterentwickelt. Die anfänglich verwendeten monofokalen IOLs wurden durch verbesserten optischen Eigenschaften ergänzt [15].

MONOFOKALE INTRAOKULARLINSEN

Monofokale Intraokularlinsen bündeln das Licht zu einem Brennpunkt. Sie ermöglichen sehr scharfes Sehen in einer Entfernung, jedoch keine vollständige Brillenfreiheit [16]. Um diese mit Monofokallinsen annähernd zu erreichen, kann das Monovisionsprinzip angewendet werden. Allerdings schafft dies keinen stufenlosen Übergang von Ferne über Intermediär- zu Nahbereich und ist mit Einschränkungen in der Tiefenwahrnehmung, dem Stereosehen und dem Visusverlust in der Ferne verbunden [17, 18]. Die Monovision mit IOLs führt zu einer höheren Patientenzufriedenheit als Monovision mit Kontaktlinsen [19].

MULTIFOKALE INTRAOKULARLINSEN

Multifokale Intraokularlinsen werden seit den späten 1980 implantiert. Diese können je nach Design in rotationssymmetrisch und -asymmetrisch [20], zudem in refraktive, diffraktive oder als eine Kombination aus beiden optischen Prinzipien eingeteilt werden [21]. Bei refraktiven IOLs werden die Foki durch verschiedene Krümmungsradien innerhalb

der Linsen oder durch verschiedene Materialien mit unterschiedlichen Brechzahlen erzeugt. Bei diffraktiven Linsen schaffen unterschiedlich hohe Ringsegmente und deren Abstand zueinander mehrere Foki, wobei ein Teil des Lichtes als Streulicht verloren geht [22]. Je nach Anzahl der messbaren Foki werden die IOLs in bifokal (two foci) und trifokal (three foci) eingeteilt. Dabei liefern diffraktive IOLs ein besseres visuelles Outcome als refraktive IOLs [23]. Eine Sonderstellung nehmen die Extended depth of focus (EDOF) IOLs ein, welche einen erweiterten Tiefenschärfenbereich haben.

BIFOKALE INTRAKULARLINSEN

Bifokale Intraokularlinsen bilden durch refraktive Optik zwei Foki scharf ab und erreichen somit eine höhere Brillenunabhängigkeit als Monofokallinsen [24], allerdings mit Einschränkungen im Intermediärbereich [25, 26]. Durch die Variation von verschiedenen Additionen kann dem etwas entgegen gewirkt werden [27–29], dennoch werden Bifokallinsen zunehmend von Multifokallinsen mit diffraktiver Optik verdrängt.

TRIFOKALLINSEN

Trifokallinsen wurden entwickelt, um mit Hilfe der Lichtverteilung auf drei Foki einen besseren Intermediärvision ohne Verlust des Fern- und Nahvisus zu schaffen [30–36]. Mittels Defokuskurven konnte

belegt werden, dass unterschiedliche trifokale IOLs vergleichbare Intermediärvision liefern. Die untersuchten IOLs unterscheiden sich lediglich in der Entfernung, da die AT Lisa tri 839MP (Carl Zeiss Meditec) für 80 cm und die PanOptix (Alcon Research) für 60 cm konzipiert ist, wodurch sich die Defokuskurven im mittleren Bereich leicht verschieben und in 50 cm signifikant unterschiedlich sind [27, 37] (**Abbildung 1**). Die Brillenunabhängigkeit kann mit Trifo- und Quadrofokallinsen bei bis zu 100% der Patienten erreicht werden [38–42]. Nebeneffekte der IOLs wie herabgesetztes Kontrastsehen und photische Phänomene können andererseits die Lebensqualität und Patientenzufriedenheit leicht beeinflussen [43].

INTRAKULARLINSEN MIT ERWEITERTER TIEFENSCHÄRFE – EDOF (EXTENDED DEPTH OF FOCUS)

Im Gegensatz zu den scharf abgrenzbaren Foki der Multifokallinsen soll bei den EDOF-IOLs ein erweiterter Fokusbereich geschaffen werden, um die Tiefenschärfe zu verbessern und somit den Schärfbereich von der Ferne über den Intermediärbereich bis in die Nähe zu erweitern. Hierfür wird entweder das Prinzip einer kleinen Apertur oder der diffraktiven und nicht-diffraktiven Optik benutzt [44]. Neben dem sehr guten Fernvisus belegen Studien einen guten Visus im Intermediärbereich sowie ein funktionellen Nahvisus. Hinsichtlich des Kontrastsehens und der photischen Phänomene ist die

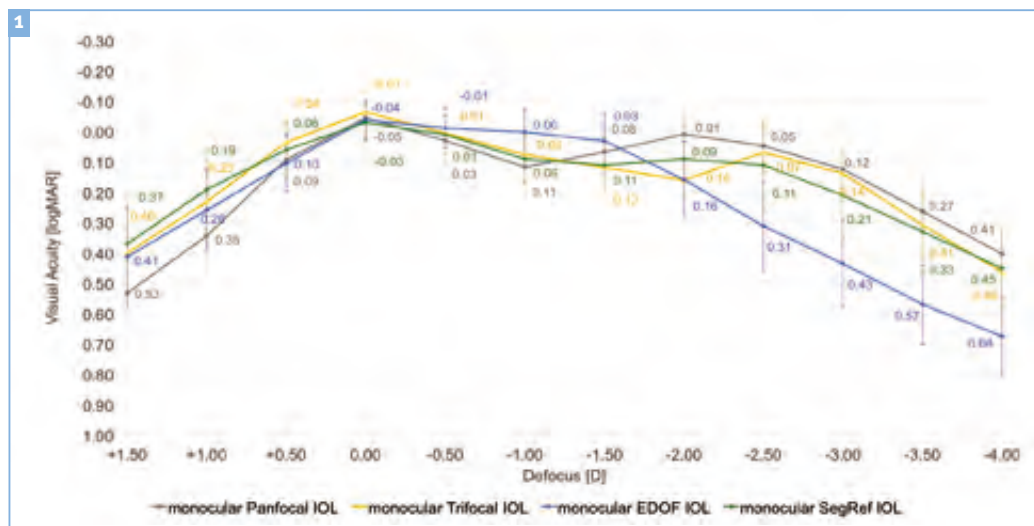


Abbildung 1

■ Defokuskurven der PanOptix (n=27 [53]), der AT Lisa tri 839MP (n=27 [30]), der Symphony ZXRo (n=26 [datas submitted]) und der MPlus X LS-313 MF30 (n=25 [42])

Studienlage nicht homogen. Im Vergleich zu Multifokallinsen wurden für EDOF-IOLs zum Teil ein besseres [45] oder vergleichbares [46] Kontrastsehen und ähnliche optische Phänomene nachgewiesen ebenso wie im Vergleich zu Monofokallinsen [43]. Die Brillenunabhängigkeit kann hier für annähernd alle Patienten in der Ferne und zu rund 70 % in der Nähe belegt werden.

AKKOMMODATIVE INTRAOKULARLINSEN

Durch akkommodative Mechanismen oder Pseudoakkommodation soll die dioptrische Wirkung der akkommodativen Intraokularlinsen so verändert werden, dass verschiedene Schärfepunkte entstehen. Hierzu stehen Linsen zur Verfügung, die innerhalb des Kapselsackes ihre Position verlagern, mehrere Optiken haben oder ihre Form ändern [47, 48]. Studien belegen, dass die akkommodativen IOLs einen vergleichbaren Fernvisus wie Monofokallinsen [49, 50] und einen besseren Nahvisus und somit eine höhere Brillenunabhängigkeit erzeugen [15, 51]. Allerdings sind diese ebenso wie andere Ansätze noch nicht ausgereift, so dass sie sich bisher nicht durchsetzen konnten [52].

PATIENTENAUSWAHL

Für alle Operationsverfahren und Linsen gilt, dass es im Vorfeld eine ausführliche Anamnese und Patientenuntersuchung, sowie ein intensives Gespräch über Vor- und Nachteile der Technik geben muss. Patienten sollten über die optischen Phänomene ebenso aufgeklärt werden, wie über Komplikationen [39] und darüber das alle Formeln zur Berechnung der Linse nur Schätzwerte liefern und dadurch im Nachhinein einer refraktive Korrektur noch bedürfen.

LITERATUR

- Holden B.A., Fricke T.R., Ho S.M., Wong R., Schlenker G., Cronjé S., Burnett A., Papas E., Naidoo K.S., Frick K.D. Global vision impairment due to uncorrected presbyopia. *Arch Ophthalmol* 2008; 126: 1731–1739
- Goertz A.D., Stewart W.C., Burns W.R., Stewart J.A., Nelson L.A. Review of the impact of presbyopia on quality of life in the developing and developed world. *Acta Ophthalmol* 2014; 92: 497–500.
- Luo B.P., Brown G.C., Luo S.C., Brown M.M. The quality of life associated with presbyopia. *Am J Ophthalmol* 2008; 145: 618–622.
- McDonnell P.J., Lee P., Spritzer K., Lindblad A.S., Hays R.D. Associations of presbyopia with vision-targeted health-related quality of life. *Arch Ophthalmol* 2003; 121: 1577–1581.
- Balagos M.J.T.D., Vargas V., Alió J.L. Correction of presbyopia: An integrated update for the practical surgeon. *Taiwan J Ophthalmol* 2018; 8: 121–140.
- Arba Mosquera S., Alió J.L. Presbyopic correction on the cornea. *Eye Vis (Lond)* 2014; 1: 5.
- Pallikaris I.G., Panagopoulou S.I. PresbyLASIK approach for the correction of presbyopia. *Curr Opin Ophthalmol* 2015; 26: 265–272.
- Bilbao-Calabuig R., Llovet-Osuna F. Non-lens-based surgical techniques for presbyopia correction. *Archivos de la Sociedad Española de Oftalmología (English Edition)* 2017; 92: 426–435.
- Vargas-Fragoso V., Alió J.L. Corneal compensation of presbyopia: PresbyLASIK: an updated review. *Eye Vis (Lond)* 2017; 4: 11.
- Kohnen T., Fabian E., Knorz M.C. Bewertung und Qualitätssicherung refraktiv-chirurgischer Eingriffe durch die DOG und den BVA – KRC-Empfehlungen. 2019; Im Internet: <http://www.aad.to/krc/qualit.pdf>.
- Binder P.S. Intracorneal Inlays for the Correction of Presbyopia. *Eye Contact Lens* 2017; 43: 267–275.
- Moarefi M.A., Bafna S., Wiley W. A Review of Presbyopia Treatment with Corneal Inlays. *Ophthalmol Ther* 2017; 6: 55–65.
- Konstantopoulos A., Mehta J.S. Surgical compensation of presbyopia with corneal inlays. *Expert Rev Med Devices* 2015; 12: 341–352.
- Lindstrom R.L., Macrae S.M., Pepose J.S., Hoopes P.C. Corneal inlays for presbyopia correction. *Curr Opin Ophthalmol* 2013; 24: 281–287.
- Zvorničanin J., Zvorničanin E. Premium intraocular lenses: The past, present and future. *J Curr Ophthalmol* 2018; 30: 287–296.
- Wang S.Y., Stem M.S., Oren G., Shtein R., Lichter P.R. Patient-centered and visual quality outcomes of premium cataract surgery: a systematic review. *Eur J Ophthalmol* 2017; 27: 387–401.
- Evans B.J.W. Monovision: a review. *Ophthalmic Physiol Opt* 2007; 27: 417–439.
- Greenstein S., Pineda R. The Quest for Spectacle Independence: A Comparison of Multifocal Intraocular Lens Implants and Pseudophakic Monovision for Patients with Presbyopia. *Semin Ophthalmol* 2017; 32: 111–115.
- Jain S., Ou R., Azar D.T. Monovision outcomes in presbyopic individuals after refractive surgery. *Ophthalmology* 2001; 108: 1430–1433.
- Moore J., McNeely R., Pazo E., Moore T. Rotationally asymmetric multifocal intraocular lenses. *Current Opinion in Ophthalmology* 2017; 28: 9–15.
- Charman W.N. Developments in the correction of presbyopia II: surgical approaches. *Ophthalmic and Physiological Optics* 2014; 34: 397–426.
- Davison J.A., Simpson M.J. History and development of the apodized diffractive intraocular lens. *J Cataract Refract Surg* 2006; 32: 849–858.
- Khandelwal S.S., Jun J.J., Mak S., Booth M.S., Shekelle P.G. Effectiveness of multifocal and monofocal intra-

- ocular lenses for cataract surgery and lens replacement: a systematic review and meta-analysis. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2019; Im Internet: <https://doi.org/10.1007/s00417-018-04218-6>.
24. Shah S., Peris-Martinez C, Reinhard T, Vinciguerra P. Visual Outcomes After Cataract Surgery: Multifocal Versus Monofocal Intraocular Lenses. *J Refract Surg* 2015; 31: 658–666.
 25. Alfonso J.F., Fernández-Vega L., Puchades C., Montés-Micó R. Intermediate visual function with different multifocal intraocular lens models. *Journal of Cataract & Refractive Surgery* 2010; 36: 733–739.
 26. Plaza-Puche A.B., Alió J.L. Analysis of defocus curves of different modern multifocal intraocular lenses. *Eur J Ophthalmol* 2016; 26: 412–417.
 27. Kohnen T., Nuijts R., Levy P., Haefliger E., Alfonso J.F. Visual function after bilateral implantation of apodized diffractive aspheric multifocal intraocular lenses with a +3.0 D addition. *Journal of Cataract & Refractive Surgery* 2009; 35: 2062–2069.
 28. Nuijts R.M.M.A., Jonker S.M.R., Kaufer R.A., Lapid-Gortzak R., Mendicutie J., Martinez C.P., Schmickler S., Kohnen T. Bilateral implantation of +2.5 D multifocal intraocular lens and contralateral implantation of +2.5 D and +3.0 D multifocal intraocular lenses: Clinical outcomes. *J Cataract Refract Surg* 2016; 42: 194–202.
 29. Alfonso J.F., Fernández-Vega L., Amhaz H., Montés-Micó R., Valcárcel B., Ferrer-Blasco T. Visual function after implantation of an aspheric bifocal intraocular lens. *J Cataract Refract Surg* 2009; 35: 885–892.
 30. Kohnen T., Titke C., Böhm M. Trifocal Intraocular Lens Implantation to Treat Visual Demands in Various Distances Following Lens Removal. *American Journal of Ophthalmology* 2016; 161: 71-77.e1.
 31. Xu Z., Li W., Wu L., Xue S., Chen X., Wu Q. Comparison of the Clinical Performance of Refractive Rotationally Asymmetric Multifocal IOLs with Other Types of IOLs: A Meta-Analysis. *J Ophthalmol* 2018; 2018: 4728258.
 32. Yang J.-J., Liu Q.-P., Li J.-M., Qin L. Comparison of visual outcomes with implantation of trifocal versus bifocal intraocular lens after phacoemulsification: a Meta-analysis. *Int J Ophthalmol* 2018; 11: 484–492.
 33. Gatinel D., Houbrechts Y. Comparison of bifocal and trifocal diffractive and refractive intraocular lenses using an optical bench. *J Cataract Refract Surg* 2013; 39: 1093–1099.
 34. Gatinel D., Loicq J. Clinically Relevant Optical Properties of Bifocal, Trifocal, and Extended Depth of Focus Intraocular Lenses. *J Refract Surg* 2016; 32: 273–280.
 35. Montés-Micó R., Madrid-Costa D., Ruiz-Alcocer J., Ferrer-Blasco T., Pons A.M. In vitro optical quality differences between multifocal apodized diffractive intraocular lenses. *J Cataract Refract Surg* 2013; 39: 928–936.
 36. Son H.S., Tandogan T., Liebing S., Merz P., Choi C.Y., Khoramnia R., Auffarth G.U. In vitro optical quality measurements of three intraocular lens models having identical platform. *BMC Ophthalmol* 2017; 17: 108.
 37. Böhm M., Hemkeppler E., Herzog M., Schönbrunn S., de'Lorenzo N., Petermann K., Kohnen T. Comparison of a panfocal and trifocal diffractive intraocular lens after femtosecond laser-assisted lens surgery. *J Cataract Refract Surg* 2018; 44: 1454–1462.
 38. Rosen E., Alió J.L., Dick H.B., Dell S., Slade S. Efficacy and safety of multifocal intraocular lenses following cataract and refractive lens exchange: Metaanalysis of peer-reviewed publications. *J Cataract Refract Surg* 2016; 42: 310–328.
 39. Alió J.L., Plaza-Puche A.B., Fernández-Buenaga R., Pikkell J., Maldonado M. Multifocal intraocular lenses: An overview. *Survey of Ophthalmology* 2017; 62: 611–634.
 40. Cochener B. Prospective Clinical Comparison of Patient Outcomes Following Implantation of Trifocal or Bifocal Intraocular Lenses. *J Refract Surg* 2016; 32: 146–151.
 41. Cochener B., Lafuma A., Khoshnood B., Courouve L., Berdeaux G. Comparison of outcomes with multifocal intraocular lenses: a meta-analysis. *Clin Ophthalmol* 2011; 5: 45–56.
 42. Kohnen T., Hemkeppler E., Herzog M., Schönbrunn S., DeLorenzo N., Petermann K., Böhm M. Visual Outcomes After Implantation of a Segmental Refractive Multifocal Intraocular Lens Following Cataract Surgery. *American Journal of Ophthalmology* 2018; 191: 156–165.
 43. Pedrotti E., Carones F., Aiello F., Mastropasqua R., Bruni E., Bonacci E., Talli P., Nucci C., Mariotti C., Marchini G. Comparative analysis of visual outcomes with 4 intraocular lenses: Monofocal, multifocal, and extended range of vision. *Journal of Cataract & Refractive Surgery* 2018; 44: 156–167.
 44. Akella S., Juthani V. Extended depth of focus intraocular lenses for presbyopia. *Current Opinion in Ophthalmology* 2018; 29: 318–322.
 45. Mencucci R., Favuzza E., Caporossi O., Savastano A., Rizzo S. Comparative analysis of visual outcomes, reading skills, contrast sensitivity, and patient satisfaction with two models of trifocal diffractive intraocular lenses and an extended range of vision intraocular lens. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2018; 256: 1913–1922.
 46. Ruiz-Mesa R., Abengózar-Vela A., Ruiz-Santos M. A comparative study of the visual outcomes between a new trifocal and an extended depth of focus intraocular lens. *Eur J Ophthalmol* 2018; 28: 182–187.
 47. Pepose J.S., Burke J., Qazi M.A. Benefits and barriers of accommodating intraocular lenses. *Curr Opin Ophthalmol* 2017; 28: 3–8.
 48. Comander J., Pineda R. Accommodating Intraocular Lenses: Theory and Practice. *International Ophthalmology Clinics* 2010; 50: 107–117.
 49. Kühle M., Seitz B., Langenbacher A., Gusek-Schneider G.C., Martus P., Nguyen N.X., Erlangen Accommodative Intraocular Lens Study Group. Comparison of 6-month results of implantation of the 1CU accommodative intraocular lens with conventional intraocular lenses. *Ophthalmology* 2004; 111: 318–324.

50. Zhou H., Zhu C., Xu W., Zhou F. The efficacy of accommodative versus monofocal intraocular lenses for cataract patients: A systematic review and meta-analysis. *Medicine (Baltimore)* 2018; 97: e12693.
51. Kühle M., Seitz B., Langenbacher A., Martus P., Nguyen N. X., Erlangen Accommodative Intraocular Lens Study Group. Stability of refraction, accommodation, and lens position after implantation of the ICU accommodating posterior chamber intraocular lens. *J Cataract Refract Surg* 2003; 29: 2324–2329.
52. Takakura A., Iyer P., Adams J.R., Pepin S.M. Functional assessment of accommodating intraocular lenses versus monofocal intraocular lenses in cataract surgery: metaanalysis. *J Cataract Refract Surg* 2010; 36: 380–388.
53. Kohnen T., Herzog M., Hemkepler E., Schönbrunn S., De Lorenzo N., Petermann K., Böhm M. Visual Performance of a Quadrifocal (Trifocal) Intraocular Lens Following Removal of the Crystalline Lens. *American Journal of Ophthalmology* 2017; 184: 52–62.



Prof. Dr. med. Thomas Kohnen, Jahrgang 1963, ist Direktor der Augenklinik am Klinikum der Goethe-Universität Frankfurt. Nach der Schulbildung am Couven-Gymnasium Aachen studierte er Humanmedizin an der RWTH Aachen und der Rheinischen Friedrich-Wilhelm-Universität Bonn, wo er 1989 promovierte. Nach Abschluss des Studiums arbeitete Herr Dr. Kohnen als Arzt im Praktikum und wissenschaftlicher Mitarbeiter in Bonn, Gießen und Ulm. Nach einem 2-jährigen DGF-Forschungsaufenthalt am Cullen Eye Institute, Baylor College of Medicine, Houston, TX/USA wurde er C1-Wissenschaftler und Oberarzt an der Klinik für Augenheilkunde der Goethe-Universität Frankfurt, wo er sich 2010 habilitierte und die *venia legendi* für das Fach Augenheilkunde erhielt. Die Position als *ltd. Oberarzt* und stellv. Direktor übernahm er an der Goethe-Universität Frankfurt 2003, bevor er hier im gleichen Jahr einen Ruf auf eine C3-Universitätsprofessur annahm. Nach mehreren Listenplätzen und externen Rufen übernahm er 2012 die Leitung der Augenklinik am Klinikum der Goethe-Universität Frankfurt.

Seine klinischen Schwerpunkte liegen in der Vorderabschnittstherapie und -chirurgie, refraktiven Chirurgie und Hinterabschnittstherapie und -chirurgie mit bes. Schwerpunkt auf die Kombination mit Vorderabschnittstherapie, sein wissenschaftlicher Schwerpunkt in der

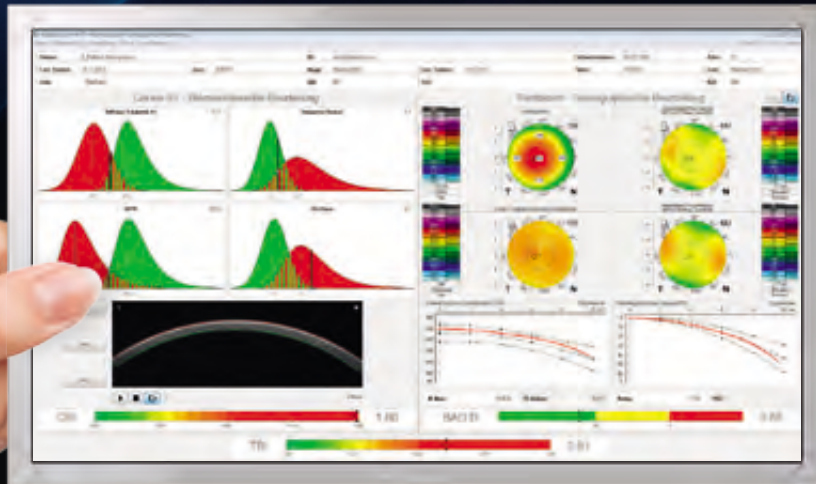
experimentellen und klinischen Erforschung von Vorderabschnittspathologien und Refraktionsfehlern des Auges. In den letzten Jahren wurde die Presbyopieforschung an der Goethe-Universität Frankfurt durch die DFG als Sachhilfe für PD Dr. Baumeister und Prof. Dr. T. Kohnen (BA 3443/2-1 MB) gefördert.

Prof. Kohnen ist Mitglied zahlreicher ophthalmologischer Gesellschaften, u. a. Past-Präsident und jetziger Schatzmeister der Deutschen Ophthalmologischen Gesellschaft (DOG), der DGII (Präsident von 2008–2012, Vizepräsident von 2012–2016), ESCRS board member seit 2013 und seit 2017 Schatzmeister sowie Präsident Elect der IIC. Außerdem steht er der Kommission Refraktive Chirurgie (KRC) der Deutschen Ophthalmologischen Gesellschaft (DOG) und des Berufsverbandes als Vorsitzender seit 2010 und seit 2014 als Präsident der Rhein-Mainischen Augenärzte Verein vor. Er führte circa 40.000 Operationen im gesamten Spektrum der Augenheilkunde durch und hat mehr als 430 wissenschaftliche Publikationen veröffentlicht. Zudem ist er seit über 15 Jahren Gastprofessor am Baylor College of Medicine in Houston, TX und führt gutachterliche Tätigkeiten für mehr als 20 national und international anerkannte peer-review Journale durch. Selber ist er seit 2015 Editor des *Journal of Cataract & Refractive Surgery*, wo er bereits von 1997–2015 Associate Editor war. Seit 2006 ist Prof. Kohnen Rubrikherausgeber von *Der Ophthalmologe* und seit 2009 Herausgeber des Schwerpunktthemas »Linse und Katarakt« in den *Klinische Monatsblätter für Augenheilkunde*. Außerdem ist er seit 2000 Editorial Board Member von *Graefe's Archive of Clinical and Experimental Ophthalmology*, 2007–2014 Editorial Board Member von *Ophthalmologica* und seit 2014 Editorial Board Member des *American Journal of Ophthalmology*.

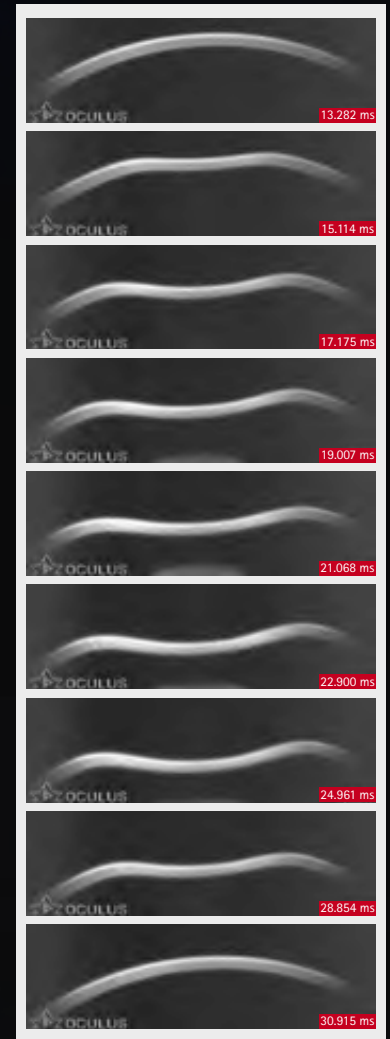
KONTAKT



Univ.-Prof. Dr. Thomas Kohnen
 Direktor der Klinik für Augenheilkunde
 Goethe-Universität, Frankfurt am Main
 Theodor-Stern-Kai 7
 60590 Frankfurt
 Tel. 069 / 6301-5187 oder -5056
 Fax 069 / 6301-6586
 E-Mail: kohnen@em.uni-frankfurt.de



Highspeed Scheimpflugbilder: Der Blick in die diagnostische Zukunft



Highspeed Scheimpflug-Kamera
in Kombination mit einem Non-Contact Tonometer:

- Biomechanisch korrigierter IOD (bIOP)
- Einfaches und schnelles Screening anhand der cornealen Biomechanik
- Corvis Biomechanischer Index (CBI) zur Keratokonus-Erkennung
- Kombination von Biomechanik und Tomographie (TBI)

Das NLRP3-Inflammasom als Therapietarget bei atrophischer altersabhängiger Makuladegeneration

PROF. DR. MED. TIM U. KROHNE, FEBO¹; DR. MED. LUPING WANG¹;
SARAH SCHMIDT¹; JANINE ROSSA, MSC¹; DR. MED. PETRA P. LARSEN, FEBO¹;
PROF. DR. MED. FRANK G. HOLZ, FEBO¹

1 Universitäts-
Augenklinik Bonn

Oxidative Schädigung und Aktivierung des angeborenen Immunsystems in der äußeren Netzhaut sind zentrale Faktoren in der Pathogenese der altersabhängigen Makuladegeneration (AMD), der häufigsten Ursache für Erblindung in allen Industrienationen. Eine zunehmende Anzahl experimenteller und klinischer Studien deutet auf eine zentrale Beteiligung des NLRP3-Inflammasoms an der AMD-Pathogenese hin. Das NLRP3-Inflammasom stellt einen intrazellulären Sensor des angeborenen Immunsystems für eine Vielzahl unterschiedlicher Gefahrensignale dar, dessen Aktivierung zur Freisetzung hochinflammatorischer Zytokine führt (**Abbildung 1**).

INFLAMMASOMAKTIVIERUNG IN DER RETINA

Ein gemeinsamer Mechanismus der Inflammasomaktivierung durch unterschiedliche Gefahrensignale ist die Permeabilisierung der lysosomalen Membran mit Freisetzung lysosomaler Enzyme ins Zytosol. In Zellen des retinalen Pigmentepithels (RPE) wird eine solche lysosomale Membranpermeabilisierung nach photooxidativer Schädigung infolge zunehmender Lipofuszinakkumulation beobachtet. Wir untersuchten deshalb das Zusammenspiel von oxidativer Schädigung und Inflammasomaktivierung in RPE-Zellen. In der Tat konnten wir nachweisen, dass eine lysosomale Membranpermeabilisierung durch Lipofuszin-vermittelten photooxidativen Schaden in RPE-Zellen eine aus-

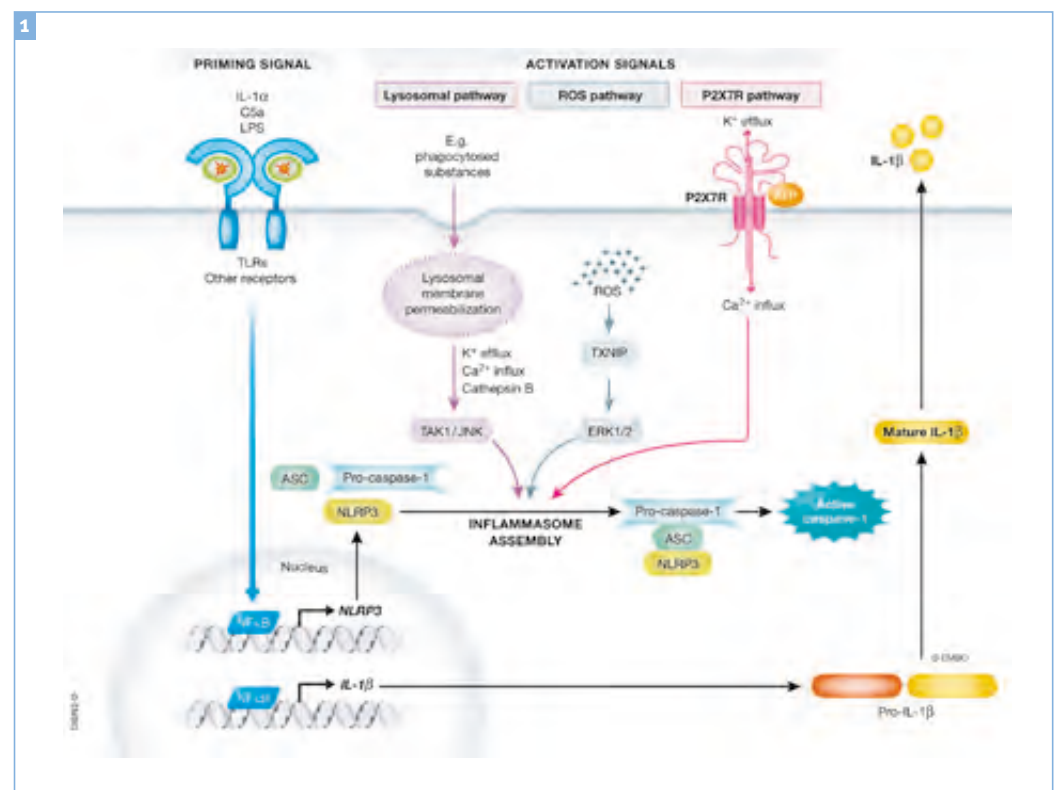


Abbildung 1

■ Mechanismen des Primings und der Aktivierung des NLRP3-Inflammasoms [Abbildung aus: Akhtarschäfer I, Wang L, Krohne TU, Xu H, Langmann T. *EMBO Mol Med* 2018 Oct; 10 (10): e8259.]

geprägte Inflammasomaktivierung mit apikaler Freisetzung pro-inflammatorischer Zytokine wie IL-1 β und IL-18 induziert [Brandstetter et al., *J Mol Med* 2015; Mohr et al., *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2015]. Aktiviertes Komplement verstärkt dabei noch die Inflammasomaktivierung in RPE-Zellen, insbesondere infolge Priming des Inflammasoms durch den Komplementfaktor C5a [Brandstetter et al.,

J Biol Chem 2015]. Durch diesen Mechanismus wird die Anfälligkeit des RPE für photooxidativ induzierte Zelldegeneration erhöht [Brandstetter et al., *J Photochem Photobiol B* 2016]. *In vitro* führt die Inflammasom-gesteuerte Zytokinfreisetzung der RPE-Zellen zudem zur Aktivierung und chemotaktischen Rekrutierung von Mikrogliazellen [Mohr et al., *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2015].

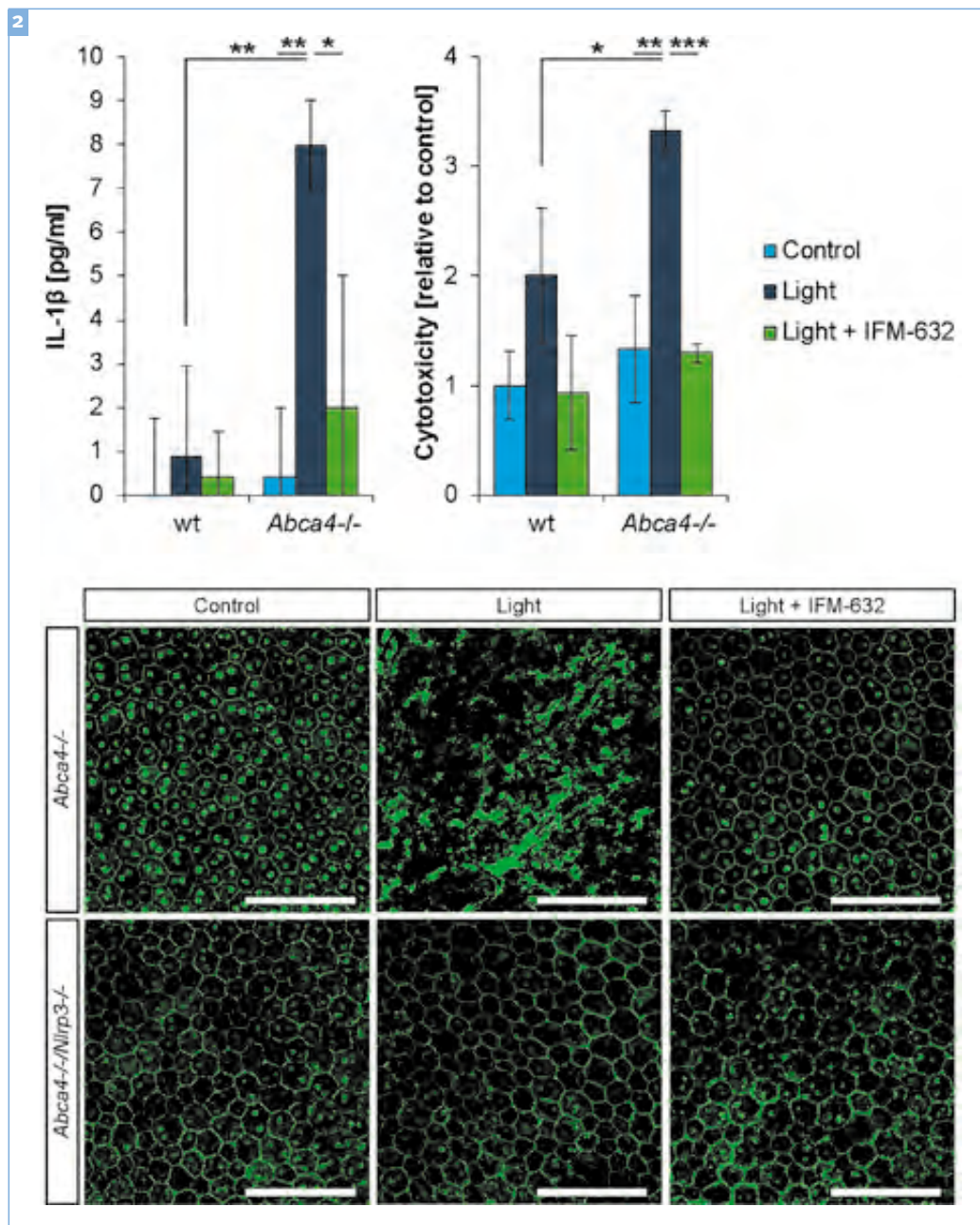


Abbildung 2

■ Wirksamkeit selektiver NLRP3-Inhibitoren. Im RPE von *Abca4*-knockout-Mäusen führt photooxidativer Stress *ex vivo* zur Inflammasom-Aktivierung und Zelldegeneration. Neuentwickelte selektive NLRP3-Inhibitoren wie IFM-632 (IFM Therapeutics) können diesen Effekt wirksam blockieren. [Abbildung aus: Wang L et al. *J Mol Med* 2019 Apr; 97 (4): 523–532.]

INFLAMMASOM ALS THERAPIETARGET

Ein spezifischer siRNA-vermittelte Knockdown der Inflammasom-Komponente NLRP3 führte in humanen RPE-Zellen zu einer signifikanten Suppression der durch Lipofuszin-Phototoxizität induzierten Inflammasomaktivierung und bestätigte somit die zentrale Rolle von NLRP3 in der Inflammasomaktivierung in RPE-Zellen. Auch in RPE-Organokulturen aus Wildtyp-Mäusen fanden wir nach Blaulicht-Bestrahlung eine signifikante Inflammasomaktivierung mit Freisetzung von IL-1 β , die in RPE-Kulturen NLRP3-defizienter Knockout-Mäuse nicht nachweisbar war. In aktuellen Arbeiten konnten wir zeigen, dass neuentwickelte, selektive NLRP3-Inhibitoren (IFM Therapeutics, Boston/MA) die Inflammasomaktivierung im RPE wirksam blockieren können, so dass sie vielversprechende Medikamente für eine weitere Evaluation als Therapiestrategie bei der atrophischen AMD darstellen (**Abbildung 2**).

In mehreren Anschlussprojekten werden aktuell die beschriebenen Mechanismen der Inflammasomaktivierung in *in-vivo*-Modellen weiter charakterisiert. Dafür werden u. a. genetisch veränderte Mäuse mit verstärkter Lipofuszin-Akkumulation im RPE (*Abca4*^{-/-}) in Kombination mit dem Mausmodell der Licht-induzierten retinalen Degeneration (LIRD) verwendet. In diesen Modellen werden wir neue Strategien zur pharmakologischen Intervention erproben, insbesondere die bereits *in vitro* untersuchten selektive NLRP3-Inhibitoren. Nach Abschluss der präklinischen Evaluation ist unser

mittelfristiges Ziel die Initiierung einer klinischen Therapiestudie bei Patienten mit atrophischer AMD.

LITERATUR

- Wang L., Schmidt S., Larsen P.P., Meyer J.H., Roush W.R., Latz E., Holz F.G., Krohne T.U. Efficacy of novel selective NLRP3 inhibitors in human and murine retinal pigment epithelial cells. *J Mol Med* 2019 Apr; 97 (4): 523–532.
- Akhtar-Schäfer I., Wang L., Krohne T.U., Xu H., Langmann T. Modulation of three key innate immune pathways for the most common retinal degenerative diseases. *EMBO Mol Med* 2018 Oct; 10 (10): e8259.
- Brandstetter C., Patt J., Holz F.G., Krohne T.U. Inflammasome priming increases retinal pigment epithelial cell susceptibility to lipofuscin phototoxicity by changing the cell death mechanism from apoptosis to pyroptosis. *J Photochem Photobiol B* 2016 May 21; 161: 177–183.
- Brandstetter C., Mohr L.K.M., Latz E., Holz F.G., Krohne T.U. Light induces NLRP3 inflammasome activation in retinal pigment epithelial cells via lipofuscin-mediated photooxidative damage. *J Mol Med* 2015 Aug; 93 (8): 905–16.
- Mohr L.K.M., Hoffmann A.V., Brandstetter C., Holz F.G., Krohne T.U. Effects of inflammasome activation on secretion of inflammatory cytokines and vascular endothelial growth factor by retinal pigment epithelial cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2015 Oct 1; 56 (11): 6404–13.
- Brandstetter C., Holz F.G., Krohne T.U. Complement component C5a primes retinal pigment epithelial cells for inflammasome activation by lipofuscin-mediated photooxidative damage. *J Biol Chem* 2015 Dec 25; 290 (52): 31189–98.



Prof. Dr. med. Tim U. Krohne, F.E.B.O. ist geschäftsführender Oberarzt und Leiter des molekularbiologischen Forschungslabors der Universitäts-Augenklinik Bonn. Nach seinem

Studium an den Universitäten Freiburg, London und Heidelberg absolvierte er seine Weiterbildung an der Universitäts-Augenklinik Bonn und einen dreijährigen Forschungsaufenthalt in der Abteilung für Zellbiologie des Scripps Research Institute, La Jolla/Kalifornien. Seine klinischen Schwerpunkte liegen im Bereich der Netzhauterkrankungen, der vitreoretinaler Chirurgie und der Kataraktchirurgie. Seine Forschungsschwerpunkte umfassen die Pathogenese und Therapie der altersabhängigen Makuladegeneration, die retinale Zellbiologie und die Stammzellbiologie.

KONTAKT



Prof. Dr. med. Tim U. Krohne, F.E.B.O.
 Universitäts-Augenklinik Bonn
 Ernst-Abbe-Str. 2
 53127 Bonn
 Tel. 0228 / 287-19839 (Sekretariat)
 Fax 0228 / 287-11518
 E-Mail: krohne@uni-bonn.de

XL-Optik: Pseudophake Verlässlichkeit für Sie und Ihre Patienten

Die Intraokularlinse ASPIRA-aXA liefert für die vielfältigsten ophthalmochirurgischen Bedürfnisse eine maßgeschneiderte Lösung: Die Einsatzmöglichkeiten erstrecken sich von der Standard-Kataraktoperation über die refraktive Chirurgie bis hin zu kombinierten Eingriffen in der Netzhautchirurgie. Die Hinterkammerlinse ist durch ihre 7,0-mm-XL-Optik und die Bereitstellung im preloaded Implantationssystem SAFELoader® charakterisiert, welches die bequeme Implantation durch XS-Inzisionen unter Beibehaltung der OP-Routine ermöglicht.

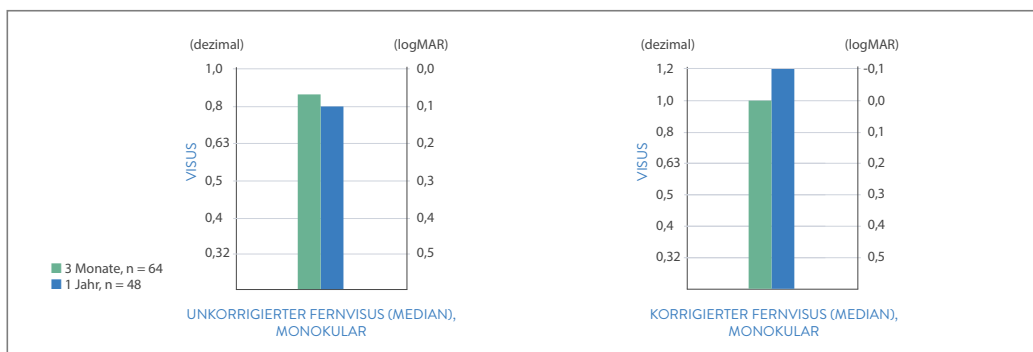


Abb. 1: Unkorrigierter und korrigierter monokularer Fernvisus aller Patienten 3 Monate und 1 Jahr postoperativ

Risikofaktoren für okuläre Erkrankungen nehmen in der Bevölkerung stetig zu. So ist fast jeder Dritte innerhalb der Bevölkerung der über 65-Jährigen von Hypertonie [1] betroffen, wie die Auswertung der GEDA2014/2015 Studie zeigt. Angaben der International Diabetes Federation (IDF) zufolge steigt die Diabetesprävalenz [2], ebenso wie die Fallzahlen für Adipositas [3]. Bei betroffenen Patienten sind regelmäßige Netzhautkontrollen erforderlich, um retinale Erkrankungen frühzeitig zu erkennen. Dabei erleichtert ein großer Funduseinblick sowohl dem Operateur als auch dem nachbehandelnden Arzt die Beurteilung der Gewebestrukturen und die Durchführung therapeutischer Maßnahmen in der äußeren Netzhautperipherie. Die ASPIRA-aXA ermöglicht durch ihre 7,0-mm-XL-Optik einen Rhexisdurchmesser von bis zu 6,5 mm und somit einen erweiterten Funduseinblick.

Mögliche Lösung im Hinblick auf Dysphotopsien

Nach Kataraktoperationen können für den Patienten unangenehme Begleiterscheinungen in Form von positiven (Halos, Lichtkränze, Blendungen) oder negativen Dysphotopsien (temporale Schatten, „Scheuklappen-Effekt“) auftreten. In der Literatur wird von einem direkten Zusammenhang zwischen Optikdurchmesser der Intraokularlinse (IOL) und dem Auftreten von Dysphotopsien ausgegangen [4]. Eine große Optik ermöglicht das Überlappen mit der Pupille, auch bei erweitertem Durchmesser. Einfallendes Licht wird sicher durch die Optik geleitet, störendes Streulicht wird reduziert und der direkte Lichteinfall auf die Retina vermieden. Patienten mit weiten Pupillen profitieren von der 7,0-mm-Optik der ASPIRA-aXA.

In einer Vergleichsstudie [5] (100 Augen) zwischen der ASPIRA-aXA (7,0-mm-Optik) und einer 6,0-mm-Optik-IOL wurde mittels eines subjektiven Fragebogens die Wahrnehmung von negativen Dysphotopsien erhoben. Dabei nahmen Patienten, die mit der ASPIRA-aXA versorgt wurden, deutlich weniger Dysphotopsien wahr als Patienten, denen die Vergleichslinse implantiert wurde. Ein Jahr nach der Implantation der ASPIRA-aXA gaben alle Patienten an, keine negativen Dysphotopsien wahrzunehmen.

Hervorragende Visusergebnisse

Die ASPIRA-aXA überzeugt mit hervorragenden Visusergebnissen. Alle Patienten zeigten sowohl nach drei Monaten als auch nach einem Jahr einen sehr guten unkorrigierten monokularen Fernvisus (siehe **Abbildung 1**). Der korrigierte monokulare Fernvisus war nach drei Monaten ebenfalls sehr gut und hat sich nach einem Jahr um eine weitere Zeile gesteigert. 96 % der Patienten erreichten einen korrigierten Visus von 0,8 (dezimal) oder besser. Patienten, die mit der ASPIRA-aXA versorgt wurden, erreichten unter photopischen Bedingungen ein verbessertes Kontrastsehen, verglichen mit operierten Personen der gleichen Altersgruppe. Alle Patienten zeigten sich bei einer Patientenbefragung als sehr zufrieden oder zufrieden.

Präzise und zuverlässige Bereitstellung

Die ASPIRA-aXA legt einen Grundstein für eine langfristige und verlässliche pseudophake Versorgung. Durch die Bereitstellung im preloaded Implantationssystem SAFELoader® kann die Hinterkammerlinse mit XL-Optik bequem unter Beibehaltung der OP-Routine durch XS-Inzisionen implantiert werden.

Literatur

1. Neuhauser H., Kuhnert R., Born S. 12-Monats-Prävalenz von Bluthochdruck in Deutschland. 2017.
2. Atlas D. International diabetes federation. IDF Diabetes Atlas, 7th edn Brussels, Belgium: International Diabetes Federation. 2015.
3. Schienkiewitz A., Mensink G., Kuhnert R., Lange C. Übergewicht und Adipositas bei Erwachsenen in Deutschland. 2017.
4. Bournas P., Drazinos S., Kanellas D., Arvanitis M., Vaikoussis E. Dysphotopsia after cataract surgery: comparison of four different intraocular lenses. *Ophthalmologica*. 2007; 221 (6): 378–383.
5. HumanOptics AG (2018). Interim Study Analysis, Data on file.

KONTAKT

HumanOptics AG
Spardorfer Str. 150
91054 Erlangen
Tel.: +49 (0) 9131 50665-0
Fax: +49 (0) 9131 50665-90
mail@humanoptics.com
www.humanoptics.com

Methodische Ansätze zur molekularen Analyse der Pathogenese der PAX6 assoziierten Aniridie

DR. LORENZ LATTA¹, M.SC. LENA KRAMMES², M.SC. TANJA STACHON¹,
FABIAN N. FRIES¹, PROF. DR. NORA SZENTMÁRY^{1,3},
PROF. DR. BERTHOLD SEITZ¹, MUSTAFA KAHRAMAN⁴,
DR. ANDREAS KELLER⁴, DR. NICOLE LUDWIG^{2,5}, PROF. DR. ECKART MEESE²,
PROF. DR. BARBARA KÄSMANN-KELLNER¹

1 Klinik für Augenheilkunde,
Universitätsklinikum
des Saarlandes, UKS
Homburg/Saar,
Deutschland

2 Institut für Humangenetik,
Universität des
Saarlandes,
Homburg/Saar,
Deutschland

3 Klinik für Augenheilkunde,
Simmelweis
Universität,
Budapest, Ungarn

4 Lehrstuhl für klinische Bioinformatik,
Universität des
Saarlandes,
Saarbrücken

5 Zentrum für Human- und Molekularbiologie,
Universität des
Saarlandes,
Homburg/Saar

Die kongenitale Aniridie hat ihre Ursache in den meisten Fällen in einer PAX6 Haploinsuffizienz, der verschiedenste Mutationen im PAX6 Gen zugrunde liegen können. Während die entwicklungsbiologischen Funktionen von PAX6 für verschiedene okulare Strukturen wie Retina, Iris und Linse relativ ausführlich untersucht wurden [1], ist wenig über die postnatalen Funktionen von PAX6 im Korneaepithel und der Bindehaut bekannt. Neben den vielfältigen Fehlbildungen des Auges (fehlende Iris, Schlemm-Kanal und Trabekelmaschenwerk sowie Optikus und Makulahypoplasie) entwickeln Aniridie-Patienten im Laufe der Zeit eine Aniridie Assoziierte Keratopathie (AAK). Das klinische Bild ähnelt dem der Limbusstammzellinsuffizienz. Dennoch gibt es über die pathophysiologischen Prozesse in den Oberflächenepithelien von Aniridie-Patienten

lediglich Hypothesen, die aus Zell- und Tiermodellen [2] abgeleitet werden. Derzeit wird diskutiert, ob die Limbusstammzellen bei AAK Teilungs- und Differenzierungsdefekte haben oder vollständig zugrunde gehen.

In der Literatur gibt es vergleichsweise wenige Arbeiten über die postnatale Funktion von PAX6 in den Oberflächenepithelien des Auges. Aus Mausmodellen ist bekannt, dass sowohl die Differenzierung als auch die Wundheilung des Korneaepithels bei Aniridie beeinträchtigt sind [3–5]. In der Bindehaut ist PAX6 beim Sjögren-Syndrom herunterreguliert [6].

Unsere Arbeitshypothese für die Arbeit mit Patientenproben lautet folglich: Stört die PAX6 Haplo-

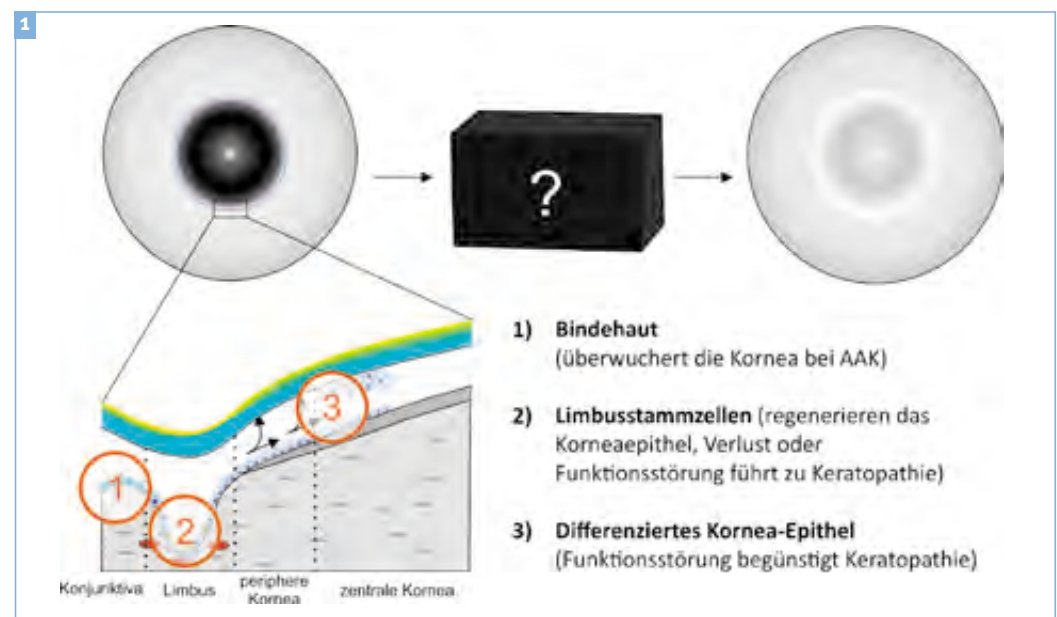


Abbildung 1

■ Im Krankheitsverlauf der kongenitalen Aniridie kommt es zur Aniridie assoziierten Keratopathie (AAK). Die dahinterstehende Pathophysiologie ist jedoch weitgehend unbekannt. Die Epithelien der Augenfläche exprimieren PAX6 [1–3] und sind vom Krankheitsverlauf betroffen. Inwieweit die veränderte PAX6 Expression bei Aniridie funktionell auf die Epithelien des Auges wirkt und ob diese Veränderungen zur AAK führen oder diese begünstigen ist Gegenstand unserer Forschung.

insuffizienz die Physiologie der Oberflächenepithelien des Auges? Die beteiligten Gewebe sind in **Abbildung 1** dargestellt.

Die enge Anbindung an die klinische Arbeit und die hohe Zahl an betreuten Aniridie-Patienten (320) in der Universitätsaugenklinik des Saarlandes ist ein Alleinstellungsmerkmal unseres Forschungslabors. Unser Ansatz ist daher, Patientenproben zu analysieren und diese Ergebnisse in den Kontext von Tier- und Zellmodellen aus der Literatur zu stellen bzw. in eigenen Zellmodellen umzusetzen. Dies erlaubt die Fokussierung auf Pathomechanismen, die sowohl bei Patienten als auch bei Modellzellen abbildbar sind.

Durch die enge Verzahnung des biologischen Labors der Univ.-Augenklinik mit der klinischen Betreuung der Aniridie-Patienten können die Proben im Klinikalltag gewonnen werden. Eine Übersicht der verfügbaren Probentypen, für die ein positives Ethikvotum vorliegt, ist in **Abbildung 2** skizziert.

Limbosepithelzellkulturen können aus Korneoskleralscheiben von Hornhautspendern, sowie im Rahmen von perforierenden Keratoplastiken bei fortgeschrittener AAK gewonnen werden. Diese Kulturen lassen sich für einen begrenzten Zeitraum kultivieren und liefern so wichtige Erkenntnisse über Zusammensetzung der Zellpopulation oder Einfluss von PAX6 und Keratopathie auf das Transkriptom und Proteom von Limbosepithelzellen bei AAK Patienten. In gesunden primären Limbosepithelzellen lässt sich mittels siRNA die PAX6 Dosis

künstlich senken, sodass überprüft werden kann, welche der Transkript-Änderung in Patientenzellen durch die PAX6 Haploinsuffizienz verursacht wird. Impressionszytologie-Proben der Bindehaut können bei allen Stadien der AAK isoliert werden. Ebenso ist eine bedenkenlose Rekrutierung von gesunden Kontrollen möglich. Durch Optimierung der Probenaufbereitung können sowohl gesamt RNA als auch Protein in ausreichenden Mengen für verschiedene molekularbiologische Analysen gewonnen werden. Die Proben werden zusammen mit Kooperationspartnern an der Universität des Saarlandes am Campus Homburg und Saarbrücken analysiert.

ERGEBNISSE DIESER STRATEGIE

Es lassen sich aus den der Limbusregion von Aniridie-Patienten Limbosepithelzellen isolieren [7]. Wir konnten Transkript-Änderungen nachweisen, die in Patientenzellen und im siRNA-Aniridie-Zellmodell sowohl auf eine Differenzierungsstörung als auch auf einen veränderten Retinol-Stoffwechsel hindeuten [8]. Besonders interessant sind für uns dabei Transkript-Veränderungen, die bei Patienten in Bindehaut und Limbosepithelzellen gleichsinnig reguliert sind und sich zusätzlich im primären Aniridie Zellmodell abbilden lassen (siehe hierzu **Abbildung 3**). Als positive Beispiele sind DSG1 und ADH7 dargestellt [8] (Daten der Bindehaut sind vorläufig und unveröffentlicht).

Diese kombinierte Strategie dient dazu, potenziell pathophysiologische Prozesse zu identifizieren, die

Abbildung 2

■ Etablierte Methoden und mögliche Analysen der Patientenproben. Primärzellkulturen lassen sich von gesunden Hornhautspendern, sowie von AAK Aniridie-Patienten im Rahmen einer Keratoplastik anlegen. Bei Aniridie Augen, die noch keine AAK entwickelt haben, können keine Limbusbiospien durchgeführt werden. Mit den Limbuszellkulturen der gesunden Spender kann außerdem ein siRNA basiertes Aniridie-Zellmodell etabliert werden. Nicht invasiv ist dagegen die Sammlung von Bindehautepithelzellen. Prinzipiell lassen sich alle Analysemethoden, die bei der Zellkultur zum Einsatz kommen, auch an den Bindehautproben durchführen, bei Letzteren kann aber die Probenmenge den Versuchsumfang limitieren.

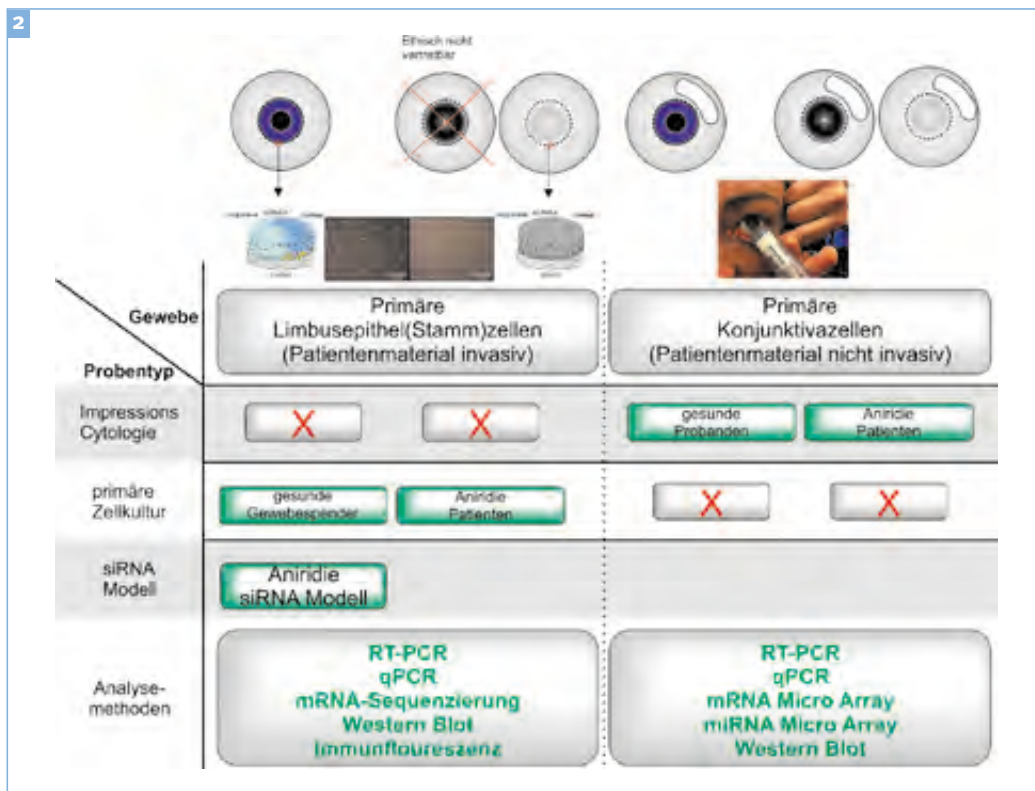
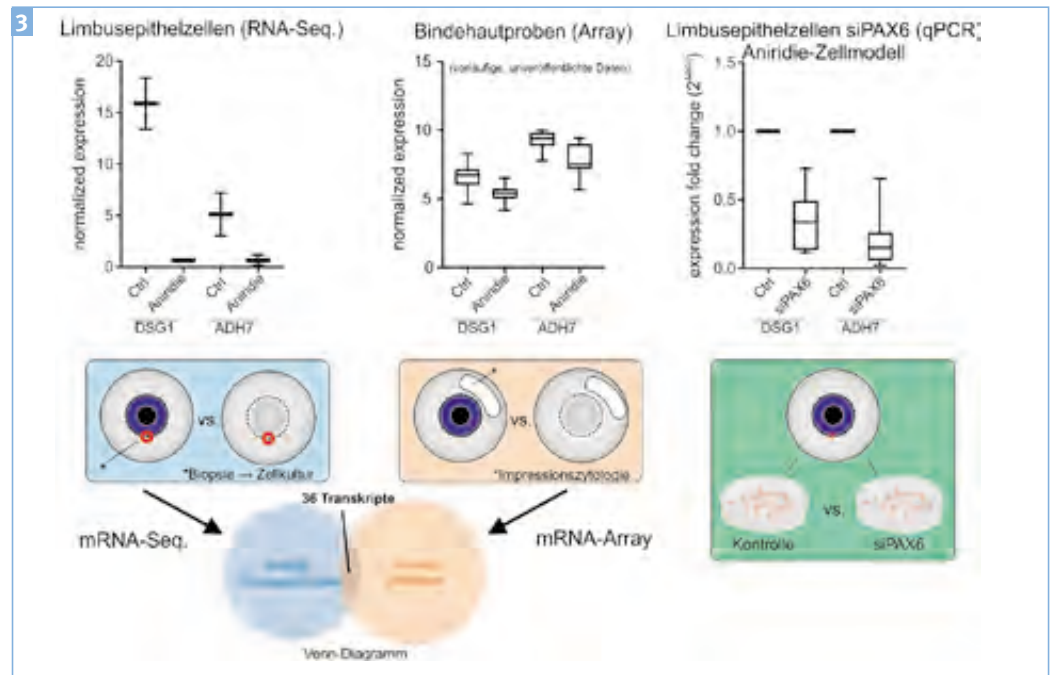


Abbildung 3

■ Expressionsdaten von zwei beispielhaften Transkripten. *DSG1* und *ADH7* sind sowohl in Limbusepithelzellen, in Bindehaut und im Aniridie-Zellmodell herunterreguliert. *DSG1* ist ein Zelladhäsionsmarker, der im Aniridie-Mausmodell in der Kornea herunterreguliert ist. *ADH7* ist besonders im Korneaepithel exprimiert und am Retinol-Stoffwechsel beteiligt. Eine mögliche Korrelation mit *PAX6* Haploinsuffizienz besteht in der Limbusepithelzellkultur, der Bindehaut (vorläufige, unveröffentlichte Ergebnisse) und in unserem siPAX6 Aniridie-Zellmodell. Vergleiche der Expressionsdaten von Limbusepithelzellen und Bindehaut (jeweils ca. 500 regulierte Transkripte) weisen einen Überlapp von 36 Transkripten auf, die in beiden Prototypen gleichsinnig dereguliert waren. (Siehe Schnittmenge des Venn-Diagramms rechts)



PAX6 gesteuert werden. Außerdem kann überprüft werden, in welchen Zellmodellen sich diese pathophysiologischen Prozesse nachvollziehen und modellieren lassen. Da wir uns auf Prozesse konzentrieren, die direkt am Patienten identifiziert wurden, ist eine spätere Translation der Ergebnisse in die Klinik erleichtert.

LITERATUR

- Shaham O., Menuchin Y., Farhy C., Ashery-Padan R. Pax6: A multi-level regulator of ocular development. *Prog Retin Eye Res* 2012; 31: 351–76.
- Ramaesh K., Ramaesh T., Dutton G.N., Dhillon B. Evolving concepts on the pathogenic mechanisms of aniridia related keratopathy. *Int J Biochem Cell Biol* 2005; 37: 547–57.
- Davis J., Duncan M.K., Robison W.G., Jr., Piatigorsky J. Requirement for Pax6 in corneal morphogenesis: a role in adhesion. *J Cell Sci* 2003; 116: 2157–67.
- Ou J., Lowes C., Collinson J.M. Cytoskeletal and cell adhesion defects in wounded and Pax6+/- corneal epithelia. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2010; 51: 1415–23.
- Ou J., Walczysko P., Kucerova R., et al. Chronic wound state exacerbated by oxidative stress in Pax6+/- aniridia-related keratopathy. *J Pathol* 2008; 215: 421–30.
- McNamara N.A., Gallup M., Porco T.C. Establishing PAX6 as a biomarker to detect early loss of ocular phenotype in human patients with Sjögren's syndrome. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2014; 55: 7079–84.
- Latta L., Viestenz A., Stachon T., et al. Human aniridia limbal epithelial cells lack expression of keratins K3 and K12. *Exp Eye Res* 2018; 167: 100–9.
- Latta L., Nordström K., Stachon T., et al. Expression of retinoic acid signaling components ADH7 and ALDH1A1 is reduced in aniridia limbal epithelial cells and a siRNA primary cell based aniridia model. *Exp Eye Res* 2019; 179: 8–17.

**KONTAKT****Dr. Lorenz Latta**

Klinik für Augenheilkunde
und Hochschulambulanz
Universitätsklinikum des Saarlandes UKS
Kirrberger Straße 100
66421 Homburg
Tel. 06841 / 16-22325
E-Mail: lorenz.latta@uks.de

Lorenz Latta ist promovierter Dipl. Biologe. Er arbeitet seit 2015 in der Universitäts-Augenklinik des Saarlandes und wird als Post-Doc die neu etablierte Dr. Rolf M. Schwiете Professur für Limbusstammzellforschung und kongenitale Aniridie unterstützen.

ASPIRA-aXA

SEHEN OHNE LIMIT



XS
INZISION
2.0

XL
OPTIK
Ø 7,0 mm

Pseudophake Verlässlichkeit XL für Sie und Ihre Patienten

Zahlreiche Krankheiten wie z.B. Diabetes oder Bluthochdruck stellen ein erhöhtes okuläres Risiko dar und erfordern regelmäßige Netzhautkontrollen. Mit der Intraokularlinse ASPIRA-aXA schaffen Sie durch den erweiterten Funduseinblick optimale Voraussetzungen für eine sichere pseudophake Patientenversorgung. Auch Patienten mit weiten Pupillen profitieren von dem XL-Optik-Design der ASPIRA-aXA.

ASPIRA-aXA – der Standard von morgen!

Innovative Drug-Delivery-Systeme in der Augenheilkunde

MARINA LÖSCHER¹, DR. RER. NAT. JOSÉ HURST¹,
DR. RER. NAT. SVEN SCHNICHELS¹

1 Universitäts-
Augenlinik Tübingen
AG Schnichels

HERAUSFORDERUNGEN DER OKULAREN MEDIKAMENTENAUFNAHME

Die Medikamentenaufnahme ans oder ins Auge ist mit einer Vielzahl an Hürden konfrontiert. Hauptproblem ist, dass die Blut-Retina-Schranke eine systemische Gabe sehr vieler Substanzen verhindert. Daher werden die meisten Medikamente entweder topisch oder intravitreal appliziert. Bei topischer Applikation wird der Großteil des Wirkstoffs direkt durch Lidschlag und Tränenflüssigkeit wieder ausgespült [1]. Zudem stellt die Kornea mit ihrem Aufbau aus hydrophilen und hydrophoben Schichten eine weitere Barriere dar. Der alternative Weg über Konjunktiva und Sklera ist zwar prinzipiell durchlässiger, aufgrund der guten Durchblutung von Episklera und Konjunktiva kommt es hier allerdings zu vorzeitigem Abtransport des Wirkstoffes [2] (**Abb. 1**). Um Bereiche des hinteren Augenabschnitts wie die Retina zu erreichen, werden zumeist intravitreale Injektionen angewandt. Auch hier gibt es neben dem Infektionsrisiko die Herausforderung Barrieren in der Medikamentenaufnahme zu überwinden. Die applizierten Wirkstoffe müssen sich durch den zähflüssigen Glaskörper einen Weg zur Netzhaut bahnen, um diese dann auch noch zu durchdringen.

INNOVATIVE CARRIERSYSTEME

Drug-Delivery Systeme oftmals im Nanometerbereich sollen hier Abhilfe schaffen. Eine Vielzahl verschiedener Carrier wird in der ophthalmologischen Forschung entwickelt, um die Medikamentenaufnahme ans Auge zu verbessern [3]. Nanopartikuläre Systeme bieten den Vorteil, dass sie aufgrund ihrer geringen Größe und Oberflächeneigenschaften den Wirkort besser und gezielter erreichen und damit geladene Wirkstoffe effizient zu ihrem Einsatzort bringen können [4]. Dies ermöglicht nicht nur den Einsatz geringerer Konzentrationen und das Adressieren auch schwer zu erreichender Wirkorte, wie zum Beispiel die Retina, sondern auch den Transport von Wirkstoffen, die aufgrund von Nebenwirkungen bisher nicht eingesetzt werden konnten.

Unsere Arbeitsgruppe beschäftigt sich seit sieben Jahren mit der Entwicklung, Evaluation und Optimierung von Nano- und Mikropartikulären Systemen. Diese Arbeiten werden mit mehreren Kooperationspartnern an der Universität Groningen, dem DWI – Leibniz-Institut für Interaktive Materialien in Aachen, dem Max Planck Institute for Intelligent Systems Stuttgart, der RWTH Aachen, der Universitätsaugenklinik Hamburg-Eppendorf, der FU

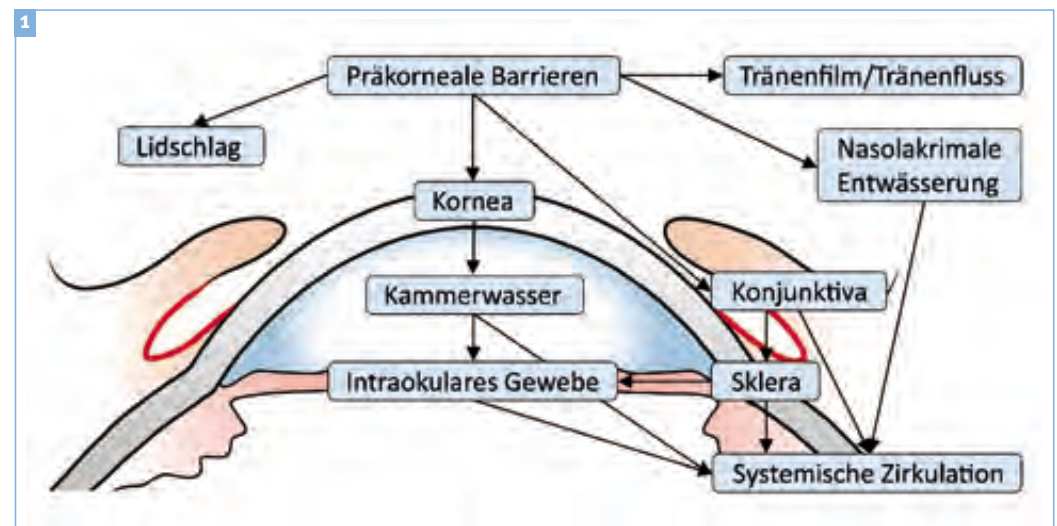
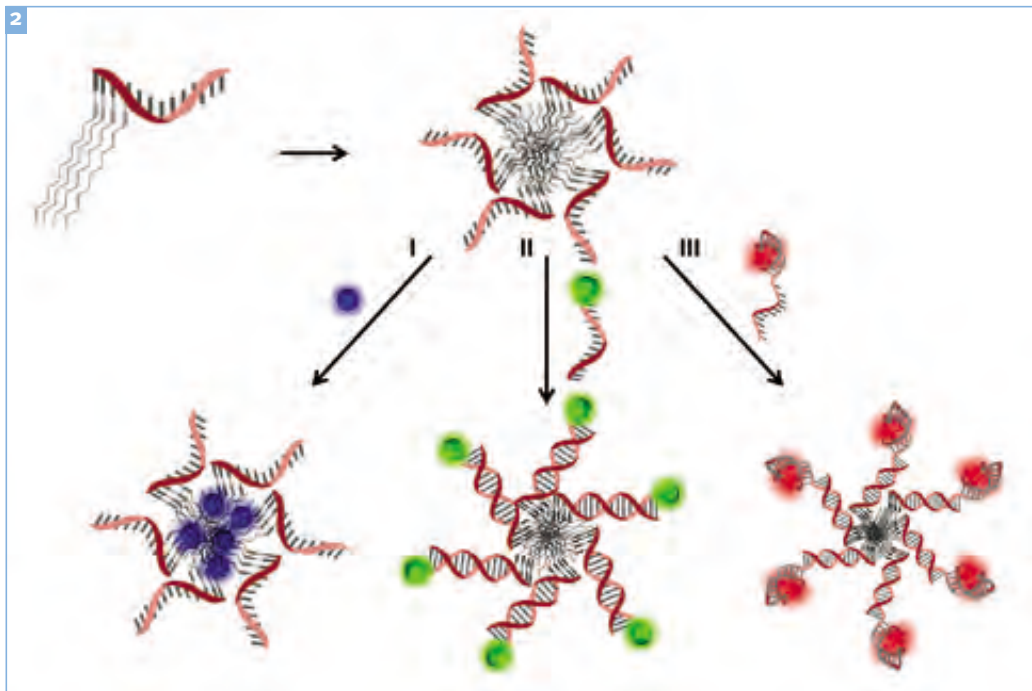


Abbildung 1
■ Barrieren des vorderen
Augenabschnitts.

**Abbildung 2**

■ Struktur der DNA-Nanopartikel und Beladungsstrategien. Lipid-modifizierte DNA-Stränge lagern sich zu Mizellen mit hydrophobem Kern und hydrophiler Korona zusammen. Die Beladung mit einem Wirkstoff erfolgt über 3 verschiedene Wege: (I) hydrophobe Ladung in den Kern der Mizelle (II) kovalente Bindung eines Wirkstoffs an den komplementären Strang (III) aptamerische Ladung gekoppelt an den komplementären Strang.

Berlin, und den Universitäten Stuttgart und Tübingen zusammen durchgeführt. Zwei Entwicklungen möchten wir im Folgenden näher vorstellen.

LIPID-DNA NANOPARTIKEL

Seit einigen Jahren arbeiten wir an der Entwicklung von Lipid-modifizierten DNA-Nanopartikeln als Drugcarrier für verschiedenste Indikationen. Diese NP, entstanden aus einer Kooperation mit der Universität Groningen und dem DWI – Leibniz-Institut für Interaktive Materialien, bestehen aus lipid-modifizierten DNA-Strängen, die sich aufgrund ihrer Amphiphilie in wässriger Lösung selbstständig zu Mizellen zusammenlagern (**Abb. 2**).

Sie bieten den Vorteil, dass sie aufgrund ihrer natürlichen Bausteine vom Körper rückstandslos abgebaut werden können und damit eine hervorragende Bioverträglichkeit aufweisen. Zudem sind sie flexibel mit Wirkstoffen zu beladen. Die einfachste Form ist die Beladung mit hydrophoben Medikamenten direkt in den hydrophoben Kern. Eine weitere Möglichkeit ist die kovalente Bindung an den komplementären DNA-Strang, wodurch der Wirkstoff allerdings verändert werden kann. Die bei weitem eleganteste und spezifischste Beladungs-

strategie ist die Beladung über Aptamere. Dazu wird der komplementäre Strang um die Sequenz des Aptamers, welches den Wirkstoff spezifisch wie ein Antikörper bindet, verlängert und an den NP hybridisiert (**Abb. 2**) (siehe auch unsere Patente: US10285939B2, EP3057572B1) [5].

Durch die kovalente Kopplung eines Fluorophors an den komplementären DNA-Strang haben wir die Adhäsion der NP an die Hornhautoberfläche untersucht. In Vorversuchen konnten wir die Bindung an humanes Hornhautgewebe nachweisen (**Abb. 3A**). Mittels eines Fluorophotometers konnten wir auch an Schweineaugen eine Verweildauer von über zwei Stunden nachweisen, während der reine Farbstoff bereits nach 5 Minuten nicht mehr zu detektieren war (**Abb. 3B**).

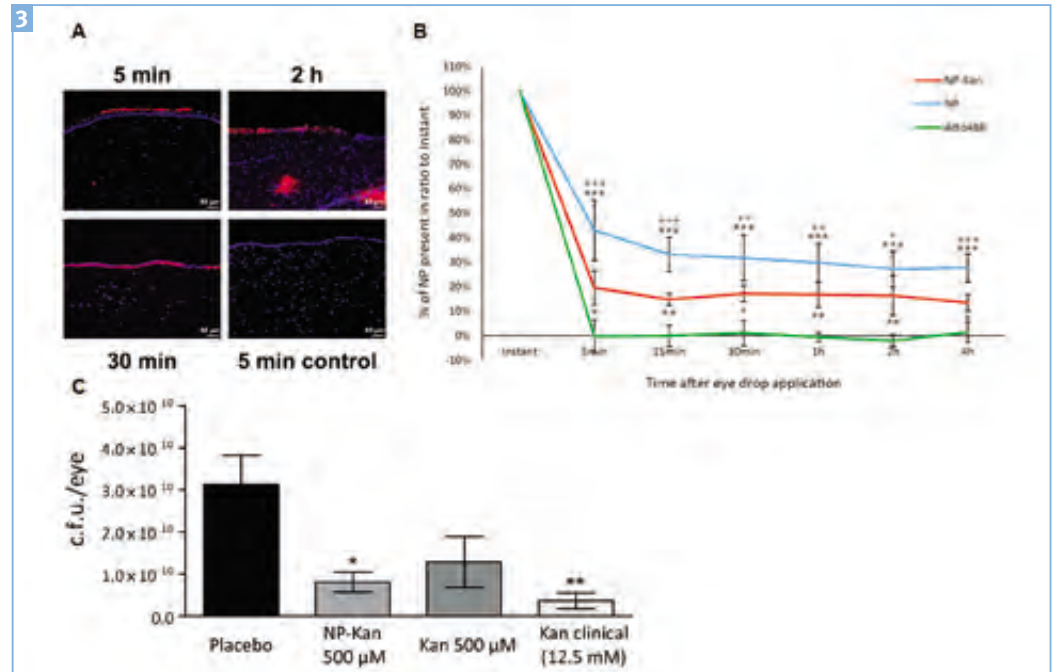
Als erste Indikation haben wir okuläre Infektionen mit dieser neuen Behandlungsmöglichkeit adressiert. Dazu wurde das Antibiotikum Kanamycin mittels Aptamer an den NP gebunden. Zum Nachweis der Wirksamkeit wurden sowohl ex-vivo also auch in-vivo Experimente durchgeführt. Dabei konnten wir nachweisen, dass die Wirksamkeit von Kanamycin durch Kopplung an den NP bei 25-fach geringerer Konzentration genauso hoch ist wie beim reinen Kanamycin (**Abb. 3C**) [6].

Abbildung 3

A) Kanamycin-NP haften bis zu 2 Stunden auf humaner Kornea (ex-vivo). **B)** Eine effektive Adhäsion von Kanamycin-NP und NP von mindestens 4 Stunden konnte auf Schweinekorneas mittels Fluorophotometer nachgewiesen werden, während der reine Farbstoff bereits nach 5 Minuten abgewaschen war. **C)** Mit Kanamycin beladene NP zeigten im Infektionsmodell in der Maus bei 25-fach niedrigerer Konzentration die gleiche Effektivität wie reines Kanamycin.

Abbildung 4

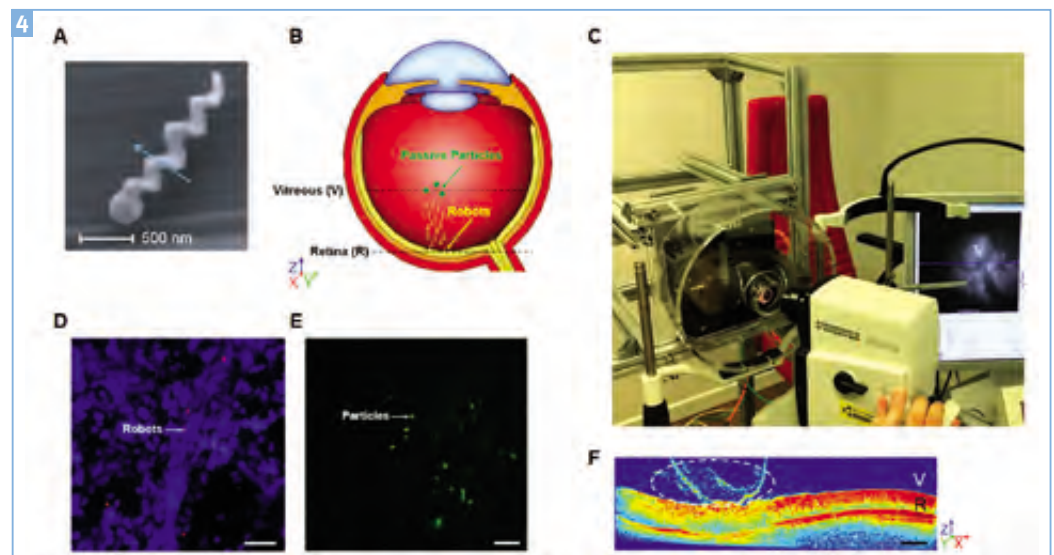
A) REM-Aufnahmen eines Mikropropellers. **B)** Schematische Darstellung der Bewegung der beschichteten Mikropropeller im Vitreus (V) in Richtung der Retina (R). Passive fluoreszierende Partikel (grün) werden mit den Mikropropellern (gelb) injiziert, um die Injektionsstelle zu markieren. **C)** Aufbau des Magnetfelds um das Schweineauge. Die Steuerung der Partikel wurde in Echtzeit per OCT verfolgt. **D)** Fluoreszenzmikroskopische Aufnahme der Retina in der Zielregion nach dem Magnetantrieb. Mikropropeller (rot) wurden auf der Retina gefunden (Zellkerne gefärbt mit DAPI (blau)). Maßstab: 20 µm. **E)** Das Fluoreszenzbild zeigt, dass sich die passiven fluoreszierenden Partikel (grün) in der Nähe der Mitte des Glaskörpers befinden, also der Injektionsstelle. Maßstab, 1 mm. **F)** Eingefärbtes OCT-Bild von Scans in der Nähe der Zielregion der Propeller. Der gestrichelte Linienkreis kennzeichnet die Mikropropeller in der Nähe der Netzhaut. Maßstab: 500 µm.



Mit der Kopplung von Travoprost und Brimonidin haben wir anschließend zwei Glaukom-NP entwickelt und evaluiert. In pharmakokinetischen Untersuchungen konnten wir zeigen, dass die Aufnahme von Travoprost ins Auge durch den NP um das vierfache erhöht wird. Im Krankheitsmodell, den DBA/2j-Mäusen, wurde auch die verbesserte Wirksamkeit bestätigt. Die Anwendung für weitere Indikationen, z. B. retinale Erkrankungen wird zurzeit evaluiert.

MIKROPROPELLER

Zur Behandlung retinaler Erkrankungen ist die gezielte Adressierung bestimmter Strukturen der Netzhaut notwendig. In Kooperation mit dem MPI in Stuttgart haben wir sogenannte Mikropropeller oder auch Nanoroboter entwickelt, die sich durch ein von außen angelegtes magnetisches Feld zielgerichtet durch den Glaskörper steuern lassen, um so nach



intravitrealer Injektion zur Netzhaut zu gelangen (**Abb. 4 A–C**). Die Spiralform der magnetischen Propeller ermöglicht den Vortrieb, durch eine spezielle Beschichtung wird die Haftung im biopolymeren Netzwerk des Glaskörpers verringert. In ex-vivo Experimenten an Schweineaugen konnte die gezielte Steuerung durch den Glaskörper mittels Optischer Kohärenztomographie (OCT) überwacht und mittels Histologie bestätigt werden (**Abb. 4 D–F**) [7]. In weiteren Untersuchungen ist nun die Kopplung von Wirkstoffen geplant und eine gezielte Steuerung durch okulare Strukturen.

LITERATUR

1. Zhang W., Prausnitz M.R., Edwards A. Model of transient drug diffusion across cornea. *Journal of controlled release: official journal of the Controlled Release Society*. 2004; 99: 241–58.
2. Gaudana R., Ananthula H.K., Parenky A., Mitra A.K. Ocular drug delivery. *The AAPS journal*. 2010; 12: 348–60.
3. Janagam D.R., Wu L., Lowe T.L. Nanoparticles for drug delivery to the anterior segment of the eye. *Advanced drug delivery reviews*. 2017; 122: 31–64.
4. Suri S.S., Fenniri H., Singh B. Nanotechnology-based drug delivery systems. *Journal of occupational medicine and toxicology (London, England)*. 2007; 2: 16.
5. Herrmann A., Vries J.W.D., Spitzer M.S., Schnichels S.O. Means and methods for ocular drug delivery. *Google Patents* 2015.
6. Willem de Vries J., Schnichels S., Hurst J., Strudel L., Gruszka A., Kwak M., et al. DNA nanoparticles for ophthalmic drug delivery. *Biomaterials*. 2018; 157: 98–106.
7. Wu Z., Troll J., Jeong H.H., Wei Q., Stang M., Ziemssen F., et al. A swarm of slippery micropropellers penetrates the vitreous body of the eye. *Science advances*. 2018; 4: eaat4388.

Dr. Sven Schnichels ist Arbeitsgruppen- und Laborleiter an der Universitäts-Augenklinik Tübingen (Direktor: Prof. Dr. med. K. U. Bartz-Schmidt). Herr Schnichels studierte Biologie auf Diplom an der Universität Hohenheim und promovierte 2010 an der Universität Tübingen. Seit 2013 leitet Dr. Schnichels die Labore der Klinischen Forschung an der Universitäts-Augenklinik Tübingen und seit 2016 zusätzlich seine eigene Arbeitsgruppe. Seit 2016 ist er auch assoziiertes Mitglied im Forschungsinstitut für Augenheilkunde, Tübingen. Der wissenschaftliche Fokus seiner Arbeitsgruppe liegt im Bereich Neuroprotektion bei degenerativen Erkrankungen der Retina, insbesondere im Bereich Glaukom, retinaler Ischämie und altersbedingter Makuladegeneration. Zusätzlich beschäftigt sich die Arbeitsgruppe von Dr. Schnichels intensiv mit Drug-Delivery Systemen am Auge. Sowohl die neuroprotektiven Maßnahmen als auch die Drug-Delivery Systeme werden an Zelllinien, verschiedenen Organkulturen (Hornhaut und Netzhaut) und Tiermodellen untersucht.

FÖRDERUNGEN UND AUSZEICHNUNGEN

Dr. Sven Schnichels ist Mitglied des European Leadership Development Programme (EuLDP). Seine Forschungsprojekte wurden mit 15 ver-

schiedenen Preisen ausgezeichnet, u. a. mit dem AECOS European Research Award, dem EYEnovative Förderpreis von Novartis Pharma, dem Patent-Preis der Deutschen Ophthalmologischen Gesellschaft gestiftet v. Heidelberg Engineering und dem Wissenschaftspreis der Boni-Tschönhens Stiftung. Seine Projekte werden u. a. durch die Deutsche Forschungsgemeinschaft, das Bundesministerium für Wirtschaft und Energie, das Bundesamt für Risikobewertung, die set Stiftung und die PRO RETINA-Stiftung unterstützt. Herr Schnichels ist Gutachter für zahlreiche internationale wissenschaftliche Fachzeitschriften und Drittmittelanträge. Weiterhin ist Sven Schnichels als Berichterstatter der AG YoungDOG Mitglied im Gesamtpräsidium und der Programmkommission der DOG tätig.

Dr. rer. nat Sven Schnichels

Universitäts-Augenklinik Tübingen
AG Schnichels
Elfriede-Aulhorn-Str. 7
72076 Tübingen
Tel.: 07071 / 29-87888
www.eye-tuebingen.de/schnichelslab/



KONTAKT



Neue funktionelle und morphologische Biomarker zur Beschreibung des Therapieerfolges von experimentellen Behandlungsansätzen bei erblichen Netzhauterkrankungen

UNIV.-PROF. DR. BIRGIT LORENZ¹, UNIV.-PROF. DR. DR. KNUT STIEGER¹

1 Klinik und Poliklinik für Augenheilkunde, Justus-Liebig-Universität Gießen

Die Zulassung der ersten Gentherapie für eine erbliche Netzhauterkrankung in den USA 2017 und in der europäischen Union Ende 2018 sowie die wachsende Zahl an klinischen Studien zur Gentherapie bei weiteren monogenen und multifaktoriellen Netzhauterkrankungen erhöhen den Bedarf an neuen funktionellen und morphologischen Messgrößen, die den Therapieerfolg detailliert und quantitativ orts aufgelöst erfassen und beschreiben. Klassische Methoden wie Visusprüfung und Standard-Gesichtsfeld erfüllen diese Anforderungen nicht ausreichend. Neben der Entwicklung von standardisierten Hindernisparcours, mit denen die Sehfähigkeit unter verschiedenen Beleuchtungsbedingungen und Kontrasten getestet werden kann, um den Effekt auf die Stäbchenbahn zu testen, müssen auch sensitive Methoden entwickelt werden, mit denen Säuglinge und Kleinkinder in Zukunft funktionell getestet werden können, damit bei degenerativen Erkrankungen gegebenenfalls in einem Stadium therapiert werden kann, in dem einerseits die Zellen noch ausreichend viabel sind und andererseits die neuronale Verschaltung in der Sehbahn noch in der sensitiven Phase der Sehentwicklung ist, um die Entwicklung einer irreversiblen Amblyopie zu verhindern. Darüber hinaus müssen die Daten hochauflösender bildgebender Verfahren wie der optischen Kohärenztomographie zukünftig noch eingehender genutzt werden, um Bereiche der Netzhaut zu identifizieren, die am besten von den bestehenden Therapieverfahren profitieren bzw. bei denen aufgrund des Vorhandenseins bestimmter Strukturen ein positiver therapeutischer Effekt erwartet werden kann. An derartigen Fragestellungen wird aktuell an der Augenklinik im Rahmen verschiedener drittmittelgeförderter Projekte gearbeitet (DFG-Lo 457/12, industriegesponserte Studien, IITs).

ETABLIERUNG HINDERNISPARCOURS ALS FUNKTIONELLER DIAGNOSTISCHER PARAMETER

Eine wesentliche Entscheidungsgrundlage für die Zulassung des auf einer Gentherapie basierenden Medikamentes Luxturna für die Behandlung von

Patienten mit biallelischen Mutationen im RPE65 Gen waren die funktionellen Daten, welche von der Firma Spark Therapeutics mithilfe eines standardisierten Hindernisparcours erhoben wurden [1]. Die FDA hatte für eine Zulassung in den USA funktionelle Daten aus klinischen Studien gefordert, mit denen der therapeutische Nutzen der Erkrankung für das tägliche Leben der Patienten klar gezeigt werden kann. Dies war mit den klassischen Methoden der Messung der Sehschärfe und des Gesichtsfeldes aufgrund der Besonderheiten der Erkrankung nicht möglich. Bei RPE65 Mangel sind typischerweise zunächst die Stäbchen komplett funktionslos, während die Zapfen noch eine unterschiedlich gute Restfunktion aufweisen können. Dadurch kommt es je nach Ausprägung der Erkrankung zu einer schweren oder milden Form der Netzhautdegeneration, die jedoch immer mit einer ausgeprägten Nachtblindheit, reduzierten Sehschärfe und einer stark reduzierten oder nicht nachweisbaren Fundusautofluoreszenz einhergeht [2–4]. Nach Behandlung mit der inzwischen zugelassenen Gentherapie, die in der subretinalen Injektion eines adeno-assoziierten virus (AAV) Vektors besteht, der eine Expressionskassette für die korrekte Kopie des RPE65 Gens enthält, kommt es in den meisten Fällen zu einer Verbesserung der Stäbchenfunktion, wodurch sich die Patienten deutlich besser unter schwachen Beleuchtungsbedingungen zurechtfinden. Dieser Effekt ist von großer Bedeutung für die Patienten, konnte aber lange Zeit nur durch Nutzung der Full-Field Stimulus Threshold Testmethode (FST) mit blauem Licht gemessen werden [5].

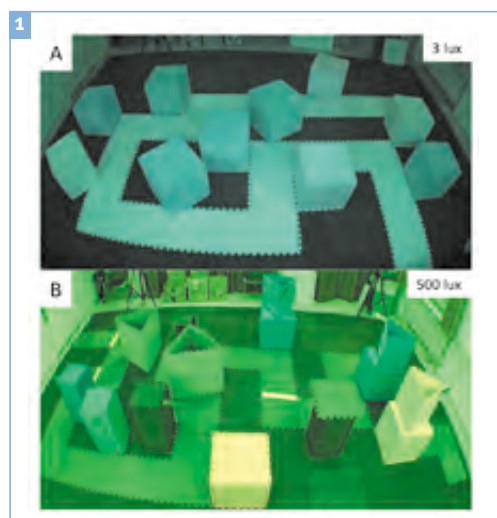
Für eine Zulassung war es der Arzneimittelbehörde FDA jedoch wichtig, die Auswirkungen auf den Alltag der Patienten besser messen zu können. Daher wurde ein Hindernisparcours (Multi luminance mobility test, MLMT) unter definierten Beleuchtungsbedingungen explizit für die Phase III klinischen Studien entwickelt [4]. Er zeigte eindeutig einen therapeutischen Effekt auf die Stäbchenfunktion [1].

Die Firma Ora entwickelte inzwischen einen weiteren Mobility Test (Ora-VNC™ Mobility Course), welcher aktuell auch in der Augenklinik in Gießen

installiert ist und für die Beschreibung der Sehfunktion bei Patienten mit RPE65 Mutationen sowie bei Patienten mit CEP290 Mutationen eingesetzt wird (**Abb. 1**). Der Parcours besteht aus großen Puzzleteilen, die man beliebig zusammenstecken kann und die bis zu 18 vorgegebene Strecken definieren. Die Teile, die den Weg markieren, sind heller als die umgebenden Teile, wobei 2 unterschiedliche Kontraststufen zur Verfügung stehen. Der Kontrast zwischen Strecke und Gegenständen kann entweder gering (low contrast parcours) oder hoch (high contrast parcours) sein. Darüber hinaus befinden sich Hindernisse seitlich am Weg, die ebenfalls heller sind als die Umgebung. Die Hindernisse können auch selbst leuchten. Die Raumbeleuchtung ist genau definiert und kann in 8 Schritten von 0,3 lux bis 500 lux verändert werden. Alles zusammen ergibt dies theoretisch eine große Anzahl an Kombinationsmöglichkeiten aus Strecke und Beleuchtung, die die Patienten durchlaufen können. Indem man Kontrast und Beleuchtung anpasst, kann man die Wahrnehmungsschwelle für Strecke und Hindernisse definieren und schon in Verlaufsstudien eine mögliche Verschlechterung der Sehfunktion quantifizieren. Der Phänotyp und der therapeutische Effekt können so noch wesentlich genauer beschrieben werden als mit dem MLMT.

BARRIEREFREIE PUPILLOMETRIE FÜR PATIENTEN IM KLEINKINDALTER (0 – 4 JAHRE)

Im Rahmen des von der DFG geförderten Schwerpunktprogramms SPP 2127 »Gen- und zellbasierte Therapien zur Behandlung neuroretinaler Degeneration« wird aktuell neben einem Projekt zur Entwicklung des therapeutischen Genomeditierens ein weiteres Projekt gefördert, in dem eine barrierefreie Pupillometrie für die Untersuchung von Kleinkindern im Alter von 0–4 Jahren entwickelt wird (DFG Lo 457/12). Mit dieser Methode soll eine diagnostische Lücke gefüllt werden, da gerade bei Säuglingen und Kleinkindern der Zeitpunkt der Gentherapie bei Erkrankungen mit schwerer Funktionseinschränkung bereits im Säuglingsalter bzw. schnell progredienten Erkrankungen aufgrund der zeitlich beschränkten sensitiven Phase der Sehentwicklung durchaus einen kritischen Faktor darstellt. Dies wird derzeit beispielsweise im Rahmen der Gentherapie bei Achromatopsie diskutiert. Somit sind quantifizierbare Funktionstests bei sehr jungen Kindern als Biomarker von besonderer Bedeutung.



Die Pupillometrie misst die Änderung des Pupillendurchmessers nach Stimulierung der Netzhaut mit Licht. Um differentielle Informationen über die Stäbchen- und Zapfenfunktion zu erhalten, wird blaues Licht (etwa 480 nm) und rotes Licht (640 nm) unterschiedlicher Intensität und mit unterschiedlichem Hintergrund genutzt, um so die Stäbchen- und Zapfenfunktion getrennt zu quantifizieren (Kardon 09). Diese chromatische Pupillometrie nutzt die unterschiedliche maximale Empfindlichkeit und Wellenlängenabhängigkeit der beiden Photorezeptorsysteme. Die Testung der Stäbchenfunktion erfolgt unter skotopischen Bedingungen, da bei photopischen Bedingungen die Aktivität der Blauzapfen sowie der melanosinhaltenen Ganglienzellen (ipRGC) dominiert. In Gießen wurde ab 2010 eine derartige chromatische Pupillometrie mit einer binokularen Brille zur Messung beider Augen entwickelt [6]. Die Möglichkeit, beide Augen gleichzeitig messen zu können, ist wichtig, da so bei unilateraler Stimulation des behandelten Auges das kontralaterale nichtbehandelte Auge zur Messung herangezogen werden kann.

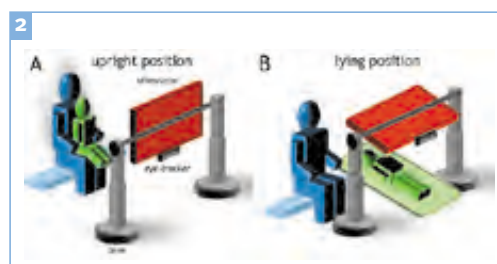


Abbildung 1

■ Der Ora-VNC™ Mobility Course, wie er in der Augenklinik Giessen angewendet wird. Deutlich zu erkennen sind die Matten, die den Weg zwischen den Hindernissen definieren. Die Zeit sowie die Anzahl der Kollisionen mit den Hindernissen wird festgehalten. (A) Hindernisparcours mit 3 lux Beleuchtung. (B) Hindernisparcours im 500 lux Beleuchtung.

Abbildung 2

■ Schematische Darstellung der barrierefreien Pupillometrie, wie sie im Rahmen des von der DFG geförderten Projektes entwickelt wird. (A) In der aufrechten Position sitzt der Patient entweder auf einem Stuhl oder auf dem Schoß der Eltern bzw. in einem Kindersitz vor dem Stimulationsmonitor. Ein Eye-tracking System erlaubt die Identifizierung der Pupillen und die Messung des Pupillendurchmessers. (B) In der liegenden Position ist der Patient entweder auf einem Untersuchungstisch oder ähnlich positioniert. Der Monitor kann in seiner Aufhängung exakt gedreht werden, sodass der Winkel von Monitor und Augen übereinstimmt.

Da jedoch zukünftig immer kleinere und jüngere Patienten mit erblichen Netzhauterkrankungen behandelt werden sollen, kommt die Pupillometrie

unter Nutzung einer Brille oder einer Kopfhaltung aufgrund der mangelnden Mitarbeit der Kleinkinder nicht in Frage. Im Rahmen des neuen Projektes soll

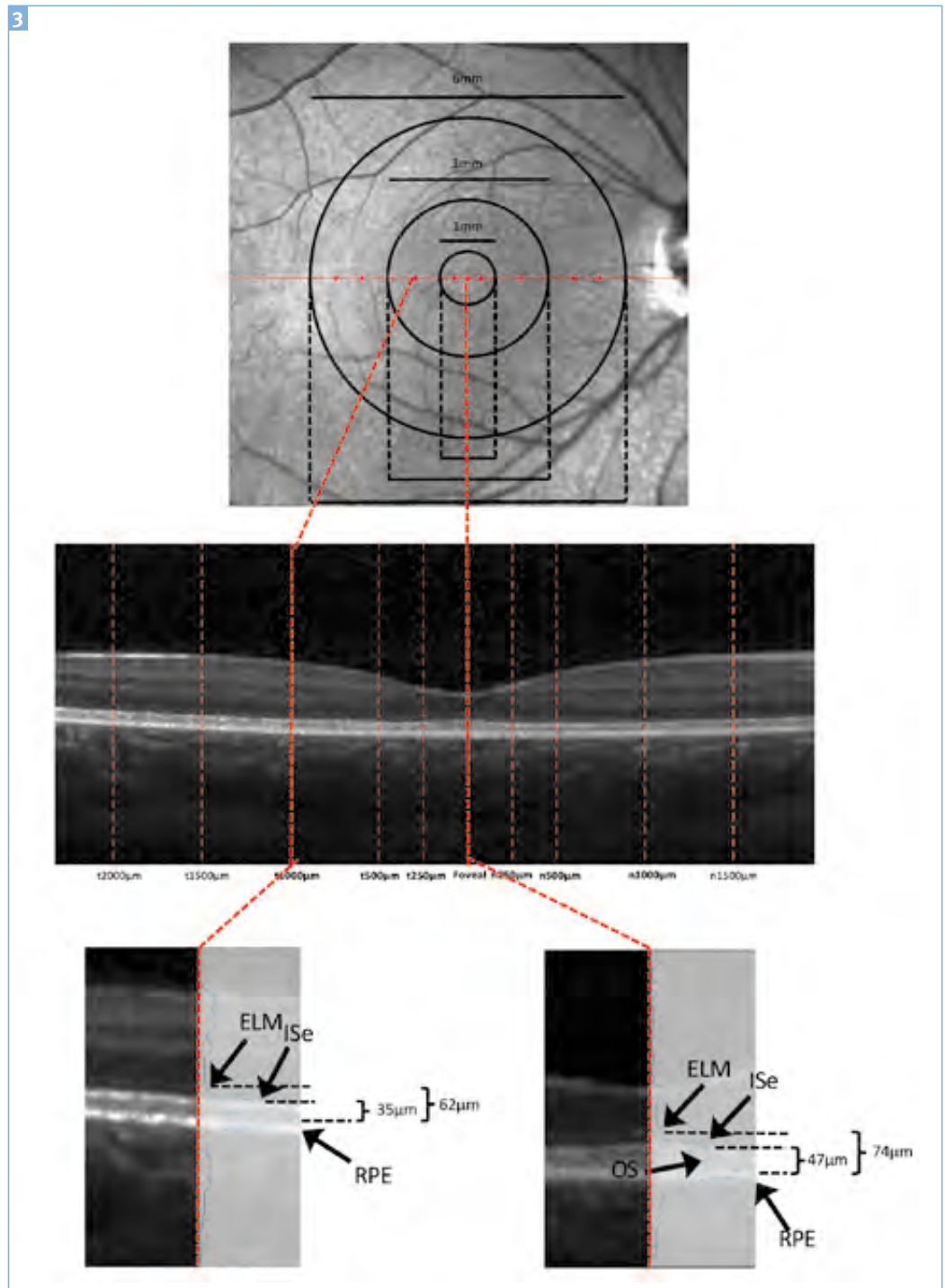


Abbildung 3

■ Schema der Analyse der äußeren retinalen Banden in der optischen Kohärenztomographie (OCT). Das Fundusbild und der OCT Scan werden überlagert und es werden die Banden an definierten Stellen nasal (n) und temporal (t) des fovealen Minimums ausgemessen (roten Linien). Unten sieht man in der A-Scan Analyse der Abstände zwischen den Banden, wobei im parafovealen Bereich 3 Banden zu identifizieren sind und im fovealen Bereich 4 Banden. ELM: äußere limitierende Membran; ISe = Ellipsoid des inneren Segmentes (Mitochondrien) der Photorezeptoren; OS: äußeres Segment der Photorezeptoren im Bereich der Mikrovilli-Umschließung durch das RPE; RPE: Retinales Pigmentepithel

nun eine barrierefreie Methode entwickelt werden, bei der die Pupille von verschiedenen Richtungen mit mehreren Kameras gemessen wird, während der Patient vor einem Monitor sitzt, auf den die verschiedenen Stimulationsreize projiziert werden (**Abb. 2**). So kann das Kleinkind auch auf dem Schoß der Mutter sitzen, und trotzdem werden nur die Pupillen des Kindes gemessen.

ANALYSE DER ÄUSSEREN RETINALEN BANDEN UND KORRELATION MIT FUNKTIONELLEN WERTEN

Morphologische Daten der hochauflösenden spectral domain optischen Kohärenztomographie (SD-OCT) liefern detaillierte Informationen nicht nur über die einzelnen Schichten der Netzhaut, sondern auch über die Grenzbereiche und stark reflektierenden äußeren retinalen Banden. Gerade letztere spielen bei der Beurteilung funktionsfähiger Bereiche der Netzhaut eine wichtige Rolle [7]. So wurde bei Patienten mit X-gebundener RP aufgrund von Mutationen im RPGR Gen eine Korrelation zwischen dem Gesichtsfeld und dem Vorhandensein der ISe Bande (Ellipsoid der inneren Segmente der Photorezeptoren) im OCT postuliert [8]. Interessanterweise ist dies jedoch nicht bei allen Formen retinaler Degenerationen möglich. An der Augenklinik wird im Rahmen einer Dissertation analysiert, ob man bei Patienten mit biallelischen Mutationen im RPE65 mithilfe der äußeren retinalen Banden eine funktionelle Korrelation mit Visus oder Lichtwahrnehmung herstellen kann und ob es eine Vorhersagemöglichkeit gibt, welche Patienten besonders gut oder schlecht auf eine Gentherapie mit Luxturna ansprechen würden (**Abb. 3**). Aufgrund langjähriger Arbeit im Bereich Ophthalmogenetik stehen für diese Untersuchung 25 Patienten mit noch ausreichender Sehfunktion zur Verfügung. Dies ist eines der größten Patientenkollektive in Deutschland mit dieser Erkrankung. Hierzu wurden bei allen Patienten, bei denen qualitativ gute OCT Aufnahmen der äußeren Netzhaut vorhanden waren, die äußeren retinalen Banden vermessen. Eine signifikante Korrelation konnte zwischen der Strecke RPE zu ISe Bande und der Sehschärfe festgestellt werden, wobei dies nur bei relativ milden Verlaufsformen möglich war.

Zusammenfassend kann gesagt werden, dass die Entwicklung von quantitativen morphologischen und funktionellen globalen und ortsauflösenden

Biomarkern für erbliche Netzhauterkrankungen gerade im Hinblick auf gentherapeutische Verfahren von enormer Wichtigkeit ist, um den natürlichen Verlauf der Erkrankung und den therapeutischen Nutzen neuer Verfahren beschreiben und quantifizieren zu können.

LITERATUR

1. Russell S., Bennett J., Wellman J. A., Chung D. C., Yu Z.-F., Tillman A., et al. Efficacy and safety of voretigene neparvovec (AAV2-hRPE65v2) in patients with RPE65-mediated inherited retinal dystrophy: a randomised, controlled, open-label, phase 3 trial. *Lancet* 2017 390 (10097): 849–60.
2. Lorenz B., Wabbels B., Wegscheider E., Hamel C.P., Drexler W., Preising M.N. Lack of fundus autofluorescence to 488 nanometers from childhood on in patients with early-onset severe retinal dystrophy associated with mutations in RPE65. *Ophthalmology* 2004 111 (8): 1585–94.
3. Lorenz B., Poliakov E., Schambeck M., Friedburg C., Preising M.N., Redmond T.M. A comprehensive clinical and biochemical functional study of a novel RPE65 hypomorphic mutation. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2008 49 (12): 5235–42.
4. Chung D. C., Bertelsen M., Lorenz B., Pennesi M. E., Leroy B. P., Hamel C. P., et al. The Natural History of Inherited Retinal Dystrophy Due to Biallelic Mutations in the RPE65 Gene. *Am J Ophthalmol. United States*; 2019 Mar; 199: 58–70.
5. Jacobson S. G., Cideciyan A. V., Ratnakaram R., Heon E., Schwartz S. B., Roman A. J., et al. Gene therapy for leber congenital amaurosis caused by RPE65 mutations: safety and efficacy in 15 children and adults followed up to 3 years. *Arch Ophthalmol* 2012 130 (1): 9–24.
6. Lorenz B., Strohmayer E., Zahn S., Friedburg C., Kramer M., Preising M., et al. Chromatic pupillometry dissects function of the three different light-sensitive retinal cell populations in RPE65 deficiency. *Investig Ophthalmol Vis Sci*. 2012; 53 (9).
7. Spaide R.F., Curcio C.A. Anatomical correlates to the bands seen in the outer retina by optical coherence tomography: literature review and model. *Retina*. 2011 Sep; 31 (8): 1609–19.
8. Birch D. G., Locke K. G., Wen Y., Locke K.I., Hoffman D. R., Hood D. C. Spectral-domain optical coherence tomography measures of outer segment layer progression in patients with x-linked retinitis pigmentosa. *JAMA Ophthalmol* 2013 131 (9): 1143–50.



Univ.-Prof. Dr. med. Birgit Lorenz, Jahrgang 1949, ist Direktorin der Klinik und Poliklinik für Augenheilkunde am Fachbereich Medizin der Justus-Liebig-Universität Gießen. Nach einem Studium der Medizin in München und Paris arbeitete Frau Lorenz zunächst an der Augenklinik in München (Habilitation 1989) und absolvierte 1983 einen Forschungsaufenthalt am Moorfields Eye Hospital in London, bevor sie 1991 nach Regensburg ging, um dort die Leitung der selbständigen Abteilung für Pädiatrische Ophthalmologie, Strabismologie und Ophthalmogenetik (C3 Professor) zu übernehmen. Seit 2007 ist sie Direktorin der Augenklinik in Gießen. Ihre klinischen Schwerpunkte liegen in der pädiatrischen Ophthalmologie und der Neuro-Ophthalmologie. Der wissenschaftliche Fokus liegt in der Entwicklung neuer morphologischer

und funktioneller Untersuchungsmethoden und in der Entwicklung und Durchführung von experimentellen Behandlungsansätzen bei Netzhautdystrophien.

Prof. Lorenz wurde mehrfach von der DFG und anderen Förderorganisationen wissenschaftlich gefördert. Sie ist Mitglied in zahlreichen nationalen und internationalen Vereinigungen, unter anderem in der academia ophthalmologica internationalis (AOI) und der european academy of ophthalmology (EAO). Sie ist Vorstandsmitglied der DOG, sowie Gründungsmitglied und Sprecherin der Sektion DOG-Genetik. Sie war Gründungspräsidentin der European Pediatric Ophthalmological Society (EPOS) und von 2002 bis 2010 deren Präsidentin. Seit 2016 ist sie Präsidentin der International Society of Genetic Eye Diseases and Retinoblastoma (ISGEDR). Im Jahr 2012 war Frau Lorenz Visiting Professor am Childrens Hospital der Harvard University. Seit 2017 ist sie Chair für Paediatric Rare Eye Diseases in dem neu gegründeten European Reference Network for Rare Eye Diseases (ERN-Eye). Frau Lorenz ist Gutachterin zahlreicher internationaler Fachzeitschriften und Forschungsförderinstitutionen und Autorin von über 250 peer reviewed Forschungsarbeiten. Seit 2017 ist Frau Lorenz Ko-Koordinatorin des DFG Schwerpunktprogramms SPP2127 »Gen- und zellbasierte Therapien zur Behandlung neuroretinaler Degeneration«.

KONTAKT



Univ.-Prof. Dr. med. Birgit Lorenz

Direktorin der Klinik und Poliklinik für Augenheilkunde
Justus-Liebig-Universität Gießen
Fachbereich 11 – Medizin
Friedrichstraße 18
35392 Gießen
Tel. 0641 985-43801
Fax 0641 985-43809
E-Mail:
birgit.lorenz@augen.med.uni-giessen.de
www.augen-giessen.de



Univ.-Prof. Dr. Dr. med. vet. Knut Stieger, Jahrgang 1978, ist Leiter der Arbeitsgruppe Experimentelle Ophthalmologie an der Augenklinik in Gießen. Nach einem Studium der Veterinärmedizin in Leipzig und Forschungsaufenthalten in Philadelphia und Cornell, absolvierte Herr Stieger ein PhD Studium am Genterapielabor INSERM U649 der Universität Nantes, Frankreich. Seit 2007 ist Herr Stieger in Gießen tätig und hat die Forschungsgruppe dort maßgeblich mit aufgebaut. Seine Forschungsschwerpunkte liegen in der Entwicklung von neuen Methoden

der Genterapie bei erblichen Netzhauterkrankungen sowie in der Entwicklung von morphologischen und funktionellen Untersuchungsmethoden zum Nachweis des therapeutischen Effektes.

Herr Stieger wurde unter anderem von der DFG sowie weiteren nationalen und internationalen Förderorganisationen unterstützt. Er erhielt 2012 einen ERC starting grant der Europäischen Kommission zur Entwicklung eines neuen Therapieansatzes basierend auf CRISPR-Cas vermitteltem genome editing zur Behandlung von erblichen Erkrankungen in der Netzhaut. Professor Stieger ist Gründungsmitglied und Sekretär der Sektion DOG Genetik. Er ist Gutachter für zahlreiche Fachzeitschriften und Förderorganisationen und Autor von über 40 peer reviewed Veröffentlichungen. Seit 2017 ist er Koordinator und Sprecher des DFG Schwerpunktprogramms SPP2127 »Gen- und zellbasierte Therapien zur Behandlung neuroretinaler Degeneration«.

KONTAKT



Univ.-Prof. Dr. Dr. med. vet. Knut Stieger

Klinik und Poliklinik für Augenheilkunde
Justus-Liebig-Universität Gießen
Fachbereich 11 – Medizin
Friedrichstraße 18
35392 Gießen
Tel. 0641 985-43835
Fax 0641 985-43888
E-Mail:
knut.stieger@augen.med.uni-giessen.de

oertli[®]
SWITZERLAND



Faros[™]
MAKING THE
DIFFERENCE
WITH LEADING
INNOVATION

DASHCOM



**Präzision und Effizienz
in der Augenchirurgie**

Die kompakte Operationsplattform Faros ermöglicht Katarakt-, Vitrektomie- und Glaukom-Chirurgie auf höchstem Niveau und bleibt dabei stets bequem und intuitiv bedienbar. Die präzise Flusssteuerung und der einzigartige SPEEPMoDe[™] des Faros macht die Arbeit des Operateurs noch einfacher, sicherer und effizienter.

**Oertli Instrumente
Deutschland GmbH**
82110 Germering
T +49 89 5500 7333

EYE SURGERY. SWISS MADE.

MACUSTAR: Entwicklung neuer klinischer Endpunkte für Therapie-Studien bei Patienten mit intermediärer altersabhängiger Makuladegeneration (iAMD)

DR. ANNA LÜNING¹, DR. JAN H. TERHEYDEN¹, PROF. DR. ROBERT P. FINGER¹, PROF. DR. STEFFEN SCHMITZ-VALCKENBERG¹, PRIV.-DOZ. DR. FRIEDRICH ASMUS², PROF. DR. FRANK G. HOLZ¹

1 Universitäts-Augenklinik Bonn,
Bonn, Deutschland

2 Bayer AG
Berlin, Deutschland

Die altersabhängige Makuladegeneration (AMD) ist die häufigste Ursache für eine hochgradige Sehbehinderung bei älteren Menschen in den Industrieländern [1–3]. Die Erkrankung schreitet von einem frühen über ein intermediäres (iAMD) bis hin zu Spätstadien fort. Eine zugelassene Therapie existiert bislang lediglich für die neovaskuläre Spätform der AMD. Für die häufiger auftretenden früheren AMD-Stadien sowie die geographische Atrophie sind bisher keine Behandlungen verfügbar.

Somit ist die Entwicklung von Therapien für die frühen/intermediären Formen der AMD von großer Bedeutung. Vor der Erprobung neuer Therapeutika müssen jedoch Studienendpunkte entwickelt werden, mit denen die Wirksamkeit dieser neuen Therapien nachgewiesen werden kann. Der bisher einzig für die Indikation neovaskuläre AMD anerkannte Studienendpunkt bestkorrigierter Fernvisus bei hohem Kontrast und hoher Ausleuchtung, ist bei der iAMD allenfalls gering verändert. Ausreichend validierte und von den Arzneimittelzulassungsbehörden akzeptierte klinische Endpunkte existieren für die iAMD bislang nicht [1], weshalb die MACUSTAR Studie hier ansetzt.

PROJEKTFINANZIERUNG UND -ORGANISATION

MACUSTAR wird von der European Union Innovative Medicines Initiative 2 (IMI2), der weltweit größten Kooperation öffentlicher und privater Partner in den Lebenswissenschaften, mit mehr als 16 Millionen Euro gefördert. Dabei erfolgt die Finanzierung zu gleichen Teilen durch die Europäische Kommission und die pharmazeutische Industrie (vertreten durch die European Federation of Pharmaceutical Industries and Associations, EFPIA). Am MACUSTAR-Konsortium sind unter der Koordination der Universitäts-Augenklinik Bonn acht weitere Einrichtungen (AIBILI – Associação Para Investigação Biomedica e Inovação em Luz e Imagem, City University of London, ECRIN – European Clinical Research Infrastructure Network, Fondation Voir Et Entendre, Stichting Katholieke

Universiteit Nijmegen, the University of Sheffield, University College London, Moorfields Eye Hospital London) und vier Firmen aus der Pharma-/ Medizingeräteindustrie (Bayer AG, Carl Zeiss Meditec AG, F. Hoffmann-La Roche AG, Novartis Pharma AG) beteiligt. Das Forschungsprojekt wird an insgesamt 20 klinischen Studienzentren in sieben europäischen Ländern durchgeführt, darunter auch die Universitätsaugenklinik Bonn. [2]

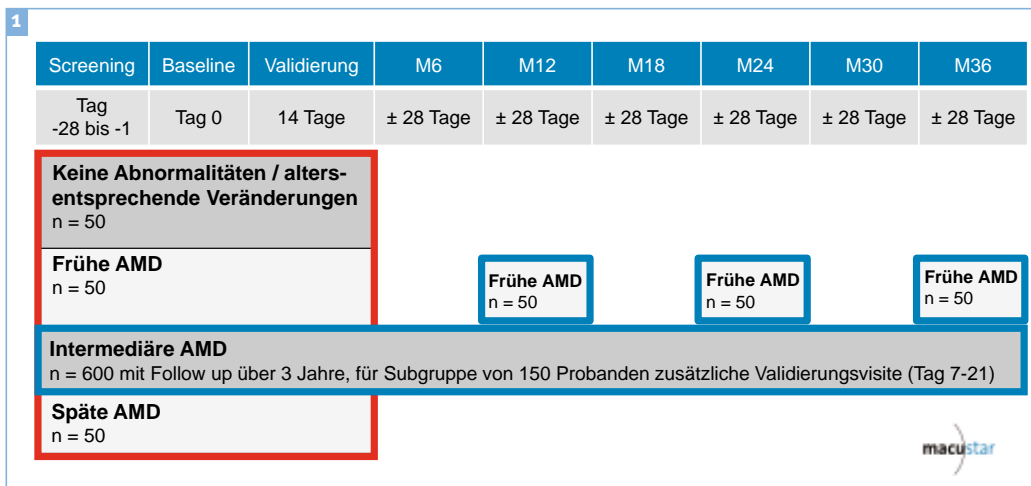
STUDIENDESIGN UND -ZIELE

MACUSTAR ist eine Beobachtungsstudie mit einem Querschnitts- und einen Längsschnittteil zur Verlaufsbeobachtung von insgesamt 750 Patienten, davon 600 iAMD-Patienten über 3 Jahre. Die MACUSTAR Studie hat folgende Hauptziele:

1. Beschreibung der Sehfunktion bei iAMD im Vergleich zu anderen AMD-Stadien auf Basis der Beckmann-Klassifikation [3]
2. Identifizierung von Kandidaten-Endpunkten durch Beschreibung des natürlichen Verlaufs der Sehbeeinträchtigung durch iAMD über einen Beobachtungszeitraum von drei Jahren (**Abb. 1**)
3. Klinische Validierung von Endpunkten für zukünftige Therapiestudien der iAMD basierend auf den Studiendaten

Genauere Details über die durchgeführten Untersuchungen wurden kürzlich publiziert [4]. Ferner wurde bereits ein erstes wissenschaftliches Beratungsverfahren für die Qualifizierung von Biomarkern mit der European Medicines Agency (EMA), der US Food and Drug Administration (US FDA) und dem National Institute for Health and Care Excellence (NICE) durchgeführt und die erhaltenen Anmerkungen implementiert. Als erster Schritt des europäischen Verfahrens zur Biomarker Qualifizierung hat die EMA das MACUSTAR Projekt unterstützt. [5]



**Abbildung 1**

■ Design der MACUSTAR Studie. MACUSTAR beinhaltet einen Teil mit Querschnittsuntersuchungen (roter Kasten) für die teilnehmenden 300 Probanden sowie einen Längsschnittteil (blaue Kästen) mit bis zu 9 geplanten Visiten über 3 Jahre für 650 Probanden.

ENDPUNKTE

In der MACUSTAR Studie werden folgende funktionelle Tests evaluiert, die auf die Bestimmung der Funktionsdefizite bei iAMD Patienten abzielen: skotopische Mikroperimetrie, Messung der Dunkeladaptation, Visusbestimmung (einschließlich ergänzender Tests der Sehschärfe unter eingeschränkten Lichtbedingungen, mittels der sogenannten Moorfields Acuity Charts, Kontrastsensitivität), Performance-Tests (Lesegeschwindigkeit, Navigationsvermögen unter standardisierten Laborbedingung, die Umweltsituationen nachahmen).

Zur Untersuchung der morphologischen Endpunkte werden zahlreiche hochauflösende und innovative Bildgebungsmodalitäten erfasst: Farbfundusfotografie, Spectral-Domain-OCT, konfokale Scanning Laser Ophthalmoskopie inkl. Autofluoreszenz, quantitative Autofluoreszenz, OCT-Angiographie, Swept Source-OCT, adaptive Optik, Fluoreszein-Angiographie bei klinischer Indikation.

Die unabhängige Auswertung der Bilddaten wird am zentralen Reading Center (GRADE Reading Center, Bonn) durchgeführt. Zur Steigerung der Effizienz der Auswertung des Bildmaterials für zukünftige klinische Studien werden zusätzlich automatisierte und semiautomatisierte Methoden der Bildauswertung entwickelt und validiert.

Weiterhin werden Patient Reported Outcomes (PROs) als Endpunkte untersucht. An der Universitätsaugenklinik Bonn wurde für die MACUSTAR Studie ein neuer Fragebogen (VILL, Vision Impair-

ment in Low Luminance) zur Quantifizierung der spezifischen Einschränkungen bei iAMD Patienten entwickelt. Zusätzlich wird zur Bewertung des Gesundheitszustands der Patienten der EQ-5D-5L (EuroQol Research Foundation) eingesetzt.

BEWERTUNG UND AUSBLICK

Die MACUSTAR Studie bietet die Möglichkeit, die funktionellen, strukturellen und Patienten-berichteten Defizite im Verlauf einer iAMD über drei Jahre zuverlässig zu detektieren und sensitive neue Endpunkte bei iAMD zu charakterisieren und zu validieren. Die Verfügbarkeit solcher neuen validierten Endpunkte wird durch ihre Verwendung in Therapiestudien zu neuen Behandlungsoptionen für iAMD führen.

**Abbildung 2**

■ Repräsentatives Beispiel einer Farbfundusfotografie eines Patienten mit intermediärer AMD.

LITERATUR

1. F.G. Holz, E.C. Strauss, S. Schmitz-Valckenberg et al., »Geographic atrophy: clinical features and potential therapeutic approaches,« *Ophthalmology*, vol. 121, no. 5, pp. 1079–1091, 2014.
2. F.G. Holz, J.H. Terheyden, R.P. Finger, S. Schmitz-Valckenberg, H. Agostini, C. Dahlke, L. Kuehlewein, G.E. Lang, D. Pauleikhoff, A. Wolf, M.K. Boettger, U.F.O. Luhmann, F. Asmus, »MACUSTAR: Entwicklung und klinische Validierung von funktionellen, strukturellen und Patienten-berichteten Endpunkten bei intermediärer altersabhängiger Makuladegeneration,« *Ophthalmologie*, in preparation.
3. Ferris, F.L., 3rd, C.P. Wilkinson, A. Bird et al., »Clinical classification of age-related macular degeneration,« *Ophthalmology*, vol. 120, no. 4, pp. 844–851, 2013.
4. R.P. Finger, S. Schmitz-Valckenberg, M. Schmid et al., »MACUSTAR: Development and Clinical Validation of Functional, Structural, and Patient-Reported Endpoints in Intermediate Age-Related Macular Degeneration,« *Ophthalmologica*, pp. 1–12, 2018.
5. European Medicines Agency, »Letter of support for intermediate Age Related Macular Degeneration (AMD) biomarker and novel clinical endpoint development,« 2019, https://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Other/2018/02/WC500244133.pdf.

Finanzierung/Interessenskonflikte:

Dieses Projekt wird vom Innovative Medicines Initiative 2 Joint Undertaking finanziell unterstützt (Grant Agreement Nr. 116076). Dieses Programm erhält Unterstützung vom Forschungs- und Innovationsprogramm Horizon 2020 der Europäischen Union und EFPIA.

A. Lüning: keine Interessenskonflikte

J. H. Terheyden: Unterstützung von Forschungsprojekten durch Zeiss Meditec

R. P. Finger: Beratung und Vortragshonorare von Bayer, Novartis, Santen, Opthea, Novilion, Retinal Implant, Oxford Innovation, Inositec, Santhera

S. Schmitz-Valckenberg: Unterstützung von Forschungsprojekten und klinischen Studien durch Alcon/Novartis, Allergan, Bayer, Bioeq/Formycon, Centervue, Genentech/Roche, Heidelberg Engineering, Optos, Topcon, ZeissMeditec; Beratung, Honorare, Reisekosten: Alcon/Novartis, Bayer, Genentech/Roche, Zeiss Meditec

F. Asmus: Angestellter der Bayer AG, Pharmaceuticals.

F. G. Holz: Forschungsförderung und Berater für Genentech/Roche, Bayer, Böhlinger-Ingelheim, Novartis, Allergan, Heidelberg Engineering; Berater für: Apellis, LIN Bioscience; Forschungsförderung von Nightstar, Centervue, Optos, Alcon; Berater für Avalanche, Johnson & Johnson, Ophthotech

Haftungsausschluss:

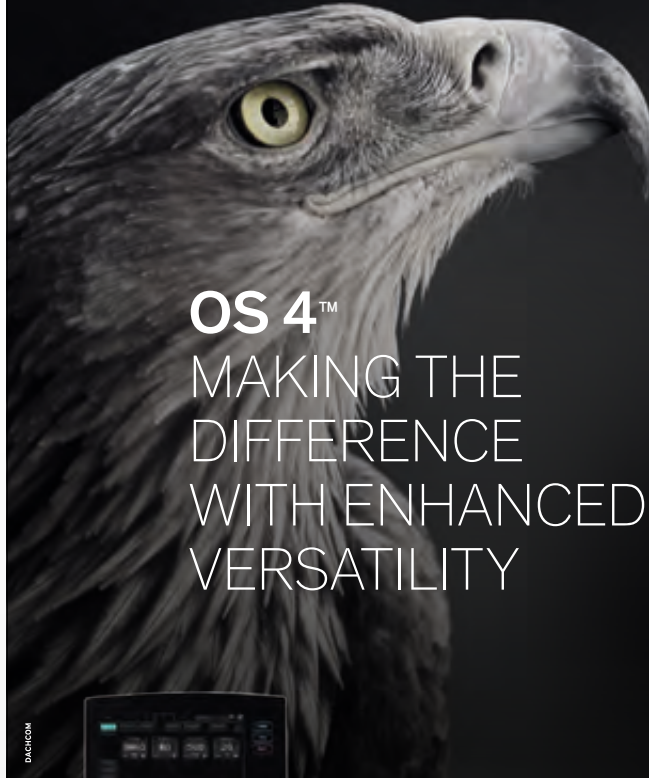
Der Inhalt dieses Beitrages spiegelt die Meinung des Autors wider. Weder die IMI noch die Europäische Union oder EFPIA übernehmen Verantwortung für den Gebrauch der darin enthaltenen Informationen.

KONTAKT



Prof. Dr. med. Frank G. Holz
 Universitäts-Augenklinik Bonn
 Ernst-Abbe-Str. 2
 53127 Bonn
 Tel. +49 (0)228 / 287-15647
 Fax +49 (0)228 / 287-15603
 Frank.Holz@ukbonn.de

oertli[®]
SWITZERLAND



OS 4™
MAKING THE
DIFFERENCE
WITH ENHANCED
VERSATILITY

04/2010/04



**Augenchirurgie auf
höchstem Niveau**

Die OS 4 von Oertli ist die leistungsstarke All-in-One-Plattform für die Katarakt-, Vitrektomie- und Glaukom-Chirurgie. Als vielfältiges und anwenderfreundliches OP-Gerät nutzt das OS 4 die Gesetze der Physik und Fluidik optimal - für eine noch sichere, einfachere und effizientere Augenchirurgie.

**Oertli Instrumente
Deutschland GmbH**
82110 Germering
T +49 89 5500 7333

EYE SURGERY. SWISS MADE.

OCT- basierte tomografische Vermessung von Hornhautspendergewebe zur verbesserten Transplantatauswahl und Erkennung von Vorerkrankungen

STEPHANIE MÄURER¹, LOIC HAMON², ADRIEN QUINTIN², PRIV.-DOZ. DR. RER. BIOL. HUM. DIPL.-ING. TIMO EPPIG^{1,3}, PROF. DR. MED. BERTHOLD SEITZ², UNIV.-PROF. DR. DIPL.-ING. ACHIM LANGENBUCHER¹

1 Institut für Experimentelle Ophthalmologie, Universität des Saarlandes, Homburg (Saar)

2 Klinik für Augenheilkunde, Universitätsklinikum des Saarlandes UKS, Homburg (Saar)

3 AMIPLANT GmbH, Schnaittach

Trotz einer bemerkenswerten Anzahl von mehr als 8000 Hornhauttransplantationen (Keratoplastiken) im Jahr 2017 (laut Deutschem Keratoplastik-Register) wird die Nachfrage nach Transplantaten bei Weitem nicht gestillt. Die Ursache liegt in der sinkenden Spenderbereitschaft bei steigender Operationsanzahl. Neben der Aufklärung der Gesellschaft soll durch die gezielte Anwendung von pathologischen Hornhautspendergeweben die Anzahl nutzbarer Spendergewebe erhöht werden. Heute werden entnommene Spenderhornhäute subjektiv an der Spaltlampe auf Narben und andere Gewebeveränderungen untersucht. Dabei können kleinste Veränderungen wie ein verwachsener Flap nach LASIK, eine vorausgegangene photorefraktive Keratektomie (PRK) oder eine leichte Form des Keratokonus, übersehen werden, wenn sie nicht anamnestisch festgestellt wurden. Ein objektives Screening der Spenderhornhäute würde zum einen die Wahrscheinlichkeit für Fehltransplantation verringern. Zum anderen könnten pathologische Hornhäute gezielt bestimmten Arten von Keratoplastik zugewiesen werden. Bisher wurde ein objektives Verfahren nur direkt am Spender oder am entnommenen Bulbus in Form einer Keratometrie oder mithilfe des Scheimpflug-Prinzip durchgeführt [1–4].

Durch die Entwicklung einer Methode, mit der Spenderhornhäute objektiv und kontaktfrei in der Kulturflasche tomografisch vermessen werden können, wurde eine bessere Voruntersuchung des Transplantatgewebes ermöglicht [5–7].

MATERIAL UND METHODEN

Die Methode basiert auf der Vermessung der Spendergewebe mit dem klinisch eingesetzten Vorderaugenabschnitts-OCT Casia 2 (Tomey Corp., Nagoya, Japan). Durch eine Eindringtiefe von bis zu 13 mm und einer hohen, axialen Auflösung von 10 µm können Spenderhornhäute innerhalb der Zellkulturflasche untersucht werden. Dazu wird die Kulturflasche in einer Halterung auf der Kinnstütze des OCTs positioniert und das Gewebe mit einem Rasterscan durch die Rückfläche der Spenderhornhaut vermessen. Die aufgenommenen Bilddaten erzeugen einen Volumendatensatz (**Abb. 1a**). Bisher wurden 414 zur Transplantation freigegebene Spenderhornhäute vermessen. Zur Verfügung gestellt wurden diese vom Klaus Faber Zentrum für Hornhauterkrankungen inkl. LIONS Hornhautbank Saar-Lor-Lux Trier/Westpfalz.

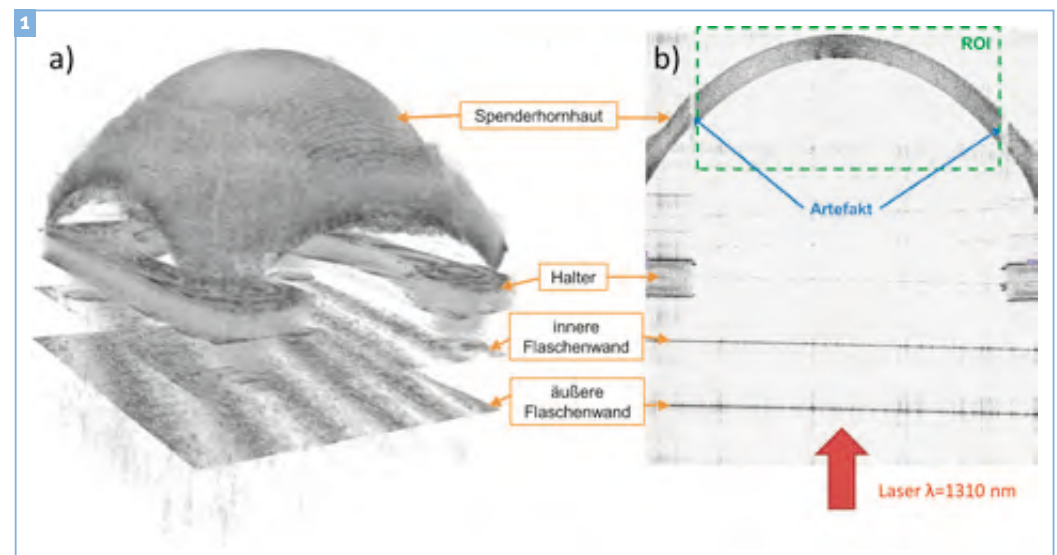


Abbildung 1

a) 3D-Darstellung der Spenderhornhaut mit Halter und Grenzflächen der Zellkulturflasche.

b) Zentraler Frame aus dem Volumendatensatz mit eingekreister Region of Interest (ROI) zum Ausschluss der Artefakte durch den Halter.

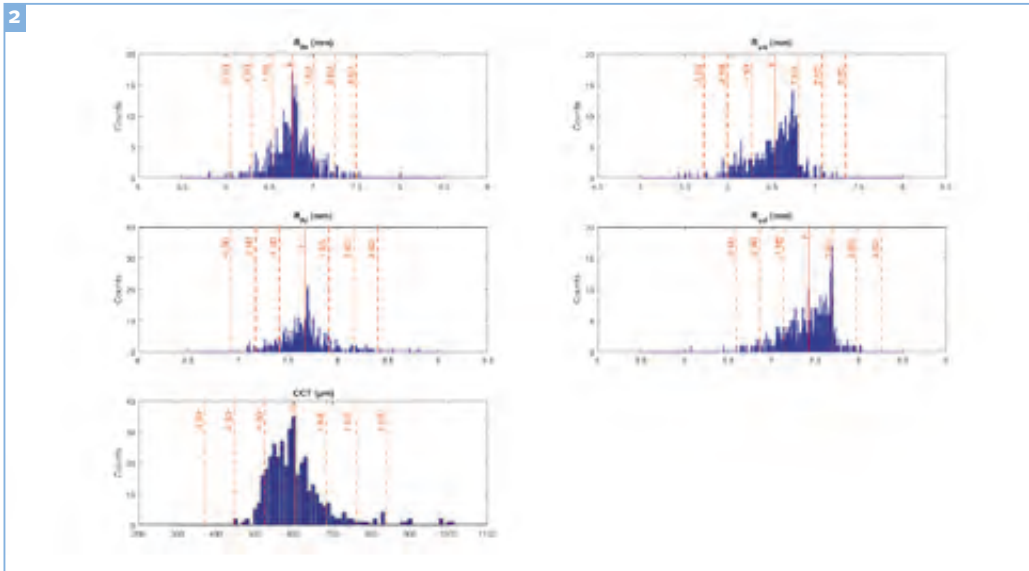


Abbildung 2

■ Häufigkeitsverteilung für Krümmungsradien der Vorder- und Hinterfläche ($R_{fV,H}$: flacher Radius, $R_{sV,H}$: steiler Radius) und Hornhautdicke (CCT) mit Mittelwert (μ) und ein- bis dreifacher Standardabweichung (SD)

Des Weiteren wurden 29 Patienten mit diagnostizierten Hornhauterkrankungen (Hornhautdystrophien, Wölbungsanomalien, Narben, Salzmann'sche noduläre Degeneration, Akanthamöbenkeratitis, Pelluzide marginale Degeneration) oder Zustand nach refraktiver Hornhautchirurgie untersucht, bei denen bereits eine Routinemessung am Casia 2 durchgeführt worden war.

Die Daten der Patientenmessungen wurden ebenfalls mithilfe des beschriebenen Matlab-Programmes ausgewertet. Dabei erfolgte die Bestimmung der Dicke über die gesamte Hornhaut und die Markierung von Pixeln mit erhöhtem lokalen Kontrast zur Umgebung. Es sollte anhand dieser Messungen geprüft werden, ob Pathologien, Abnormitäten oder Situationen nach refraktiver Chirurgie durch den Algorithmus erkannt werden können.

DATENANALYSE

Nach dem Einlesen der Rohdaten der Spenderhornhäute in Matlab (The MathWorks Inc., Natick, USA) wurden zunächst Artefakte durch eine Region of Interest (ROI) entfernt (**Abb. 1b**) und das Hintergrundrauschen mithilfe von Median Filtern eliminiert. Nach einer Kontrastanpassung und der Reduktion der Helligkeit des Zentralreflexes wurden mithilfe einer Tophat-Transformation entstandene Bildlücken in der Hornhaut gefüllt. Anschließend wurden durch eine Canny- Kantendetektion die Vorder- und Rückfläche der Hornhaut bestimmt. Im Anschluss an diese Vorverarbeitung erfolgte iterativ ein sphäro-zylindrisches Fitmodell an der Rückfläche. Mittels Raytracing wurde die Vorderflächengeometrie unter Berücksichtigung der Rückfläche berechnet, an welche ebenfalls das sphäro-zylindrische Flächenmodell angenähert wurde. Aus den beiden Fits konnten die Krümmungsradien sowie die zentrale Hornhautdicke aus dem Abstand der Vorder- und Rückfläche am Apex bestimmt werden.

ERGEBNISSE

Die Mittelwerte und Standardabweichungen der steilen/flachen Krümmungsradien der Vorder- und Hinterfläche ($R_{s,fV}$, $R_{s,fH}$) sowie die der zentralen Hornhautdicke sind in Tabelle 1 gesammelt. Zusätzlich zeigen **Tabelle 1** und **Abbildung 2** die Anzahl der abnormen Hornhautspendergewebe (mit Abweichungen über ± 1 bis ± 3 Standardabweichungen hinaus).

Anhand der Anordnung der Markierungen bei den Patientenhornhäuten können die Position und das Ausmaß der Erkrankungen oder der refraktiven Chirurgie durch den Arzt bestimmt werden.

SCHLUSSFOLGERUNGEN

Mithilfe der entwickelten Methode können Hornhautspendergewebe kontaktfrei und unter sterilen Bedingungen in der Kulturflasche tomografisch

Tabelle 1

■ Mittelwerte (μ) und Standardabweichungen (SD) der steilen/flachen Krümmungsradien der Vorder- und Hinterfläche ($R_{s,IV}$, $R_{s,IIH}$) und der zentralen Hornhautdicke (CCT) sowie Anzahl der Hornhäute mit Abweichungen über ± 1 , ± 2 und ± 3 SD hinaus

Parameter		μ / SD	Anzahl der HH mit Abweichung über ... hinaus		
			± 1 SD	± 2 SD	± 3 SD
Hinterfläche	R_{FH} (mm)	6,77 \pm 0,24	185 (44,7%)	40 (9,7%)	8 (1,9%)
	R_{SH} (mm)	6,54 \pm 0,27			
Vorderfläche	R_{IV} (mm)	7,66 \pm 0,25	177 (42,8%)	45 (10,9%)	6 (1,5%)
	R_{SV} (mm)	7,42 \pm 0,28			
CCT (μ m)		603,7 \pm 78,74	73 (17,6%)	7 (4,1%)	7 (1,7%)

DANKSAGUNG

Die Autoren bedanken sich für die finanzielle Unterstützung der Dr. Rolf M. Schwiete Stiftung und die Bereitstellung der Spenderhornhäute durch das Klaus Faber Zentrum für Hornhauterkrankungen inkl. LIONS Hornhautbank Saar-Lor-Lux Trier/Westpfalz.

vermessen werden. Neben der Bestimmung von Krümmungsradien und Pachymetrie konnte anhand von Patientenmessungen gezeigt werden, dass Erkrankungen der Hornhaut durch das Verfahren gekennzeichnet und durch einen Arzt einer Pathologie zugeordnet werden können. Durch diese Technik wurden bereits mehrere stromale Narben, Lipideinlagerungen und ein Keratokonus bei Hornhautspendergewebe entdeckt, die an der Spaltlampe zunächst übersehen wurden. Diese Spendergewebe wurden für eine perforierende Keratoplastik ausgeschlossen, konnten jedoch zum Teil für eine lamelläre Transplantation (DMEK) verwendet werden. Anhand dieser neuen Methode könnte der Anteil an Spendermaterial erhöht und somit der Bedarf an Transplantaten besser gedeckt werden.

LITERATUR

1. Stoiber J., Ruckhofer J., Hitzl W., Grabner G. (2001) Evaluation of donor tissue with a new videokeratoscope; The Keratron Scout. *Cornea* 20: 859–863
2. Terry M. A., Ousley P. J. (1999) New screening methods for donor eye-bank eyes. *Cornea* 18: 430–436
3. Ousley P. J., Terry M. A. (2002) Use of a portable topography machine for screening donor tissue for prior refractive surgery. *Cornea* 21: 745–750
4. Ousley P. J., Terry M. A. (2002) Objective screening methods for prior refractive surgery in donor tissue. *Cornea* 21: 181–188
5. Janunts E., Langenbacher A., Seitz B. (2016) In vitro corneal tomography of donor cornea using anterior segment OCT. *Cornea* 35: 647–653.
6. Damian A., Seitz B., Langenbacher A., Eppig T. (2017) Optical coherence tomography-based topography determination of corneal grafts in eye bank cultivation. *J Biomed Opt* 22: 16001.
7. Mäurer S., Asi F., Rawer A., Damian A., Seitz B., Langenbacher A., Eppig T. (2019) Konzept zur 3-D-Vermessung von Hornhautspendergewebe mithilfe eines klinischen OCT. *Ophthalmologie* 116: 640–646.

KONTAKT



Stephanie Mäurer, MSc

Institut für Experimentelle Ophthalmologie
 Universität des Saarlandes
 Kirrberger Str. 100, Gebäude 22
 66421 Homburg/Saar
 Tel. 06841 / 16-22327
 Fax 06841 / 16-22329
 E-Mail: stephanie.maeurer@uks.eu

Comfort Shield® Augentropfen: die Molmasse der Hyaluronsäure macht den Unterschied

Entgegen der gängigen Lehrmeinung wird die Verdunstungsrate des Tränenfilms nur in geringem Maße durch die Dicke des Lipidfilms bestimmt [1]. Selbst Patienten mit schwerem Trockenem Auge weisen im Tränenmeniskus normale Osmolaritätswerte auf [2]. Es ist zwar klinisch belegt, dass erhöhte Tränenosmolarität Entzündung auslöst; dies erlaubt aber keineswegs den Rückschluss, dass erhöhte Tränenosmolarität die Hauptursache chronischer Entzündungen der Augenoberfläche ist. Bekannt ist andererseits, dass nur 1 Minute Augenreiben eine erhöhte Konzentration der Entzündungsmarker MMP-13, IL-6 und TNF- α zur Folge hat. Juckende Augen und chronisches Augenreiben, Frühsommer-Keratoconjunctivitis und Atopie sind allgemein anerkannte Risikofaktoren für Keratokonus. Die Rolle von erhöhter Reibung zwischen Lidrand und Epithel als Ursache von Erkrankungen der Augenoberfläche rückt daher zunehmend in den Fokus [3]. Als Ursachen kommen eine Störung der viskoelastischen Eigenschaften der mucoviskosen Phase des Tränenfilms, eine Veränderung der Glykokalyx der apikalen Epithelzellen oder anatomische Veränderungen der Augenoberfläche in Betracht.

Hyaluronsäure (HA) ist eine der Hauptkomponenten der extrazellulären Matrix, die entscheidend zu Differenzierung, Zellmigration und Wundheilung der Epithelien beiträgt. HA unterliegt dabei einem ständigen Metabolismus und ist molmassenabhängig am

Wundheilungsprozess beteiligt: während HA hoher Molmasse entzündungshemmende und immunsuppressive Eigenschaften besitzt, ist HA niedriger Molmasse ein ausgeprägt proinflammatorisches Molekül [4]. Nur HA hoher Molmasse hat daher das Potential, chronisch entzündete Gewebe der Homeostase näherzubringen [5]. Von HA hoher, aber nicht niedriger Molmasse konnte auch gezeigt werden, dass es die Aktivität nociceptiver, afferenter Nervenrezeptoren unterdrückt [6]. In Augentropfen gelöst bewirkt HA, dass deren viskoelastischen, reibungsmindernden Eigenschaften umso ausgeprägter sind, je höher die HA-Molmasse ist [7]. HA hat eine hohe Wasserbindungskapazität, die ebenfalls umso größer ist, je höher die Molmasse ist.

Die in Comfort Shield® enthaltene HA hat die höchste Molmasse (> 3 MDa) aller derzeit weltweit kommerziell erhältlichen Augentropfen. Comfort Shield® Augentropfen haben sich daher nicht nur in der Behandlung trockener Augen und nach operativen Eingriffen bewährt, sondern auch bei der Behandlung wiederkehrender Epithelerosionen und sogar als Alternative zu autologen Serumaugentropfen [2]. An Patienten mit schwerem Trockenem Auge konnte gezeigt werden, dass sich unter der Behandlung mit Comfort Shield® Augentropfen über einen Zeitraum von acht Wochen die Symptome des Trockenem Auge (OSDI-Index) signifikant verbessern.

■ Literatur:

1. King-Smith, P. E., et al., Tear film images and breakup analyzed using fluorescent quenching. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2013. 54(9): p. 6003–11.
2. Beck, R., et al., Hyaluronic Acid as an Alternative to Autologous Human Serum Eye Drops: Initial Clinical Results with High-Molecular-Weight Hyaluronic Acid Eye Drops. *Case Rep Ophthalmol*, 2019. 10: p. 244–255.
3. van Setten, G. B., W. Mueller-Lierheim, and C. Baudouin, Dry Eye Etiology: Focus on Friction. *Klin Monatsbl Augenheilkd*, (EFirst).
4. Litwiniuk, M., et al., Hyaluronic Acid in Inflammation and Tissue Regeneration. *Wounds*, 2016. 28(3): p. 78–88.
5. Aya, K. L. and R. Stern, Hyaluronan in wound healing: rediscovering a major player. *Wound Repair Regen*, 2014. 22(5): p. 579–93.
6. Gomis, A., et al., Effects of different molecular weight elastoviscous hyaluronan solutions on articular nociceptive afferents. *Arthritis Rheum*, 2004. 50(1): p. 314–26.
7. Bothner H., T. W.a.O.W., Rheological Characterization of Tear Substitutes. *Drug Dev Ind Pharm*, 1990. 16(5): p. 755–768.

Comfort Shield® Erste Wahl bei Erkrankungen der Augenoberfläche.

- Schützt optimal gegen Reibung
- Wirkt der chronischen Entzündung entgegen
- Verringert signifikant die Symptome von Erkrankungen der Augenoberfläche
- Mindert Juckreiz, Schmerzen und übermäßigen Tränenfluss
- Fördert die Epithelheilung

www.icom-medical.de



Überlegene Patientenzufriedenheit
Hilft wo andere Tränenersatzmittel versagen



Neurotrophe Keratopathie: Analyse der Kornealen Nervenregeneration in vitro versus in vivo

DR. RER. NAT. SONJA MERTSCH¹, PROF DR. DR. STEFAN SCHRADER¹

**1 Universitätsklinik
für Augenheilkunde**
PIUS Hospital
Oldenburg
Labor für
Experimentelle
Ophthalmologie
Carl von Ossietzky
Universität Oldenburg

Die neurotrophe Keratopathie (NK) ist eine degenerative Hornhauterkrankung, welche auf einer verminderten Innervation der Kornea beruht. Die Ursachen der gestörten Innervation sind vielfältig. Sie reichen von der Herpeskeratitis über neurochirurgische Eingriffe entlang des *N. trigeminus*, chirurgische Eingriffe an der Kornea bis hin zu systemischen Erkrankungen wie Diabetes mellitus. In schweren Fällen kann eine NK zu Epitheldefekten, Ulzera und Hornhautperforationen und damit zur Erblindung führen [1, 2]. Bislang gilt die NK mit einer geschätzten Prävalenz von 5 auf 10.000 als seltene Erkrankung [3]. Der Schwerpunkt bisherige Therapien war aufgrund fehlenden kurativen Therapieoptionen eine intensive Oberflächenbenetzung und Pflege mit Tränenersatzmitteln sowie in schweren Fällen eine Abdeckung mit Amnionmembran oder Bindehaut [4]. Die zurzeit einzige kausale Therapieoption ist die Behandlung mit dem rekombinanten Wachstumsfaktor NGF (Cenegermin). Neben den sehr hohen Kosten für diese Therapie ist die klinische Erfahrung mit Cenegermin aufgrund der Neuartigkeit bisher begrenzt. Der Bedarf an neuen Therapieformen für die NK ist daher weiterhin groß.

Ähnliche wie die NK lange Zeit nur am Rande der ophthalmologischen Diagnostik eine Rolle spielte, so spielte die Erforschung der kornealen Nervenregeneration ebenfalls lange kaum eine Rolle in der Wissenschaft. Die Anzahl der Veröffentlichungen auf diesem Fachgebiet haben sich in den letzten 4 Jahren jedoch im direkten Vergleich mit den letzten 20 Jahren verdoppelt.

Verbesserte bildgebende Verfahren bei Patienten und im Labor (z.B. durch konfokale Mikroskopie

mit dem Heidelberg Retina Tomograph mit Rostock Cornea Modul oder der Light-sheet-Mikroskopie) tragen dazu bei, die Forschung entscheidend voran zu treiben um neue Therapeutika zu entwickeln.

Bisherige Studien zur Nervenregeneration wurden entweder in der Zellkultur in 2D Modellen durchgeführt oder in Tiermodellen untersucht. Beide Versuchsmethoden beherbergen einige große Nachteile (zum Beispiel die Gefahr von Artefakten beim 2D Wachstum der Neurone, das Fehlen der Umgebungszellen, der hohe Zeit- und Kostenaufwand bei Tiermodellen). Unsere Arbeitsgruppe hat daher 3D Modelle entwickelt, welche es den Neuronen ermöglicht in einer den natürlichen Gegebenheiten angepassten Zell-Umgebung zu wachsen. Als Grundkomponente wurden Hydrogele eingesetzt, dessen Hauptbestandteil Kollagen 1 ist, welches aufgrund der hohen Biokompatibilität und der geringen Immunogenität ein ideales Material darstellt [5, 6].

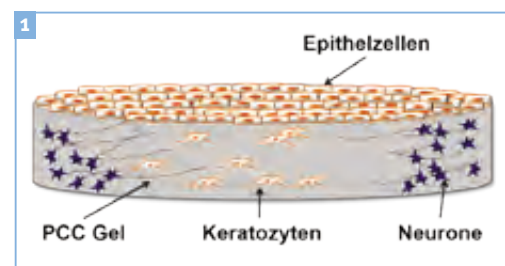
Zusätzlich konnte unsere Arbeitsgruppe in verschiedenen Vorarbeiten bereits die gute Eignung dieses plastisch komprimierten Kollagen Gels (PCC) als Augenoberflächenersatzgewebe in Tiermodellen, sowie in einer first-in-man Studie am Patienten zeigen [7–12].

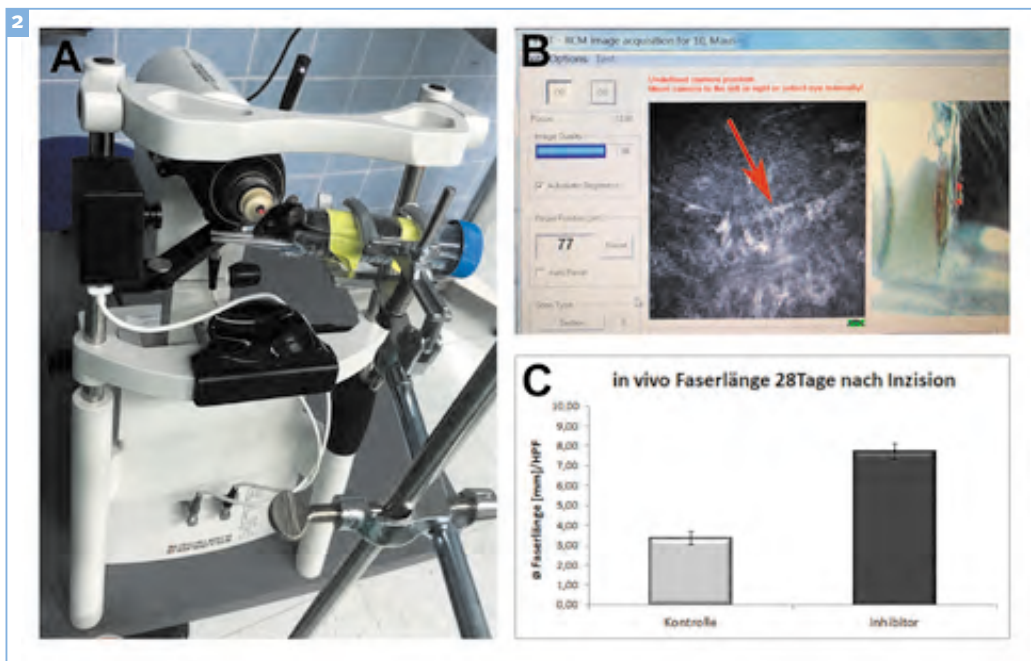
Das PCC Gel wurde daher als Grundlage für die 3D Modelle genutzt. Als Neurone wurden sowohl Hinterwurzelganglienzellen als auch Trigeminalganglienzellen von Mäusen gewonnen. Diese wurden direkt nach Extraktion in die Gele verbracht. Zur weiteren Anpassung an die *in vivo* Situation, wurden isolierte humane Keratozyten in die Gele gemischt. Weiterhin wurden humane limbale epitheliale Stammzellen (LESC) auf die Oberseite der Konstrukte aufgebracht, um auch die wichtigen Nerven-Epithel Interaktionen simulieren zu können (**Abb. 1**). Es zeigte sich hier, dass die isolierten Neurone bis zu 28 Tage in den 3D Modellen wachsen und ein in-vivo-ähnliches neuronales Netzwerk aufbauen. Im direkten Vergleich zu den herkömmlich genutzten 2D Modellen zeigt sich lediglich ein verzögertes Auswachsen der Fasern von 2–3 Tagen, was wahrscheinlich auf die Dichte und Beschaffenheit des Kollagens zurückzuführen ist. Zusätzlich

Abbildung 1

■ Schematische Darstellung des 3D Modells mit humanen limbalen epithelialen Stammzellen (LESC) auf der Oberseite, humanen Keratozyten in der Mitte, sowie murinen Neurone an der Seite des Gels.

[Mit freundl. Genehmigung, © Dr. S. Mertsch. Alle Rechte vorbehalten]



**Abbildung 2**

■ Versuchsanordnung zur Messung des sub-basalen Nervenplexus mittels HRT III mit RCM in Mäusen (A). Die Inzisionsstelle zeigt sich auch nach 28 Tage deutlich im Stroma (B, roter Pfeil). Die Messung der Gesamtlänge der Fasern pro Bild ergab eine signifikante Steigerung der Faserlänge nach Inhibitorgabe (C). [Mit freundl. Genehmigung, © Dr. S. Mertsch. Alle Rechte vorbehalten]

können die Neurone mittels Substanzgabe von außen beeinflusst werden. Dies hat unsere Arbeitsgruppe anhand der Gabe von einem Rho Kinase Inhibitor und anschließender mRNA Messung mittels der quantitativen real-time PCR gezeigt. Sowohl beide Rho Kinasen als auch Signalweg-assoziierte Moleküle (LIMK, cdc42, GAP-43) waren signifikant reduziert. Die Längenmessung der auswachsenden Fasern zeigte im 3D Modell eine signifikante Steigerung der Gesamtlänge der Fasern pro Gel unter Rho Kinase Inhibition im Vergleich zu unbehandelten Kontrollen ($5,17 \pm 1,10 \mu\text{m}$ Inhibitor, $1,61 \pm 0,21 \text{mm}$ Kontrolle). Das Wachstum der Neurone auf dem Gel zeigte eine vergleichbare Regulation der Länge nach Inhibitor-Zugabe. Hier zeigte sich eine Gesamtlänge von $6,82 \pm 0,04 \text{mm}$ bei Inhibitorgabe und $3,42 \pm 0,84 \text{mm}$ bei der entsprechenden Kontrolle. Dies zeigt, dass die Neurone sowohl auf dem PCC Gel als auch in dem PCC Gel vergleichend auf die Gabe des Inhibitors reagieren und dass das PCC Gel als Modellsystem zur Austestung verschiedener Substanzen geeignet ist. Weiterhin konnten wir mit dem Modell den Einfluss des Rho Kinase Inhibitors auf das Auswachsen der Neurone aufzeigen, was ein erster Hinweis auf die Beteiligung von Rho Kinase an der kornealen Nervenregeneration darstellt.

Um die Ergebnisse mit den herkömmlich genutzten Methoden zu validieren, wurden neben weiteren

2D Untersuchungen (Einzelzell-Assay, Wundheilungsassay, Zelltoxizität nach Gabe verschiedener Konzentrationen des Inhibitors) ein Maus-Modell entwickelt. Hierbei wurde einen tiefenregulierten Trepan mit 1,2 mm Durchmesser genutzt um den sub-basalen Nervenplexus in 70 μm Tiefe in der Maus-Kornea gezielt zu verletzen ohne die Maus-Kornea zu durchstoßen. Nach erfolgter Trepanierung wurden die Tiere zweimal täglich mit 10 μl Augentropfen mit Inhibitor in 0,9% NaCl/Glycerin oder lediglich 0,9% NaCl/Glycerin versorgt. Durch Nutzung eines HRT III mit RCM war es möglich das Nervenwachstum in der Kornea wöchentlich an den identischen Tieren zu verfolgen. Es wurden je 20 Bilder je Tier und Messtag ausgewertet und mittels CCMetrix Software vermessen (**Abb. 2**). Nach 14 bzw. 28 Tage wurden die Tiere aus dem Versuch genommen, die Korneas entnommen und mittels der *Fluorescent whole-mount* Methode und β -III-tubulin die Nervenfasern in der Kornea angefärbt. Die Fasern wurden mittels eines konfokalen Mikroskops (Leica SP8) dokumentiert und mit ImageJ ausgewertet. Es zeigte sich, dass es auch nach Inhibitorgabe in dem Mausmodell zu einem verstärkten Nachwachsen der Fasern in der Kornea kommt. Die Gesamtfaserlänge betrug $3366,15 \mu\text{m} \pm 327,33 \mu\text{m}$ bei der Kontrolle und $7729,69 \pm 379,31 \mu\text{m}$ bei Inhibitorgabe nach 28 Tagen Behandlung.

Im direkten Vergleich zeigten sich vergleichbare Effekte im Wachstum der neuronalen Fasern im 3D Modell und im in-vivo-Mausmodell. Das 3D Modell kann bisher eine finale Testung im Tier nicht vollständig ersetzen, da in diesen ersten Modellen die Immunzellen und somit die Reaktion des Immunsystems bisher nicht abgebildet werden. Es bietet jedoch eine schnelle, kostengünstige und reproduzierbare Lösung, um eine hohe Anzahl an verschiedenen Faktoren und gleichzeitig verschiedene Konzentrationen in einer *in-vivo*-ähnlichen Umgebung auszutesten. Weiterhin ermöglicht es den direkten Einfluss der umgebenden Zellen auf das neuronale Wachstum unter Gabe verschiedener Substanzen genauer zu analysieren. Ebenfalls ist die Untersuchungen der Zellen mit verschiedenen Methoden auf mRNA und Proteinebene in dem 3D Modell im Vergleich zu *in vivo* Modellen deutlich vereinfacht. Weiterhin ist es möglich, in den 3D Modellen genetisch veränderte Zellen einzusetzen, was bei *in vivo*-Modellen eine langwierige Zucht der entsprechenden Tiere voraussetzt. Aus unserer Sicht stellen die standardisiert herstellbaren 3D Modelle eine wichtige Alternative zu vielen *in vivo* Versuchen dar und bietet die Möglichkeit eine Vielzahl von Substanzen und Medikamente kostengünstig und zeitsparend auf ihren Einfluss auf die korneale Nervenregeneration zu untersuchen. Die 3D Modelle stellen keinen vollständigen Ersatz von *in vivo* Versuchen dar, jedoch eine wertvolle und sinnvoll Ergänzung. Die Nutzung von Immunzellen und damit die Erhöhung der Komplexität der Modelle muss zukünftig weiter untersucht werden.

LITERATUR

1. Mertsch, S., et al., [Pathogenesis and epidemiology of neurotrophic keratopathy]. *Ophthalmologe*, 2019. 116 (2): p. 109–119.
2. Dua, H.S., et al., Neurotrophic keratopathy. *Prog Retin Eye Res*, 2018. 66: p. 107–131.
3. The definition and classification of dry eye disease: report of the Definition and Classification Subcommittee of the International Dry Eye Workshop (2007). *Ocul Surf*, 2007. 5 (2): p. 75–92.
4. Alder, J., et al., [Current and experimental treatment approaches for neurotrophic keratopathy]. *Ophthalmologe*, 2019. 116 (2): p. 127–137.
5. Levis, H.J., R.A. Brown, and J.T. Daniels, Plastic compressed collagen as a biomimetic substrate for human limbal epithelial cell culture. *Biomaterials*, 2010. 31 (30): p. 7726–37.
6. Levis, H.J., et al., Plastic compressed collagen as a novel carrier for expanded human corneal endothelial cells for transplantation. *PLoS One*, 2012. 7 (11): p. e50993.
7. Witt, J., et al., Evaluation of plastic compressed collagen for conjunctival repair in a rrwit model. *Tissue Eng Part A*, 2018.
8. Schrader, S., J. Witt, and G. Geerling, Plastic compressed collagen transplantation – a new option for corneal surface reconstruction? *Acta Ophthalmol*, 2018. 96 (6): p. e757–e758.
9. Spaniol, K., et al., [New approaches to ocular surface reconstruction beyond the cornea]. *Ophthalmologe*, 2017. 114 (4): p. 307–317.
10. Bachmann, B. O. and S. Schrader, [Biomaterials or Donor Tissue – What is the Future of Tissue Engineering for Cornea Reconstruction?]. *Klin Monbl Augenheilkd*, 2017. 234 (6): p. 758–762.
11. Feng, Y., et al., Review of alternative carrier materials for ocular surface reconstruction. *Curr Eye Res*, 2014. 39 (6): p. 541–52.
12. Drechsler, C.C., et al., Development of a conjunctival tissue substitute on the basis of plastic compressed collagen. *J Tissue Eng Regen Med*, 2017. 11 (3): p. 896–904.

Der Schwerpunkt des klinischen und wissenschaftlichen Interesses von Prof. Schrader liegt im Bereich der Augenoberflächenkrankungen, wobei er sich insbesondere mit dem Bereich Hornhauttransplantation und Augenoberflächenrekonstruktion, sowie der Entwicklung neuer Ansätze zur Augenoberflächen- u. Tränenrüsenregeneration beschäftigt. Prof. Schrader studierte Humanmedizin an der Universität Lübeck, wo er 2005 promovierte. Forschungsaufenthalte führten ihn u.a. an das Moorfields Eye Hospital / UCL Institute of Ophthalmology (London), hier erhielt er 2012 den Titel »Doctor of Philosophy« (PhD) am University College London (UCL). Nach seinem Wechsel an die Universitätsaugenklinik Düsseldorf übernahm Schrader 2012 leitende Funktionen als Oberarzt und habilitierte sich 2013 an der Medizinischen Fakultät der Heinrich-Heine Universität im Fach Augenheilkunde. Im Jahr 2014 erfolgte der Ruf auf die Lichtenberg-Stiftungsprofessur für Regenerative Medizin der Augenoberfläche und Adnexe an der Heinrich-Heine Universität. Es folgte 2014 die Übernahme der Leitung der Lions

Hornhautbank NRW und 2016 die Leitung des klinischen Schwerpunktes Hornhauterkrankungen. Seit dem 01.10.2019 ist Prof. Schrader W3-Professur für Ophthalmologie an der Universität Oldenburg und Direktor der Universitätsklinik für Augenheilkunde am Pius-Hospital Oldenburg.

Prof. Dr. Dr. Stefan Schrader

Universitätsklinik für Augenheilkunde Oldenburg
Labor für Experimentelle Ophthalmologie
Fakultät für Medizin und Gesundheitswissenschaften
Carl von Ossietzky Universität Oldenburg
Carl-von-Ossietzky Str. 9–11, Gebäude W34
26129 Oldenburg



KONTAKT



Dr. rer. nat. Sonja Mertsch leitet seit Dezember 2018 das Labor für Experimentelle Ophthalmologie der Universitätsklinik für Augenheilkunde Oldenburg. Schwerpunkt Ihrer aktuellen Forschung sind Untersuchungen zur Rolle verschiedener Zellsignalkaskaden bei der Regeneration von Hornhautnerven und der Neurotrophen Keratopathie. Darüber hinaus befasst sie sich mit der Rolle von Rho-Kinasen bei verschiedenen ophthalmologischen und neuronalen Erkrankungen. Dr. Mertsch studierte Biologie an der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster und promovierte am Institut für Neuropathologie Münster über molekulare Mechanismen der Tumorzellmigration. Nach einer Postdoktorandenzeit auf dem Gebiet der Plexustumoren war sie bis 2015 als Gruppenleiterin für Glioblastom- und Nervenregenerationsforschung in dem Institut für experimentelle Ophthalmologie der

Universität Münster tätig. Anschließend wechselte Frau Dr. Mertsch als Labor- und Arbeitsgruppenleiterin in die Augenklinik Düsseldorf, Labor für Experimentelle Ophthalmologie, wo Sie bis Ende 2018 tätig war.

Dr. rer. nat. Sonja Mertsch

Universitätsklinik für Augenheilkunde Oldenburg
Labor für Experimentelle Ophthalmologie
Fakultät für Medizin und Gesundheitswissenschaften
Carl von Ossietzky Universität Oldenburg
Carl-von-Ossietzky Str. 9–11, Gebäude W34
26129 Oldenburg
Tel. 0441 / 798 3473
E-Mail: Sonja.Mertsch@uni-oldenburg.de



KONTAKT



Retinale Gentherapie – Herausforderungen und Perspektiven

PROF. DR. STYLIANOS MICHALAKIS¹, MAXIMILIAN-JOACHIM GERHARDT¹

1 Labor für Gentherapie und translationale Forschung

Augenklinik und Poliklinik, Klinikum der Ludwig-Maximilians-Universität München

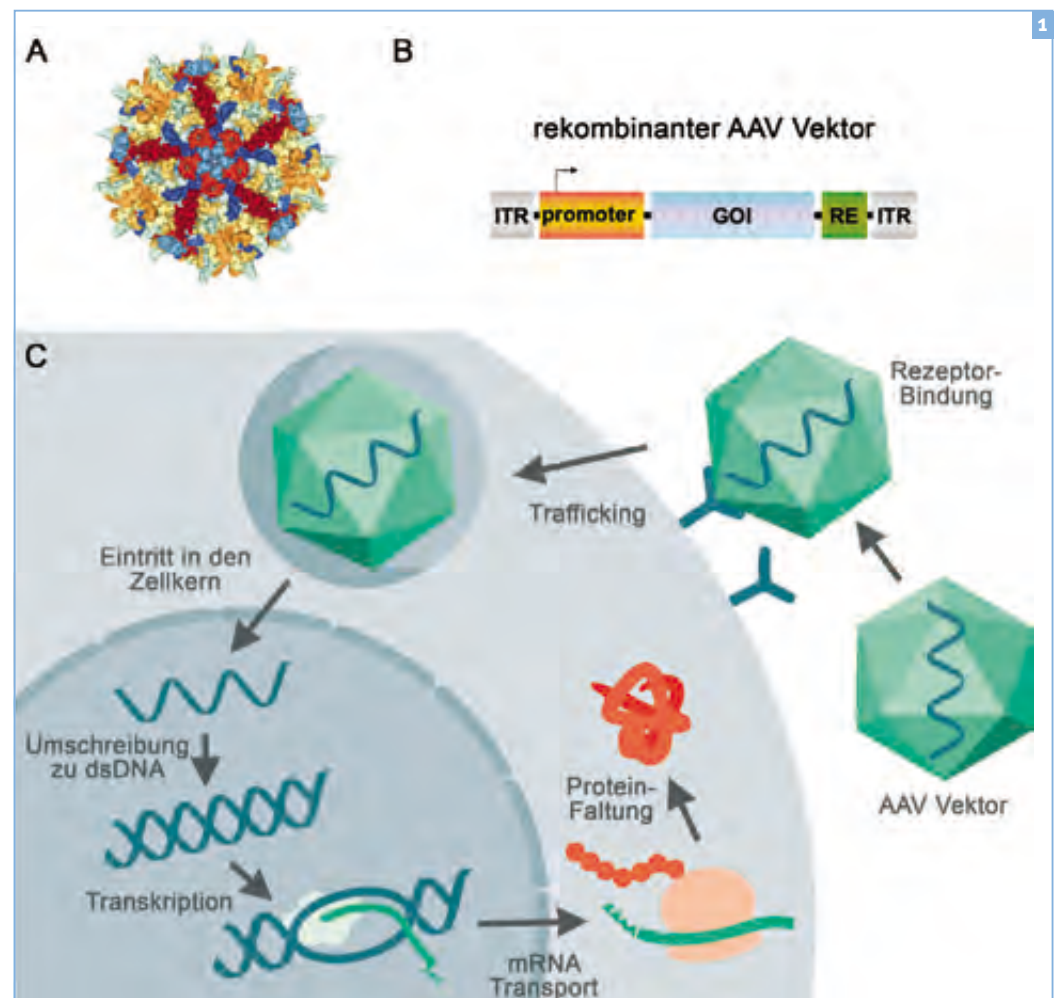
Die Fortschritte der Molekulargenetik in den letzten Jahrzehnten haben einen immensen Wissenszuwachs im Hinblick auf erbliche Augenerkrankungen erbracht. So sind bis heute über 250 Gene bekannt, die mit Netzhauterkrankungen assoziiert sind (<https://sph.uth.edu/retnet>). Schlüsseltechnologien, wie moderne Sequenzierungsmethoden, Genmanipulation und Gentransfer haben die Entwicklung gentherapeutischer Ansätze ermöglicht. Anstrengungen der letzten 25 Jahre mündeten im Dezember 2017 in der Zulassung der ersten Gen-

therapie zur Behandlung einer hereditären Augenerkrankung mit dem Präparat Voretigen Neparvovec (Luxturna®) [1].

Aufgrund der guten Zugänglichkeit des Auges, der Möglichkeit lokaler Medikamenteneingabe in niedrigen Dosen sowie des dem Auge zugeschriebenen zumindest partiellen Immunprivilegs besteht im Vergleich zur systemischen Gabe eine geringe Neigung zu toxischen und immunogenen Reaktionen [2]. Dies und die Tatsache, dass eine

Abbildung 1

A) Kristallstruktur von AAV2. Die Struktur wurde RCSB PDB 3D view tool auf Basis von PDB 1LP3 illustriert. **(B)** Schematische Darstellung des linearen Einzelstrang DNA Genoms eines rekombinanten Adeno-assoziierten Virus (AAV) Vektor. Das AAV Vektorgenom enthält einen Promoter zur Expression des Zielgens (gene of interest, GOI), sowie regulatorische Elements (RE; z.B. Polyadenylierungssequenz). Diese Elemente sind durch zwei inverted terminal repeats (ITR) – die einzigen im Vektorgenom verbleibenden AAV Sequenzen – flankiert. **(C)** Schematische Darstellung der AAV-vermittelten Transduktion von Zielzellen (z.B. Fotorezeptoren) im Rahmen einer Gensupplementierungstherapie.



Vielzahl erblich bedingter Augenerkrankungen monogenetischer Natur sind, führte dazu, dass die okuläre Gentherapie eine Vorreiterrolle im gesamten Feld der Gentherapie einnahm [3]. Mit dem Einzug der ersten zugelassenen Gentherapie (Voretigen neparvovec) in der Augenheilkunde mehren sich die Hoffnungen, weitere kausale Therapieansätze für bisher nicht behandelbare retinale Dystrophien zu etablieren und in absehbarer Zeit in die klinische Praxis zu integrieren. Die meisten der bisherigen gentherapeutischen Ansätze verwenden rekombinante Adeno-assoziierte Viren (AAV) als Vektor, um therapeutische Gene bzw. weitere Nukleinsäuren in Zielzellen (z.B. retinales Pigmentepithel (RPE) oder Fotorezeptoren) einzuschleusen und dort einen Therapieeffekt hervorzurufen (**Abb. 1**). Dieses Therapiekonzept wird auch Gensupplementierung genannt. AAV Vektoren gelten als sichere Gentherapievektoren, da sie nicht in das Wirtsgenom integrieren und kaum Immunantworten induzieren. Die nicht-Pathogenität der lokalen Anwendung von AAV Vektoren am Auge konnte bereits durch zahlreiche präklinische und klinische Studien belegt werden [4].

Die ersten Versuche virale Vektoren für die gentherapeutische Anwendung zu identifizieren begannen Mitte der 1990er Jahre. Die Anstrengungen der letzten Jahre fokussierten sich im Folgenden darauf, durch Modifikationen die Effizienz der Vektoren zu verbessern und somit therapeutisch best-wirksame Vektoren zur Einbringung der therapeutischen Nukleinsäuren in die Zielzellen der Netzhaut zu entwickeln. Trotz der bisherigen Erfolge der Gentherapie haben die Erfahrungen mit AAV Vektoren aus bisher über 100 klinischen Studien immer wieder neue Herausforderungen identifiziert.

ANFORDERUNGEN UND HERAUSFORDERUNGEN RETINALER GENTHERAPIE

Die Anwendungsmöglichkeiten und der Erfolg gentherapeutischer Interventionen ist von zahlreichen Faktoren abhängig. So ist die Kapazität des AAV Vektor Genoms auf ungefähr 5 Kilobasen beschränkt, was die Behandlungsmöglichkeit von Netzhautdystrophien, die durch Mutationen in größeren Genen (z.B. MYO7A (Usher1B; 6,7 kb) oder ABCA4 (M. Stargardt; 6,8 kb) ausschließt. Um größere Gene einzubringen werden derzeit unterschiedliche sog. duale Vektoren-Strategien erforscht, die in ersten tierexperimentellen Studien erfolgsversprechende Ergebnisse zeigten, jedoch niedrigere Expressionslevels erreichten als Gentransfers mit einzelnen AAVs [5]. Die Transduktionseffizienz der Vektoren hängt außerdem vom Serotyp des jeweils verwendeten AAV sowie von deren Einbringungsweg

ab. Von den 10 am häufigsten verwendeten, natürlich vorkommenden Serotypen können bis auf AAV1 alle nach subretinaler Gabe RPE-Zellen mit hoher Effizienz transduzieren, während die Transduktion von Fotorezeptoren zwischen den einzelnen AAV Serotypen stark variiert. Die Transduktionseffizienz nach subretinaler Gabe all dieser Wildtyp-Serotypen für Zellen, die weiter im Inneren der Netzhaut liegen (wie beispielsweise Müller-Zellen oder retinale Ganglienzellen) ist sehr gering.

Zudem bleibt der Effekt nach subretinaler Gabe auf den Ort der Eingabe beschränkt und die chirurgische subretinale Eingabe mit temporärer Induktion einer lokal begrenzten Netzhautablösung in Form eines sogenannten »subretinalen Bläschens« birgt Risiken. Ein alternativer, weniger invasiver Applikationsweg besteht in der intravitrealen Gabe, die zudem in einer wesentlich großflächigeren Verteilung des Gentherapeutikums resultiert. Allerdings ist hierbei die Diffusion des AAV-Therapeutikums durch die oberen Netzhautschichten zu den Fotorezeptoren und RPE-Zellen viel geringer als nach subretinaler Gabe, vermutlich aufgrund von physikalischen bzw. Rezeptoraffinität-bedingten Barrieren an der membrana limitans interna (ILM) [4]. Zurzeit wird versucht durch gerichtete Evolution bzw. rationaler Optimierung von AAV Vektoren diese Limitationen zu überwinden [6].

BISHERIGE ERFOLGE, ZUKÜNFTIGE PROJEKTE UND ZIELE DER ARBEITSGRUPPE

Der aktuelle Fokus der Arbeitsgruppe liegt in der Entwicklung optimierter viraler Vektoren und darauf basierender gentherapeutischer Ansätze für bisher unheilbare, erbliche Netzhauterkrankungen. Bereits vor einigen Jahren konnte die Gruppe am Department Pharmazie der LMU München in enger Kooperation mit Prof. Dr. Martin Biel und der Gruppe von Prof. Dr. Mathias Seeliger (Augenklinik Tübingen) die ersten erfolgreichen Gentherapieansätze für *CNGA3*-bedingte Achromatopsie (ACHM2) [7, 8] und *CNGB1*-bedingte Retinitis pigmentosa (RP45) [9] entwickeln. Auf Basis von erfolgreichen *proof-of-concept* Studien entstanden drei aktuell laufende klinische Translationsprojekte zur ACHM2, RP45 sowie zur PDE6A-bedingten Retinitis pigmentosa (RP43) [10]. Diese Projekte werden durch die Tistou und Charlotte Kerstan Stiftung (RD-CURE) und das NIH (R24 EY027285) gefördert.

Weitere aktuelle Aktivitäten betreffen die Optimierung und Weiterentwicklung von AAV Vektoren durch gerichtete Evolution zur effizienteren und spezifischeren Gentherapie im Rahmen von DFG (SPP 2127) bzw. Industrie (Acucela) geförderten Projekten.

LITERATUR

1. A. M. Keeler, T. R. Flotte, Recombinant Adeno-Associated Virus Gene Therapy in Light of Luxturna (and Zolgensma and Glybera): Where Are We, and How Did We Get Here? *Annu Rev Virol* 10.1146/annurev-virology-092818-015530 (2019).
2. K. Willett, J. Bennett, Immunology of AAV-Mediated Gene Transfer in the Eye. *Frontiers in immunology* 4, 261 (2013).
3. A. Auricchio, A. J. Smith, R. R. Ali, The Future Looks Brighter After 25 Years of Retinal Gene Therapy. *Human gene therapy* 28, 982–987 (2017).
4. I. Trapani, A. Auricchio, Seeing the Light after 25 Years of Retinal Gene Therapy. *Trends Mol Med* 24, 669–681 (2018).
5. I. Trapani, Adeno-Associated Viral Vectors as a Tool for Large Gene Delivery to the Retina. *Genes (Basel)* 10 (2019).
6. A. Planul, D. Dalkara, Vectors and Gene Delivery to the Retina. *Annu Rev Vis Sci* 3, 121–140 (2017).
7. S. Michalakis et al., Restoration of cone vision in the CNGA3-/- mouse model of congenital complete lack of cone photoreceptor function. *Molecular therapy: the journal of the American Society of Gene Therapy* 18, 2057–2063 (2010).
8. R. Mühlfriedel et al., AAV-Mediated Gene Supplementation Therapy in Achromatopsia Type 2: Preclinical Data on Therapeutic Time Window and Long-Term Effects. *Front Neurosci* 11, 292 (2017).
9. S. Koch et al., Gene therapy restores vision and delays degeneration in the CNGB1-/- mouse model of retinitis pigmentosa. *Hum Mol Genet* 10.1093/hmg/dds290 (2012).
10. C. Schön et al., Gene therapy successfully delays degeneration in a mouse model of PDE6A-linked retinitis pigmentosa (RP 43). *Hum Gene Ther* 10.1089/hum.2017.156 (2017).



Maximilian Gerhardt ist Assistenzarzt an der Augenklinik der Ludwig-Maximilians-Universität München (Direktor: Prof. Dr. Siegfried Priglinger). Er studierte Humanmedizin an der Universität zu Köln, wo er Mitglied im Graduiertenprogramm für Pharmakologie und Therapieforschung (Leiter: Prof. Dr. Stefan Herzig) war. Ein Stipendium für wissenschaftlichen Nachwuchs der medizinischen Fakultät (Köln Fortune) führ-

te ihn an das Schepens Eye Research Institute der Harvard Medical School, wo er im Labor von Prof. Andrius Kazlauskas funktionell-genetische Mechanismen bei der altersbedingten Makuladegeneration sowie Wachstumsfaktor-vermittelte Signalwege bei proliferativer Vitreoretinopathie untersuchte. An der Augenklinik der LMU München beschäftigt er sich schwerpunktmäßig mit genetisch bedingten Augenerkrankungen.



Prof. Dr. rer. nat. Stylianos Michalakis ist Professor für Gentherapie von Augenerkrankungen an der Augenklinik und Poliklinik des Klinikums der Ludwig-Maximilians-Universität München (Direktor: Prof. Dr. Siegfried Priglinger). Er studierte Pharmazie an der LMU München und promovierte dort im Jahr 2003 in der molekularen Pharmakologie. Während seiner Postdoktorandenzeit an der LMU und TU München erforschte er Pathomechanismen retinaler Erkrankungen und begann mit der Entwicklung von Gentherapieansätzen. Es folgte Ende 2011 die Habilitation im Fach Pharmakologie. Vor seiner Berufung an die Augenklinik der LMU leitete er eine Nachwuchsgruppe im Rahmen des DFG Exzellenzclusters CIPSM. Prof. Mich-

alakis ist Mitgründer des Gentherapie Start-Ups ViGeneron GmbH. Seine aktuellen Forschungsschwerpunkte liegen in 1) der Entwicklung viraler Vektoren und darauf basierender gentherapeutischer Ansätze für erbliche Netzhauterkrankungen, 2) der Aufklärung genetischer, molekularer und zellulärer Mechanismen degenerativer und neovaskulärer Augenerkrankungen sowie 3) die Untersuchung epigenetischer Genregulationsmechanismen in neuronalen Zellen im Kontext von Entwicklungs- und Krankheitsprozessen.

FÖRDERUNGEN UND AUSZEICHNUNGEN

Die Forschungsarbeiten wurden bzw. werden von der Deutschen Forschungsgemeinschaft (DFG), Tistou und Charlotte Kerstan Stiftung, die National Institutes of Health (NIH), sowie Pharmaindustrie (Acucela, Sanofi) gefördert. Prof. Michalakis wurde im Jahr 2013 mit dem Habilitationspreis der Münchner Universitätsgesellschaft sowie dem Thieme Preis der Leopoldina für Medizin ausgezeichnet. Er ist Autor von über 90 Publikationen, Gutachter für verschiedene Fachzeitschriften sowie Editor für *Frontiers in Neurosciences* und *Journal of Gene Medicine*.

KONTAKT



Prof. Dr. rer. nat. Stylianos Michalakis
Augenklinik und Poliklinik
Labor für Gentherapie und
translationale Forschung
Klinikum der
Ludwig-Maximilians-Universität München
Mathildenstraße 8
80336 München
E-Mail: michalakis@lmu.de

NETZHAUTDYSTROPHIEN

Voretigen Neparvovec: Erste Gentherapie in der Augenheilkunde kann nachhaltige Verbesserungen des Sehvermögens von Patienten mit RPE65-Mutationen bewirken

Mit der neuen Gentherapie Luxturna® (Voretigen Neparvovec) steht erstmals eine transformative Behandlung für Patienten mit erblichen Netzhautdystrophien aufgrund biallelischer RPE65-Mutationen zur Verfügung. In einer Phase-III-Studie bewirkte sie bei 90% der Patienten Verbesserungen des Orientierungsvermögens unter schlechten Lichtverhältnissen und der Sehfähigkeit [1].

Der 29. Mai 2019 markiert einen Meilenstein in der Therapie erblicher Netzhauterkrankungen in Deutschland. Denn an diesem Tag wurde unter Leitung von Prof. Siegfried Priglinger an der Ludwig-Maximilians-Universität München erstmals an einer deutschen Klinik eine Patientin mit der ersten zugelassenen Gentherapie in der Augenheilkunde behandelt [2]. Der darin enthaltene Wirkstoff Voretigen Neparvovec ist indiziert zur Behandlung pädiatrischer und erwachsener Patienten mit Sehverlust aufgrund einer erblichen Netzhautdystrophie, die auf nachgewiesenen biallelischen RPE65 (retinal pigment epithelium-specific 65 kDa Protein)-Mutationen beruht, und die über ausreichend lebensfähige Netzhautzellen verfügen [3]. Gemäß einer Stellungnahme der deutschen Fachgesellschaften (DOG, RG, BVA) ist nicht die klinische Einordnung entscheidend, sondern der Nachweis krankheitsverursachender Mutationen auf beiden Allelen des RPE65-Gens [4].

Mit Voretigen Neparvovec werden mittels einer subretinalen Injektion korrekte Kopien des RPE65-Gens in die Zellen des retinalen Pigmentepithels eingebracht [3]. Als Vektor dienen Adeno-assoziierte Viren (AAV). Das RPE65-Enzym katalysiert die Überführung von 11-trans-Retinal in 11-cis-Retinal, das den Photorezeptoren vom RPE zur Verfügung gestellt wird. Die Transduktion der RPE-Zellen mit intakten Kopien des Gens bietet deshalb das Potenzial, den Sehzyklus wiederherzustellen.

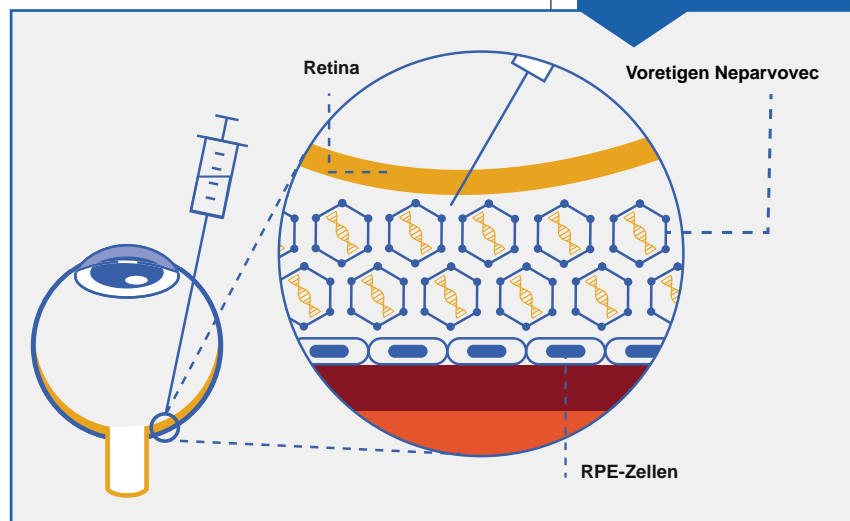
Den klinischen Nutzen von Voretigen Neparvovec belegt eine Phase-III-Studie mit 31 randomisierten Patienten mit RPE65-vermittelten hereditären Netzhautdystrophien [1]. 20 Patienten der Interventionsgruppe wurden sofort und neun Patienten einer Kontrollgruppe mit einjähriger Verzögerung behandelt. Je ein Patient pro Gruppe schied vor der Intervention aus.

Primärer Endpunkt war die Verbesserung der Orientierungsfähigkeit in einem zufälligen Hindernisparcours bei unterschiedlichen Lichtverhältnissen („Multi-Luminance Mobility Test“, MLMT) nach einem Jahr. Dieses Ziel erreichten 90% der Patienten der Interventionsgruppe – mit einem signifikanten Unterschied gegenüber der Kontrollgruppe ($p=0,0013$). In der modifizierten Intent-to-Treat-Analyse ergab sich auch bei der bestkorrigierten Sehschärfe (BCVA) mit +9,0 Buchstaben nach einem Jahr ein signifikanter Vorteil im Vergleich zur Kontrollgruppe mit +1,6 Buchstaben ($p=0,0446$).

Wie wird die Gentherapie verabreicht?

Voretigen Neparvovec wird einmalig subretinal in jedes Auge injiziert. Voraussetzungen für die Behandlung sind der Nachweis einer biallelischen RPE65-Mutation und das Vorhandensein von ausreichend lebensfähigen Retinazellen [3]. Dies wird durch den behandelnden Arzt festgestellt.

Die Therapie darf nur in spezialisierten ophthalmologischen Behandlungszentren verabreicht werden. Neben Schulungen für Netzhautchirurgen werden auch Schulungen für Klinikapotheken und weiteres beteiligtes Personal zur Handhabung von Gentherapieprodukten durchgeführt.



Literatur:

1. Russell S et al. Lancet 2017; 390: 849-860
2. Pressemeldung der Ludwig-Maximilians-Universität München vom 5.6.2019
3. Fachinformation Luxturna®, aktueller Stand
4. <https://www.dog.org/?cat=7#9>

Novartis Pharma GmbH

Roonstraße 25
90429 Nürnberg
Tel. +49 911 2730

www.novartis.com

Dreidimensionale Darstellung der intraskleralen Kammerwasserabflusswege mittels Lipidemulsion-basierter OCT-Angiographie

PRIV.-DOZ. DR. CHRISTIAN VAN OTERENDORP¹,
 PROF. DR. HANS HOERAUF¹

1 Klinik für
 Augenheilkunde
 Universitätsmedizin
 Göttingen

Die intraskleralen Kammerwasserabflusswege – das komplexe Netzwerk aus Kollektorkanälen und Kammerwasservenen – standen über Jahrzehnte eher am Rand des Forschungsinteresses. Zum einen weil es durch die Lage im Skleragewebe nur schwierig darzustellen ist (**Abbildung 1**), zum anderen, weil man ihm kaum eine funktionelle Bedeutung beimaß. Frühere Forschungsarbeiten zum Kammerwasserabfluss identifizierten das Trabekelmaschenwerk als maßgebliche Struktur des Flusswiderstands. [1] Erst die weite Verbreitung der mikroinvasiven Verfahren zur Eröffnung oder Überbrückung des Trabekelmaschenwerks (Trabekulotomie ab interno, Trabekelwerkstents) führte zu einem zunehmenden Interesse an dem verborgenen Netzwerk der intraskleralen Kammerwasserabflusswege. Es zeigte sich, dass die in der Regel sektorielle Eröffnung oder Überbrückung des Trabekelmaschenwerks nicht immer zu einer signifikanten Drucksenkung führt. Drei Aspekte dürften hierbei eine Rolle spielen: 1. die Tatsache, dass der Kammerwasserabfluss nicht gleichmäßig über die Zirkumferenz des Schlemm-Kanals erfolgt, sondern in einzelnen Sektoren mit unterschiedlichem Volumenstrom, 2. weisen ca. zwei Drittel aller Ostien der Kollektorkanäle eine komplexe Anatomie mit Septen und taschenartigen Ausstülpungen auf [2] und 3. ist der Beitrag der Kammerwasservenen zum Abflusswiderstand der einzelnen Sektoren nicht geklärt.

Eine genauere Kenntnis von Anatomie und Funktion der hinter dem Trabekelwerk liegenden Abflusswege, bestenfalls bei jedem einzelnen Patienten, könnte die Anwendung der Trabekelwerkschirurgie effektiver machen, als sie bisher ist. [3]

Der britische Pathologe Norman Ashton legte in den 1950er Jahren mit der Herstellung und Analyse

feiner Neopren-Ausgusspräparate die Grundlagen für unser Verständnis der Anatomie der intraskleralen Abflusswege. Die Anwendung von Fluorescein oder Indocyaningrün ermöglichte später, analog zur retinalen Angiographie, die funktionelle Darstellung des Abflusses im Tiermodell und am Menschen. [4–7] Ein Nachteil dieser Bildgebungsmethode ist, dass hiermit nur zweidimensionale Bilder erstellt werden können. Ein Ziel unserer Arbeitsgruppe ist es daher, eine Bildgebungsmodalität zu entwickeln, die eine dreidimensionale Darstellung der Kammerwasserabflusswege ermöglicht – zunächst *ex vivo*, später auch *in vivo*, zunächst am Tiermodell.

Die Optische Kohärenztomographie (OCT) ist angesichts ihrer Möglichkeit zur dreidimensionalen Gewebedarstellung in hoher Auflösung prädestiniert für die Darstellung der intraskleralen Abflusswege, wenn auch die stark lichtstreuenden Eigenschaften der Sklera die Eindringtiefe bei kürzeren Wellenlängen limitiert. Da Kammerwasser selbst kein Signal in OCT oder OCT-Angiographie (OCTA) erzeugt, ist ein Kontrastmittel zur Untersuchung der Flussdynamik notwendig. Hierfür beschrieben wir eine neue Bildgebungsmodalität: die lipidemulsion-basierte OCTA. [8] Lipidemulsionen waren bereits bekannt dafür, in der OCT eine Hyper-Reflektivität zu erzeugen. Eine besondere Eigenschaft von Lipidemulsionen ist darüber hinaus, dass sie ein Signal in der OCTA induzieren. Die Signalstärke ist deutlich höher als die von Blut. Wir charakterisierten die optischen Eigenschaften verschiedener Lipidemulsionen und deren Verhalten in der OCT. Als Emulsion mit gleichzeitig hoher Reflektivität und Transmission erwies sich die Sojamilch-basierte Lipidemulsion des Narkosemittels Propofol. Wobei der Trägerstoff und nicht der Wirkstoff selbst für die optischen Eigenschaften verantwortlich sind.

In Flussexperimenten mit Glaskapillaren zeigte sich, im Unterschied zu Blut, eine weitgehende Unabhängigkeit des OCTA-Signals von der Flussgeschwindigkeit über einen großen Geschwindigkeitsbereich. Dies trifft auch für die Abwesenheit von Fluss zu.

Abbildung 1

■ OCT-Darstellung der intraskleralen Kammerwasserabflusswege beim Menschen. Der Limbus ist mit einem Stern markiert. Rechts davon die Kornea, links die Sklera. Trabekelmaschenwerk mit rotem Pfeil, Kammerwasservene mit weißem Pfeil und Vorderkammer mit »VK« markiert. Die Tiefendarstellung der Sklera ist bei diesem Probanden mit Myopie und nur schwachen vertikalen Streifenartefakten durch oberflächliche Blutgefäße verhältnismäßig gut. Meist lassen sich die Kammerwasservenen nicht so klar darstellen.



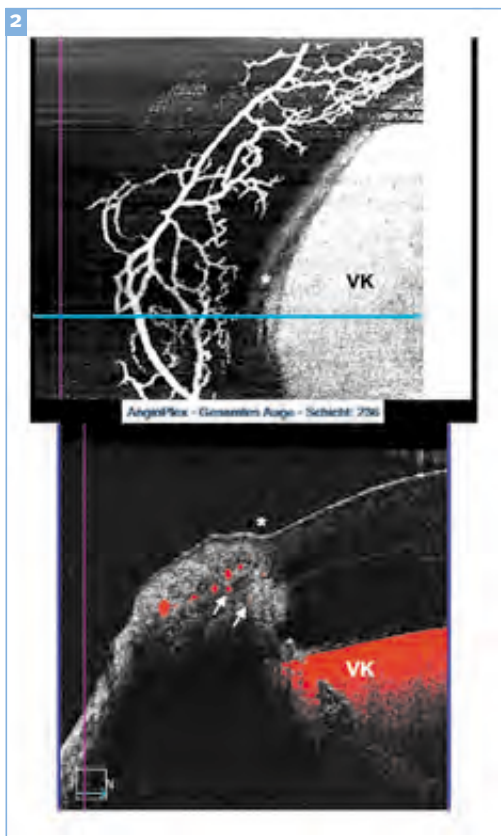


Abbildung 2

■ OCT-Angiographie eines mit Propofol perfundierten Schweineauges. Oben das En-face-Bild der Kammerwasserabflusswege, unten das entlang der horizontalen blauen Linie liegende B-Bild. Das OCTA-Signal ist rot, das morphologische OCT-Signal wird in Graustufen dargestellt. Der Limbus ist mit dem Stern markiert, die mit Propofol gefüllte Vorderkammer mit »VK«. Die zwei weißen Pfeile weisen auf Anschnitte einer in die Tiefe, Richtung Kammerwinkel laufenden Kammerwasservene.

In einem *ex-vivo*-Schweineaugenmodell wurde die Vorderkammer mit Propofol-Lösung perfundiert und der Abfluss über die intraskleralen Abflusswege zeitaufgelöst mit einem kommerziellen Spectral-Domain- oder Swept-Source- OCTA-Gerät (Zeiss Angioplex und PlexElite) dargestellt, wobei ein Prototypen-Vorderabschnitts-Modul verwendet

wurde. Die hierbei erreichte Orts-Auflösung ist mindestens so hoch wie bei einer ICG-basierten Scanning-Laser-Ophthalmoscope-Darstellung, wobei, anders als bei dem Fluoreszenzverfahren, eine 3D-Darstellung erreicht wird. Die zeitliche Auflösung ist, bedingt durch die großen Datenmengen jedes einzelnen Scans noch sehr begrenzt. Etwa 2 Scans pro Minute lassen sich derzeit mit kommerziellen Geräten realisieren. Ein Scanfeld von 6x6 erlaubt eine Darstellung von ca. 3 Uhrzeiten der Zirkumferenz (**Abbildung 2**).

Parallel zur Weiterentwicklung der Bildgebung am Tiermodell werden Algorithmen zur Extraktion des Gefäßnetzwerks im 3D-Raum entwickelt – an Stelle der vom Gerät gelieferten 2D-En-face-Darstellung. Hierbei kommen Matlab-basierte Skripte mit Gefäßfilter- und Region-growing-Algorithmen zur Anwendung (**Abbildung 3**). Dies soll in Zukunft weitergehende Analysen des Netzwerks, zum Beispiel hinsichtlich des Verzweigungsgrads, Querschnitt und Simulationen der Strömungsbedingungen ermöglichen.

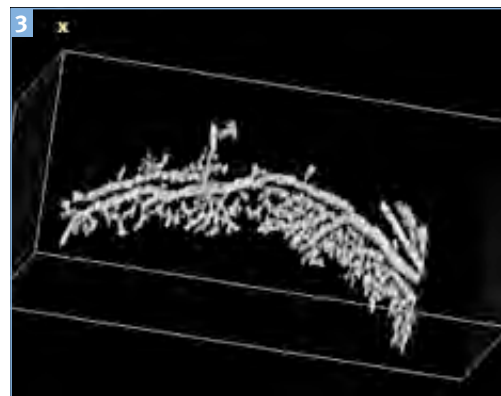


Abbildung 3

■ Dreidimensionale Rekonstruktion der Kammerwasservenen eines Schweineauges anhand der OCTA-Volumendaten. Es handelt sich um ein anderes Auge als das in **Abb. 2** gezeigte. Der vordere Bildanteil zeigt den zum Limbus gerichteten Anteil des Gefäßplexus. Im Gegensatz zur zweidimensionalen Projektion des vom Gerät gelieferten En-face-Bild erlauben diese 3D-Rekonstruktionen eine vollständige Analyse des Gefäßnetzwerks.

DANKSAGUNG

Die Autoren danken den Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern dieses Projekts, vor allem Hanna Gottschalk, Mohammed Khattab, Fabian Gersmeier und Goran Latif. Zudem der Firma Carl Zeiss Meditec (Dublin, USA) für die technische Unterstützung.

LITERATUR

1. Tamm E. R. The trabecular meshwork outflow pathways: structural and functional aspects. *Exp Eye Res* 2009; 88: 648–655.
2. Bentley M. D., Hann C. R., Fautsch M. P. Anatomical Variation of Human Collector Channel Orifices. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2016; 57: 1153–1159.
3. Huang A. S., Saraswathy S., Dastiridou A., Begian A., Mohindroo C., Tan J. C. H., Francis B. A., Hinton D. R., Weinreb R. N. Aqueous Angiography-Mediated Guidance of Trabecular Bypass Improves Angiographic Outflow in Human Enucleated Eyes. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2016; 57: 4558–4565.
4. Grieshaber M. C., Pienaar A., Olivier J., Stegmann R. Channelography: imaging of the aqueous outflow pathway with flexible microcatheter and fluorescein in canaloplasty. *Klin Monatsblätter Für Augenheilkd* 2009; 226: 245–248.
5. Saraswathy S., Tan J. C. H., Yu F., Francis B. A., Hinton D. R., Weinreb R. N., Huang A. S. Aqueous Angiography: Real-Time and Physiologic Aqueous Humor Outflow Imaging. *PLoS One* 2016; 11: e0147176.
6. Loewen R. T., Brown E. N., Roy P., Schuman J. S., Sigal I. A., Loewen N. A. Regionally Discrete Aqueous Humor Outflow Quantification Using Fluorescein Canalograms. *PLoS ONE* 2016; 11 Im Internet: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4801333/>
7. Huang A. S., Camp A., Xu B. Y., Penteado R. C., Weinreb R. N. Aqueous Angiography: Aqueous Humor Outflow Imaging in Live Human Subjects. *Ophthalmology* 2017; 124: 1249–1251.
8. Gottschalk H. M., Wecker T., Khattab M. H., Fischer C. V., Callizo J., Rehfeldt F., Lubjuhn R., Russmann C., Hoerauf H., van Oterendorp C. Lipid Emulsion-Based OCT Angiography for Ex Vivo Imaging of the Aqueous Outflow Tract. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2019; 60: 397–406.



Christian van Oterendorp studierte Medizin an der Albert-Ludwigs-Universität Freiburg im Breisgau. Erste Forschungserfahrung sammelte er im Rahmen der Promotion am Institut für Anatomie und Zellbiologie der Univ. Freiburg. Es folgte ein Forschungsaufenthalt an der Universität Stanford (USA) im Bereich Entwicklungsbiologie.

Die Facharzt Ausbildung erfolgte an der Universitäts-Augenklinik Freiburg, unterbrochen von einem Forschungsstipendium der DFG am Centre for Brain Repair der Universität Cambridge (GB). Hier forschte er im Labor von Prof. Keith Martin an Veränderungen des axonalen Trans-

ports in Ganglienzellen am Ratten-Glaukommodell, sowie an der retinalen Bildgebung am Rattenauge. Zurück in Freiburg forschte er in der Arbeitsgruppe von Prof. Wolf Lagrèze an neurotrophen Signalwegen in Ganglienzellen. Nach Facharztprüfung und EBO-Examen arbeitete er weitere 2 Jahre als Funktionsoberarzt der Sektion Glaukumatologie an der Augenklinik Freiburg, bevor er an die Universitäts-Augenklinik Göttingen wechselte. Hier habilitierte er über die »Neurotrophe Signalübertragung in retinalen Ganglienzellen der Ratte«. Für seine Arbeit zur Quantifizierung des retrograden axonalen Transports im Rattenauge erhielt er 2012 den Glaukumforschungspreis der DOG. Dr. van Oterendorp ist derzeit an der Augenklinik Göttingen als Oberarzt mit dem Schwerpunkt »Erkrankungen des vorderen Augenabschnitts« tätig. Der Forschungsschwerpunkt seiner Arbeitsgruppe liegt neben der OCT-Bildgebung auf dem Zusammenhang zwischen mechanischem Stress und Ganglienzellfunktion, sowie der Beeinflussung von Wundheilungsprozessen durch Anti-VEGF-Substanzen.

KONTAKT



PD Dr. Christian van Oterendorp
 Klinik für Augenheilkunde
 Universitätsmedizin Göttingen
 Robert-Koch-Straße 40
 37075 Göttingen
 Tel. 0551/39-66776
 E-Mail: christian.oterendorp@med.uni-goettingen.de

PTT

PHACO TORQUE TECHNOLOGY



DER NEUE DREHMOMENTSCHLÜSSEL VON WEFIS *Patent Pending*

- fest eingestelltes Drehmoment von 0,3 Nm
- sichere und stabile Montage von Phaco-Tips
- wartungsfreie und robuste Mechanik
- Material: Edelstahl
- resterilisierbar

Art.-Nr.: W-12-010



WEFIS GmbH
Konrad-Adenauer-Straße 25
D-50996 Köln - Rodenkirchen
Germany

Tel.: 0221 - 9 35 49 98 0
Fax: 0221 - 9 35 49 98 10
info@wefis.net
www.wefis.net

QUALITY MADE IN GERMANY



Deutscher Roter Helfer

**WIR BRAUCHEN DICH,
UM ÜBERALL **HELFEN**
ZU KÖNNEN.**

SETZE EIN ZEICHEN UND WERDE FÖRDERMITGLIED.

DRK.DE



Die Rolle des Immunsystems in der Genese von Erkrankungen des Auges: von der Hornhaut bis zum Pigmentepithel

DR. DANIEL PILGER¹, PROF. UWE PLEYER¹, DR. TOBIAS BROCKMANN¹,
 PROF. ECKART BERTELMANN¹, DR. DOMINIKA POHLMANN¹,
 DR. ANNE RÜBSAM, DR. ANJA DAVIDS¹, DR. SUSANNE WOLF¹,
 DR. NORBERT KOCIOK¹, PROF. ANTONIA M. JOUSSEN¹,
 DR. NADINE REICHHART¹, PROF. OLAF STRAUß¹, LAURA WERNECKE¹,
 DOMINIK FRENTZEL¹, PROF. OLIVER ZEITZ¹

**1 Klinik für
 Augenheilkunde,
 Charité –
 Universitätsmedizin
 Berlin,**
 Corporate Member
 of Freie Universität
 Berlin,
 Humboldt-Universität
 zu Berlin,
 and Berlin Institute
 of Health

EINLEITUNG

In sehr vielen Erkrankungen des Auges, die zum starken Visusverlust bis zur Erblindung führen, ist immer eine starke entzündliche Komponente beschrieben worden. Daher beschäftigt sich das Top-Forschungsthema der Charité Augenklinik und der Experimentellen Ophthalmologie mit diesem Pathomechanismen in vielen Geweben des Auges. Dieser Fokus bedingt nebenbei die Möglichkeit durch intensiven Austausch anhand von gemeinsamen Erkenntnissen zu lernen. Zurzeit bestehen hier die aktuellen Forschungsziele in der Untersuchung der Immunreaktionen der Hornhaut im Transplantationsszenario, der seltenen Gefäßerkrankung PIC, den entzündlichen Veränderungen der vaskular/neuronalen Einheit im Diabetes und den Veränderungen der Immunbarriere Eigenschaften des retinalen Pigmentepithels.

UNERWÜNSCHTE IMMUNSIGNATUREN UND DEREN VERHINDERUNG BEI KERATOPLASTIK

Hauptkomplikation der perforierenden Keratoplastik ist die immun-medierte Transplantatabstoßung geblieben, die bei ca. 20–40% (Hochrisiko-), bzw. 5–10% (Niedrigrisiko-Patienten) beobachtet wird [1–4]. Die zugrundeliegenden biologischen Prozesse und die optimale Präventionsstrategie sind bisher nicht geklärt.

In einem EU geförderten internationalen Projekt (VISICORT) wird daher Probenmaterial von ca. 700 Hornhauttransplantationen aus 5 führenden Transplantationszentren aus Dänemark, Deutschland, Frankreich, Großbritannien und Irland bezüglich Bio-Markern untersucht. Die nach klinischen Kriterien differenzierten Teilgruppen, werden bezüglich ihrer Bio-Marker (u. a. Immunphänotypisierung von Zellsubpopulationen, T-Zell Rezeptor Reper-

toire, Proteomics) verglichen. Die bisher vorliegenden Ergebnisse münden aktuell in erste klinische Phase 1b Studie, zur präventiven Immunmodulation mit mesenchymalen Stammzellen.

OKULÄRE WUNDHEILUNG UND FIBROGENESE

Augenerkrankungen, die mit einem massiven Verlust der Sehkraft einhergehen, sind häufig das Ergebnis fehlgeleiteter Angiogenese oder Wundheilung bzw. Fibrogenese und stellen Reaktionen auf ischämische oder inflammatorische Prozesse dar [5]. Während die Behandlung vaskulärer Augenerkrankungen in den letzten Jahren durch die Erforschung der Pathomechanismen sowie der Einführung der anti-VEGF Therapie (Vascular Endothelial Growth Factor, VEGF) entscheidend verbessert werden konnte, existieren für die Behandlung von fibrotischen Augenerkrankungen keine kausalen Therapieansätze. Fehlgeleitete Wundheilung und Fibrogenese sind insbesondere an der Hornhaut von großer klinischer Relevanz. Stromale Hornhautnarben können auf Grundlage verschiedenster Erkrankungen, nach Infektionen und Entzündungen, sowie bei Degenerationen entstehen. Darüber hinaus ist das Risiko eines okulären Traumas, mit möglicher Hornhautbeteiligung, nicht zu verkennen: die Lebenszeitinzidenz beträgt 20% [6]. Vor diesem Hintergrund kommt den Therapiestrategien zur Verhinderung der (cornealen) Fibrosierung wachsende Bedeutung zu. In diesem Zusammenhang konnten wir an humanen Hornhautproben, an der Zellkultur sowie im Tierexperiment die Bedeutung des Komplement-Systems im Rahmen der grundlegenden Pathomechanismen der cornealen Wundheilung und Fibrogenese analysieren und wesentliche Schlüsselprozesse besser einordnen. Letztlich könnten unsere Ergebnisse dabei helfen Behandlungskonzepte zu optimieren und neue Therapieansätze abzuleiten.

IMMUNOLOGISCHE UND MORPHOLOGISCHE SIGNATUREN BEI NICHT-INFEKTÖSER CHORIORETINITIS ZUR VERBESSERUNG VON THERAPIE UND PATIENTENVERSORGUNG

Dieses Forschungsprojekt hat zum Ziel neue Erkenntnisse über zelluläre pathophysiologische Prozesse im Zusammenhang mit morphologischen Veränderungen in der Aderhaut und Netzhaut bei Patienten mit Birdshot-Retinochorioiditis (BSRC) oder punktförmiger innerer Chorioidopathie (PIC) im Krankheitsverlauf zu gewinnen. Zusätzlich sollen psychosoziale Aspekte bei den Patienten ermittelt werden.

BSRC und PIC gehören zur Gruppe der »White-Dot Syndrome«. Diese schwerwiegenden, Visus bedrohenden Erkrankungen betreffen meist Patienten mittleren Alters. Charakteristisch sind bilaterale entzündliche Veränderungen der Aderhaut und des retinalen Pigmentepithels, die sich in typischen gelb-weißlichen Herden unterhalb der Netzhaut manifestieren. Die Ätiologie beider Erkrankungen ist bisher unbekannt, jedoch geht man von einer autoimmunologischen Genese aus, normalerweise ohne systemischer Manifestation [7]. Interessant bei der BSRC ist die starke Assoziation mit HLA-A29.2 (RR: x230) [8]. Bei der PIC scheint eine MHC-II Abhängigkeit (HLA-DR2) zu bestehen [9]. Beide Erkrankungen weisen einen klinisch progressiven Verlauf auf. Mit Zunahme der Krankheitsdauer bei BSRC zeigt sich eine Atrophie der neurosensorischen Netzhaut. Dadurch leiden die Patienten an Gesichtsfelddefekten und Farbsehstörungen [10]. Bei unkontrollierter und therapierefraktärer Entzündung bilden sich ein Makulaödem [11]. Bei PIC entstehen typischerweise sekundäre chorioidale Neovaskularisierungen, die sich fast obligat bis hin zu fibrotischen Narben als Endstadium ausbilden [12, 13]. Immunologische Parameter zur Erfassung des Aktivitätszustandes der Erkrankung gibt es bisher noch nicht, obwohl immunsuppressive Therapien eingesetzt werden zur Kontrolle der intraokularen Entzündung.

Daher ist das erste Ziel Subpopulationen der Lymphozyten im peripheren Blut unter Verwendung von Massenzytometer (CYTOF) zu charakterisieren und zu phänotypisieren. Die Identifizierung immunologischer Biomarker könnte zur besseren Überwachung der entzündlichen Aktivität und zur Prädiktion des Krankheitsverlaufs dienen. Die immunolo-

gischen Messungen basieren auf der klinischen Untersuchung inklusiver standardisierter, multimodaler Bildgebung, wie der optischen Kohärenztomographie (OCT), der Fluoreszenz/Indocyaningrün-Angiographie (FAG/ICGA), der Autofluoreszenz und der OCT-Angiographie. Die Identifikation morphologischer Signaturen ist als zweites Ziel definiert. Das letzte und dritte Ziel ist es, die Lebensqualität und allgemeine Gesundheit zur Optimierung der Patientenversorgung zu erfassen.

DIABETISCHE RETINOPATHIE

In der diabetischen Retinopathie spielen residente und eingewanderte Immunzellen eine zentrale Rolle [14–16]. Im letzten Jahr haben wir die Daten aus einem Tiermodell mit Typ II Diabetes vorgestellt, das wir in Zusammenarbeit mit der Gruppe von Prof. Bader und PD Dr. Dechend vom Max-Delbrück Centrum untersuchten. Es handelt sich um ein Rattenmodell, bei dem durch ein Transgen die Insulinresistenz im Diabetes Typ II simuliert wird. Somit entstehen in diesem Rattenmodell ein hoher Blutzuckerspiegel und pathologisch hoher Plasma-Insulinspiegel. Das Tiermodell zeigt verschiedene diabetische Endorganschäden, darunter auch eine retinale Degeneration mit vielen Eigenschaften der diabetischen Retinopathie beim Menschen [17]. Auf zellulärer Ebene kommt es zur signifikanten Erhöhung der Zahlen aktivierter Mikroglia Zellen. Wir haben in diesem Jahr weitere Projekte begonnen, in denen wir dieses Modell für Typ II Diabetes verwenden und vor allem auf die Regulation der residenten Mikrogliazellen fokussieren. Wir untersuchen zum Beispiel den Unterschied in der Immunreaktion zwischen Männchen und Weibchen, um eine mögliche Aussage über genderbezogene Therapien machen zu können. In einem weiteren Projekt untersuchen wir den therapeutischen Effekt von kurzkettigen Fettsäuren auf die diabetische Retinopathie. Ein drittes Projekt beschäftigt sich mit der Entstehung von Sauerstoffradikalen und der therapeutischen Relevanz von dagegen gerichteten spezifischen Inhibitoren. Wir nutzen gleichzeitig zum Typ II Diabetes Modell auch ein weiteres Modell in Mäusen und Ratten, welches eher den Typ I Diabetes widerspiegelt. Hier konnten wir zeigen, dass auch im Hirn von diabetischen Mäusen die Immunantwort vor allem der Mikroglia verändert ist. Es gelang uns, einen Inhibitor gegen Stickoxidausschüttung in Mikroglia und Makrophagen zu entwickeln, welchen wir in verschiedenen Retino-

pathien testen werden. Unsere Forschung zielt in Zukunft auf mögliche Behandlungsstrategien für diabetische Retinopathie in Typ I und Typ II Diabetes und den zugrundeliegenden Mechanismen von Immunantworten und deren spezifischen Modulation.

DAS RETINALE PIGMENTEPITHEL ALS AKTIVE IMMUNBARRIERE DER ÄUSSEREN NETZHAUT

Das retinale Pigmentepithel (RPE) stellt die äußere Blut/Retinaschranke dar. Mit seinen tight-junctions formt es ein dichtes Epithel, durch das weder Ionen, Moleküle noch Zellen aus dem Blutstrom zur Netzhaut gelangen. Diese Barriere ist die Grundlage des Immunprivilegs der Netzhaut geht über die einer mechanische Barriere hinaus. Durch Rezeptoren auf der Plasmamembran kann das RPE pro-inflammatorische Zytokine im Blut erfassen und durch Sekretion immunhemmender Faktoren entzündliche Reaktion im Entstehen minimieren. In vielen Erkrankungen der Netzhaut, vor allem bei systemisch bedingten Erkrankungen geht diese aktive Fähigkeit des RPE verloren und kann sich in einem pro-inflammatorischen Phänotyp wandeln. Die Mechanismen und Faktoren, die zu diesem immunologischen Switch führen sind Gegenstand der Untersuchungen. Zum einen konnten wir zeigen, dass das RPE ein Gewebe ist, das aktiv im Komplementsystem involviert ist. Humanes Serum als Komplementquelle führt zu distinkten Second-Messenger Antworten im RPE die sich aus Unterantworten spezifisch für jeden einzelnen aktiven Komplementfaktor zusammensetzt. Anaphylatoxine führen zu veränderten Genexpression und zu einem pro-inflammatorischen Phänotyp mit erhöhter Komplementexpression und Zytokin Sekretion. Die Konsequenzen werden in einem weiteren Projekt in Zusammenarbeit mit Prof. Sennlaub in Paris bearbeitet. Das RPE verändert seine immunhemmende Wirkung und etabliert eine pro-inflammatorische »Kommunikation« mit systemischen Monozyten, die bei AMD in äußeren Netzhaut akkumulieren. Hier scheint das Renin-Angiotensin-System eine Rolle zu spielen, denn AngII koordiniert zelluläre Immunantworten in der Netzhaut, wobei wir in einem Modell für hypertensive Retinopathie zeigen konnten, dass das RPE aktiv AngII aus dem Blutstrom aufnimmt und in die Netzhaut transportiert.

EINFLUSS SYSTEMISCHER MOLEKULARER FAKTOREN AUF DEN VERLAUF VON AUGENERKRANKUNGEN

Die häufigsten Erblindungsursachen in der westlichen Welt sind die altersbedingte Makuladegeneration (AMD) und die diabetische Retinopathie (DR). Beide Erkrankungen manifestieren sich am Auge, werden aber mutmaßlich durch systemische Faktoren beeinflusst. So ist bei der AMD bekannt, dass das Polymorphismen in Genen, die für Faktoren des Komplementsystems kodieren, das Erkrankungsrisiko signifikant beeinflussen. Bei der DR spielt die lokale Entzündungsreaktion eine wichtige Rolle. Der Ablauf der Entzündung entscheidet mutmaßlich darüber, ob das die Sehfunktion bedrohende diabetische Makulaödem entsteht oder nicht. In klinischen Projekten beschäftigen wir uns mit dem Einfluss molekularer systemischer Faktoren auf den Erkrankungsverlauf. Eine eingehende Analyse des Immunstatus spielt hier eine wichtige Rolle. Daneben ist die Augenklinik Teil der vom Berlin Institute of Health geförderten und durchgeführten BeLOVE-Studie, in der die Rolle des Auges als Fenster zum Körper im Zusammenhang mit verschiedenen kardiovaskulären und neurologischen Krankheitsbildern an mehreren tausend Probanden untersucht wird.

LITERATUR

1. Pleyer U., Maier A.K. Prevention and treatment of transplant rejection in keratoplasty. In: Pleyer U., Alio J. Barisani-Asenbauer T., Hoang P., Rao N. Immune modulation and anti-inflammatory therapy in ocular disorders. IOIS guidelines. Springer, Berlin. Pp 95–117, 2014.
2. Bachmann B.O., Pleyer U., Maier P.C., Reinhard T., Seitz B., Cursiefen C. Perioperative/Postoperative Anti-Inflammatory Therapy During/After Corneal Surgery/Transplantation. *Klin Monatsbl Augenheilkd* 2019; 236: 1–9.
3. Brockmann T., Brockmann C., Maier A.K., Schroeter J., Pleyer U., Bertelmann E., Jousseaume A.M., Torun N. Clinicopathology of graft detachment after Descemet's membrane endothelial keratoplasty. *Acta Ophthalmol.* 2014 Nov; 92 (7): e556–61.
4. Treacy O., O'Flynn L., Ryan A.E., Morcos M., Lohan P., Schu S., Wilk M., Fahy G., Griffin M.D., Nosov M., Ritter T. Mesenchymal stem cell therapy promotes corneal allograft survival in rats by local and systemic immunomodulation. *Am J Transplant.* 2014 Sep; 14 (9): 2023–36.

5. Friedlander, M. Fibrosis and diseases of the eye. *J Clin Invest* 117, 576–586, doi:10.1172/JCI31030 (2007).
6. Ljubimov, A. V. & Saghizadeh, M. Progress in corneal wound healing. *Prog Retin Eye Res*, doi: 10.1016/j.preteyeres.2015.07.002 (2015).
7. Crawford C. M., Igboeli O. A review of the inflammatory chorioretinopathies: the white dot syndrome. *ISRN Inflamm.* 2013; 2013: 783190.
8. Minos E., Barry R.J., Southworth S., et al. Birdshot chorioretinopathy: current knowledge and new concepts in pathophysiology, diagnosis, monitoring and treatment. *Orphanet J Rare Dis.* 2016; 11: 61.
9. Spaide R.F., Skerry J.E., Yannuzzi L.A., et al. Lack of the HLA-DR2 specificity in multifocal choroiditis and panuveitis. *Br J Ophthalmol* 1990; 74: 536–537.
10. Pohlmann D., Macedo S., Stübiger N., Pleyer U., Joussea A.M., Winterhalter S. Multimodal Imaging in Birdshot Retinchoroiditis. *Ocul Immunol Inflamm.* 2017; 25 (5): 621–632.
11. Pohlmann D., Vom Brocke G. A., Winterhalter S., Steuer T., Thees S., Pleyer U. Dexamethasone Inserts in Non-infectious Uveitis: A Single-Center Experience. *Ophthalmology.* 2018. pii: S0161-6420(17)31574-9.
12. Pohlmann D., Pleyer U., Joussea A.M., Winterhalter S. Optical Coherence Tomography Angiography in Comparison to other Multimodal Imaging Techniques in Punctate Inner Choroidopathy. *Br J Ophthalmol.* 2019 Jan; 103 (1): 60–66.
13. Essex R. W., Wong J., Fraser-Bell S. Punctate inner choroidopathy: clinical features and outcomes. *Arch Ophthalmol.* 2010; 128 (8): 982–7.
14. Joussea A.M., Murata T., Tsujikawa A., Kirchhof B., Bursell S.E., Adamis A.P. (2001) Leukocyte-mediated endothelial cell injury and death in the diabetic retina. *The American journal of pathology* 158: 147–152 DOI 10.1016/S0002-9440(10)63952-1.
15. Joussea A.M., Poulaki V., Le M.L., Koizumi K., Esser C., Janicki H., Schraermeyer U., Kociok N., Fauser S., Kirchhof B., Kern T.S., Adamis A.P. (2004) A central role for inflammation in the pathogenesis of diabetic retinopathy. *FASEB journal: official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology* 18: 1450–1452 DOI 10.1096/fj.03-1476fje
16. Joussea A.M., Poulaki V., Qin W., Kirchhof B., Mitsiades N., Wiegand S.J., Rudge J., Yancopoulos G.D., Adamis A.P. (2002) Retinal vascular endothelial growth factor induces intercellular adhesion molecule-1 and endothelial nitric oxide synthase expression and initiates early diabetic retinal leukocyte adhesion in vivo. *The American journal of pathology* 160: 501–509 DOI 10.1016/S0002-9440(10)64869-9.
17. Reichhart N., Crespo-Garcia S., Haase N., Golic M., Skosyrski S., Rubsam A., Herrspiegel C., Kociok N., Alenina N., Bader M., Dechend R., Strauß O., Joussea A.M. (2017) The TetO rat as a new translational model for type 2 diabetic retinopathy by inducible insulin receptor knock-down. *Diabetologia* 60: 202–211 DOI 10.1007/s00125-016-4115-0.
18. Genewsky A., Jost I., Busch C., Huber C., Stindl J., Skerka C., Zipfel P.F., Rohrer B., Strauß O. (2015) Activation of endogenously expressed ion channels by active complement in the retinal pigment epithelium. *Pflugers Arch. Oct;* 467 (10): 2179–91.
19. Busch C., Annamalai B., Abdusalamova K., Reichhart N., Huber C., Lin Y., Jo E.A.H., Zipfel P.F., Skerka C., Wildner G., Diedrichs-Möhrling M., Rohrer B., Strauß O. (2017) Anaphylatoxins Activate Ca²⁺, Akt/PI3-Kinase, and FOXO1/FoxP3 in the Retinal Pigment Epithelium. *Front Immunol.* Jun 15; 8: 703.
20. Reichhart N., Haase N., Crespo-Garcia S., Skosyrski S., Herrspiegel C., Kociok N., Fuchshofer R., Dillinger A., Poglitsch M., Müller D.N., Joussea A.M., Luft F.C., Dechend R., Strauß O. (2016) Hypertensive retinopathy in a transgenic angiotensin-based model. *Clin Sci (Lond).* Jul 1; 130 (13): 1075–88.

Prof. Antonia M. Joussea

Direktorin der Klinik für Augenheilkunde
 Charité – Universitätsmedizin Berlin
 Augustenburger Platz 1
 13353 Berlin
 Tel. 030 / 450554001
 Fax 030 / 450554900

KONTAKT

Das Tumormicroenvironment im Fokus: Identifizierung neuer therapeutischer Targets bei metastasierenden okulären Melanomen

NASRIN REFAIAN¹, DR. JOEL M. MOR¹, LARA GOESMANN¹,
DR. ALEXANDER C. ROKOHL¹, DR. KONRAD R. KOCH¹,
PROF. DR. LUDWIG HEINDL^{1,2}

**1 Zentrum für
Augenheilkunde,**
Universität zu Köln,
Medizinische Fakultät
und Uniklinik Köln

**2 CIO (Centrum für
Integrierte Onkologie)**
Aachen-Bonn-Köln-
Düsseldorf

Das maligne Melanom ist der häufigste primäre bösartige Tumor des Auges [1–8], wobei zwischen zwei Entitäten unterschieden wird. Das intraokuläre uveale Melanom (UM), welches in der Aderhaut, dem Ziliarkörper oder der Iris lokalisiert ist und das extraokuläre konjunktivale Melanom (KM), welches an der Augenoberfläche auftritt [4]. In Deutschland ist jährlich mit etwa 500 neuen UM und 100 neuen KM zu rechnen, jeweils mit einem Häufigkeitsgipfel in der 6. Lebensdekade [5, 6]. Trotz erfolgreicher Behandlung (chirurgisch oder radiotherapeutisch) des Primärtumors verstirbt nahezu jeder zweite Patient mit UM und fast jeder dritte Patient mit KM langfristig an Metastasen [4, 6]. Die Metastasierung erfolgt beim UM nahezu ausschließlich hämatogen mit starkem Tropismus zur Leber [4, 5], während das KM initial überwiegend lymphogen in die regionalen Lymphknoten streut [4, 6, 8]. Sowohl für das UM als auch das KM existieren gegenwärtig im

Falle einer Metastasierung keine klinisch greifenden Therapiemöglichkeiten [4–7]. Das *Tumormicroenvironment* spielt eine entscheidende Rolle in Entstehung und Progress der Erkrankung [9–13]. So begünstigt zum Beispiel eine begleitende Entzündung durch die Einwanderung von Immunzellen die Angiogenese und somit letztlich auch die Metastasierung [11]. Deshalb bedarf es eines besseren Verständnisses der genauen Zusammensetzung des *Tumormicroenvironments* sowie deren Interaktionen. Dies stellt die Grundlage dar, um Metastasierungsmechanismen zu verstehen und neue Therapiekonzepte zu entwickeln, die gezielt in solche Mechanismen eingreifen und dadurch das Überleben der Patienten signifikant verlängern können.

Ein entscheidender Faktor bei der Metastasierung ist die intra- und peritumorale Neubildung von Blut- und Lymphgefäßen (Angiogenese und Lymphangiogenese). Diese scheinen die Pforte darzustellen, in die Tumorzellen einbrechen, um in die Peripherie absiedeln zu können [14, 15]. Deshalb wird die Ausbildung neuer aus bereits bestehenden Lymphgefäßen (Lymphangiogenese) als erster Schritt in der lymphogenen Metastasierung verschiedener Tumoren angesehen [14]. Bei verschiedenen nicht- okulären Malignomen (u. a. malignes Melanom der Haut, kolorektales Adenokarzinom, Plattenepithelkarzinom von Larynx und Pharynx sowie des Uterus) konnte die peri- bzw. intratumorale Lymphangiogenese als ein entscheidender Risikofaktor für die Tumormetastasierung etabliert werden [16–20].

Auch im Bereich der Ophthalmoonkologie spielt die tumorale Lymphangiogenese eine entscheidende Rolle. So konnte die intraokuläre tumorassoziierte Lymphangiogenese als ein neuer prognostischer Parameter beim UM mit extraokulärem Tumorwachstum etabliert werden [10]. Der Nachweis intraokulärer Lymphgefäße bei Patienten mit UM und extraskleraler Ausdehnung war mit einem deutlich erhöhten Mortalitätsrisiko assoziiert [10]. Auch eine funktionelle Bedeutung konnte diesen intraokulären tumorassoziierten Lymphgefäßen zugewiesen werden, da sie Ziel einer Tumorzellinvasion sein können [9].

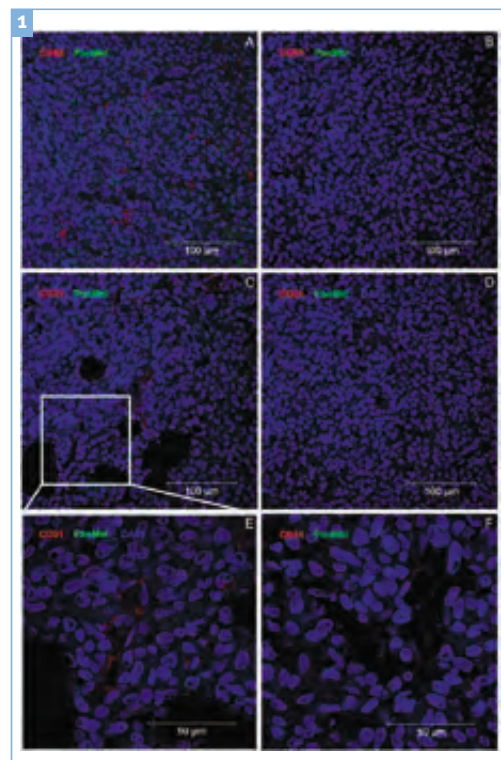


Abbildung 1

■ Konfokalmikroskopische Aufnahmen immunhistologischer Färbungen von Blutgefäßen und Immunzellen im Aderhautmelanom. **A)** Aderhautmelanom (grün = Melanoma Pan) mit Immunzellinfiltraten (rot = CD68-positive Makrophagen). **C&E)** Aderhautmelanom (grün = Melanoma Pan) mit Blutgefäßen (rot = CD31-positive Endothelzellen). **B,D&F)** jeweilige negativ Kontrollen.

Darüber hinaus konnte dargestellt werden, dass die intratumorale Lymphangiogenese beim KM signifikant mit bereits etablierten klinischen Risikofaktoren (z. B. palpebrale Lage, Tumordicke) sowie mit dem Auftreten von Lokalrezidiven, Lymphknoten- und Fernmetastasen assoziiert ist [21]. Der Prozess der Lymphangiogenese konnte zudem bereits in prämaligen Stadien beobachtet werden und korrelierte auch hier mit dem Fortschreiten hin zu einer malignen Entartung [22]. Diese Erkenntnisse bilden die Basis für die Empfehlung, die Lymphangiogenese jedes okulären Melanoms im Rahmen der primären Diagnostik zu quantifizieren. Neben diesem diagnostischen Zugewinn kann die tumorale Lymphangiogenese auch als potentieller Angriffspunkt für neue Therapien gesehen werden. Ein murines Bindehautmelanommodell wurde kürzlich an der Uniklinik Köln etabliert, welches aufgrund der Verwendung immunkompetenter Mäuse besonders für die Untersuchung und Modifikation des *Tumormicroenvironments* und der tumoralen Lymphangiogenese geeignet ist [23].

Tumoren stellen nicht nur die Masse aus proliferierenden Krebszellen dar. Stattdessen sind es komplexe Gewebe, in denen zum einen die genetisch veränderten proliferierenden malignen Zellen (Tumorzellen) und zum anderen normale Zelltypen, wie Immunzellen, spezifische Stromazellen, mesenchymale Stammzellen und Gefäße (Blut- und/

oder Lymphgefäße) vorhanden sind und einwandern (s. **Abb. 1**). Zudem spielen die Bestandteile der extrazellulären Matrix durch ihre Interaktionen mit den genannten Zelltypen eine wichtige Rolle. Die verschiedenen Zelltypen in dem komplexen Gewebe interagieren miteinander, rekrutieren weitere normale Zelltypen und aktivieren diese dann zu tumorassoziierten Zelltypen (s. **Abb. 2**). Das *Tumormicroenvironment* ist somit die zelluläre Umgebung, in der sich der Tumor entwickelt [11–13], [24–33].

Sekretierte Proteine können über die Aktivierung biologischer Signalwege zur Entstehung von Tumoren führen und den Krankheitsverlauf unterhalten. Des Weiteren können sie auch diagnostisch bei der Identifizierung und Charakterisierung von spezifischen Krankheitsbildern genutzt werden [12]. Die Metastasen-induzierende, tumorassoziierte (Lymph)angiogenese beruht auf der Wirkung pro(lymph)angiogener Wachstumsfaktoren, welche nachweislich einerseits von Tumorzellen selbst stammen, andererseits von Zellen des *Tumormicroenvironment* [34–37]. Jedes *Tumormicroenvironment* unterscheidet sich hinsichtlich der Größe und Zusammensetzung. Es wird zum Beispiel davon ausgegangen, dass die Art, Dichte und Lokalisation der Immunzellen Einfluss auf die Prognose eines bestimmten Tumors haben [38]. Daher ist es essentiell und bedeutend das jeweilige *Tumormicroenvironment* beim UM sowie auch beim KM und dessen

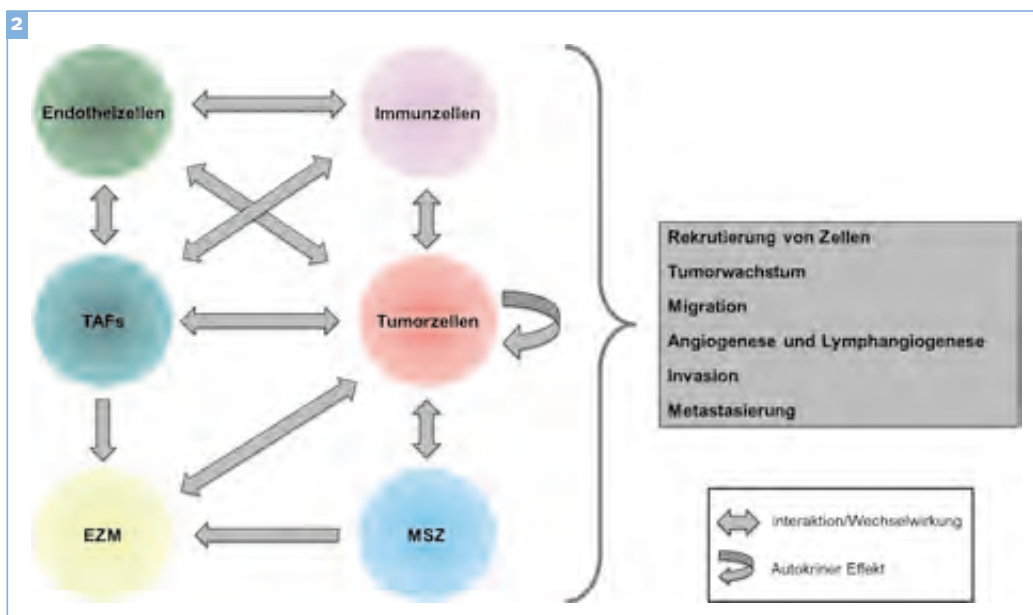


Abbildung 2

■ *Interaktionen des Tumormicroenvironments (TME): Tumorzellen, Immunzellen, Mesenchymale Stammzellen (MSZ), Extrazelluläre Matrix (EZM), Tumor-assoziierte Fibroblasten (TAFs) und Endothelzellen können durch die Expression und Sekretion von verschiedenen Faktoren (Wachstumsfaktoren, Zytokine, ECM-Proteine, Enzyme und Proteasen) miteinander interagieren. Dies kann zur Rekrutierung weiterer Zellen ins TME, einem verstärkten Tumorwachstum, einer erhöhten Migration, sowie zu Angiogenese und Lymphangiogenese, Invasion und Metastasierung führen. [25–33]*

jeweilige Sekretion von Proteinen im Detail zu untersuchen, um neue therapeutische Strategien zu entwickeln. Das Ziel wäre es, die tumorfördernde Tumorumgebung zu einer tumorbekämpfenden zu konvertieren und auf diese Art die Tumorprogression und Metastasierung zu verhindern.

LITERATUR

- Heindl L. M., Cursiefen C. [Conjunctival melanoma: a systemic disease: Novel surgical and adjuvant therapies]. *Ophthalmologie* 2015; 112: 890–891.
- Heindl L. M., Koch K. R., Schlaak M., Mauch C., Cursiefen C. [Adjuvant therapy and interdisciplinary follow-up care of conjunctival melanoma]. *Ophthalmologie* 2015; 112: 907–911.
- Damato B. E., Heimann H., Kalirai H., Coupland S. E. Age, survival predictors, and metastatic death in patients with choroidal melanoma: tentative evidence of a therapeutic effect on survival. *JAMA Ophthalmol* 2014; 132: 605–613.
- Kujala E., Tuomaala S., Eskelin S., Kivela T. Mortality after uveal and conjunctival melanoma: which tumour is more deadly? *Acta ophthalmologica* 2009; 87: 149–153.
- Lipski A. C., Lakotka N., Riechardt A. I., Willerding G. D., Heufelder J., Turkmen S., Keilholz U., Moser L., Jousseaume A. M. [Diagnosis of and therapy for choroidal melanoma]. *Klin Monbl Augenheilkd* 2013; 230: 1005–1019.
- Westekemper H., Schallenberg M., Tomaszewski A., Nuckel H., Sauerwein W., Meller D., Steuhl K. [Malignant epibulbar tumours: new strategies in diagnostics and therapy]. *Klin Monbl Augenheilkd* 2011; 228: 780–792.
- Metz C. H., Lohmann D., Zeschnigk M., Bornfeld N. [Uveal melanoma: current insights into clinical relevance of genetic testing]. *Klin Monbl Augenheilkd* 2013; 230: 686–691.
- Shields C. L., Markowitz J. S., Belinsky I., Schwartzstein H., George N. S., Lally S. E., Mashayekhi A., Shields J. A. Conjunctival melanoma: outcomes based on tumor origin in 382 consecutive cases. *Ophthalmology* 2011; 118: 389–395 e381-382.
- Heindl L. M., Hofmann T. N., Schrodil F., Holbach L. M., Kruse F. E., Cursiefen C. Intraocular lymphatics in ciliary body melanomas with extraocular extension: functional for lymphatic spread? *Archives of ophthalmology* 2010; 128: 1001–1008.
- Heindl L. M., Hofmann T. N., Adler W., Knorr H. L., Holbach L. M., Naumann G. O., Kruse F. E., Cursiefen C. Intraocular tumor-associated lymphangiogenesis a novel prognostic factor for ciliary body melanomas with extraocular extension? *Ophthalmology* 2010; 117: 334–342.
- Hanahan D., Weinberg R. A. The hallmarks of cancer. *Cell* 2000; 100: 57–70.
- Mbeunkui F., Johann D. J., Jr. Cancer and the tumor microenvironment: a review of an essential relationship. *Cancer chemotherapy and pharmacology* 2009; 63: 571–582.
- Whiteside T. L. The tumor microenvironment and its role in promoting tumor growth. *Oncogene* 2008; 27: 5904–5912.
- Stacker S. A., Achen M. G., Jussila L., Baldwin M. E., Alitalo K. Lymphangiogenesis and cancer metastasis. *Nat Rev Cancer* 2002; 2: 573–583.
- Streit M., Detmar M. Angiogenesis, lymphangiogenesis, and melanoma metastasis. *Oncogene* 2003; 22: 3172–3179.
- Dadras S. S., Paul T., Bertocchini J., Brown L. F., Muzikansky A., Jackson D. G., Ellwanger U., Garbe C., Mihm M. C., Detmar M. Tumor lymphangiogenesis: a novel prognostic indicator for cutaneous melanoma metastasis and survival. *Am J Pathol* 2003; 162: 1951–1960.
- Longatto-Filho A., Pinheiro C., Pereira S. M., Etlinger D., Moreira M. A., Jube L. F., Queiroz G. S., Baltazar F., Schmitt F. C. Lymphatic vessel density and epithelial D2-40 immunoreactivity in pre-invasive and invasive lesions of the uterine cervix. *Gynecol Oncol* 2007; 107: 45–51.
- Maula S. M., Luukkaa M., Grenman R., Jackson D., Jalkanen S., Ristamaki R. Intratumoral lymphatics are essential for the metastatic spread and prognosis in squamous cell carcinomas of the head and neck region. *Cancer Res* 2003; 63: 1920–1926.
- Padera T. P., Kadambi A., di Tomaso E., Carreira C. M., Brown E. B., Boucher Y., Choi N. C., Mathisen D., Wain J., Mark E. J., Munn L. L., Jain R. K. Lymphatic metastasis in the absence of functional intratumor lymphatics. *Science* 2002; 296: 1883–1886.
- Royston D., Jackson D. G. Mechanisms of lymphatic metastasis in human colorectal adenocarcinoma. *J Pathol* 2009; 217: 608–619.
- Heindl L. M., Hofmann-Rummelt C., Adler W., Bosch J. J., Holbach L. M., Naumann G. O., Kruse F. E., Cursiefen C. Prognostic significance of tumor-associated lymphangiogenesis in malignant melanomas of the conjunctiva. *Ophthalmology* 2011; 118: 2351–2360.
- Heindl L. M., Hofmann-Rummelt C., Adler W., Bosch J. J., Holbach L. M., Naumann G. O., Kruse F. E., Cursiefen C. Tumor-associated lymphangiogenesis in the development of conjunctival melanoma. *Investigative ophthalmology & visual science* 2011; 52: 7074–7083.
- Schlereth S. L., Iden S., Mescher M., Ksander B. R., Bosch J. J., Cursiefen C., Heindl L. M. A Novel Model of Metastatic Conjunctival Melanoma in Immune-Competent Mice. *Investigative ophthalmology & visual science* 2015; 56: 5965–5973.

24. Hanahan D., Weinberg R.A. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell* 2011; 144: 646–674.
25. Wang J., Li D., Cang H., Guo B. Crosstalk between cancer and immune cells: Role of tumor-associated macrophages in the tumor microenvironment. *Cancer medicine* 2019.
26. Mazzoldi E.L., Pavan S., Pilotto G., Leone K., Pagotto A., Frezzini S., Nicoletto M.O., Amadori A., Pasto A. A juxtacrine/paracrine loop between C-Kit and stem cell factor promotes cancer stem cell survival in epithelial ovarian cancer. *Cell death & disease* 2019; 10: 412.
27. Jang I., Beningo K.A. Integrins, CAFs and Mechanical Forces in the Progression of Cancer. *Cancers* 2019; 11.
28. Erdogan B., Webb D.J. Cancer-associated fibroblasts modulate growth factor signaling and extracellular matrix remodeling to regulate tumor metastasis. *Biochemical Society transactions* 2017; 45: 229–236.
29. Moren A., Bellomo C., Tsubakihara Y., Kardassis D., Mikulits W., Heldin C.H., Moustakas A. LXRalpha limits TGFbeta-dependent hepatocellular carcinoma associated fibroblast differentiation. *Oncogenesis* 2019; 8: 36.
30. Zi F., He J., He D., Li Y., Yang L., Cai Z. Fibroblast activation protein alpha in tumor microenvironment: recent progression and implications (review). *Molecular medicine reports* 2015; 11: 3203–3211.
31. Saito K., Sakaguchi M., Maruyama S., Iioka H., Putranto E.W., Sumardika I.W., Tomonobu N., Kawasaki T., Homma K., Kondo E. Stromal mesenchymal stem cells facilitate pancreatic cancer progression by regulating specific secretory molecules through mutual cellular interaction. *Journal of Cancer* 2018; 9: 2916–2929.
32. Li X., Bu W., Meng L., Liu X., Wang S., Jiang L., Ren M., Fan Y., Sun H. CXCL12/CXCR4 pathway orchestrates CSC-like properties by CAF recruited tumor associated macrophage in OSCC. *Experimental cell research* 2019; 378: 131–138.
33. Liang M., Zhang P., Fu J. Up-regulation of LOX-1 expression by TNF-alpha promotes trans-endothelial migration of MDA-MB-231 breast cancer cells. *Cancer letters* 2007; 258: 31–37.
34. Ferrara N. Role of vascular endothelial growth factor in physiologic and pathologic angiogenesis: therapeutic implications. *Semin Oncol* 2002; 29: 10–14.
35. Karkkainen M.J., Petrova T.V. Vascular endothelial growth factor receptors in the regulation of angiogenesis and lymphangiogenesis. *Oncogene* 2000; 19: 5598–5605.
36. Schlereth S.L., Refaian N., Iden S., Cursiefen C., Heindl L.M. Impact of the prolymphangiogenic crosstalk in the tumor microenvironment on lymphatic cancer metastasis. *Biomed Res Int* 2014; 2014: 639058.
37. Schoppmann S.F., Birner P., Stockl J., Kalt R., Ullrich R., Caucig C., Kriehuber E., Nagy K., Alitalo K., Kerjaschki D. Tumor-associated macrophages express lymphatic endothelial growth factors and are related to peritumoral lymphangiogenesis. *Am J Pathol* 2002; 161: 947–956.
38. Galon J., Costes A., Sanchez-Cabo F., Kirilovsky A., Mlecnik B., Lagorce-Page C., Tosolini M., Camus M., Berger A., Wind P., Zinzindohoue F., Bruneval P., Cugnenc P.H., Trajanoski Z., Fridman W.H., Pages F. Type, density, and location of immune cells within human colorectal tumors predict clinical outcome. *Science* 2006; 313: 1960–1964.



Univ.-Prof. Dr. med. Ludwig Heindl hat die ärztliche Leitung des Schwerpunkts für Ophthalmoonkologie und Ophthalmoplastische Chirurgie sowie der durch die Deutsche Forschungsgemeinschaft (DFG) geförderten Arbeitsgruppe Experimentelle Ophthalmologische Onkologie (Cologne Ophthalmic Oncology Center, COOC) an der der Universitätsaugenklinik zu Köln inne.

Univ.-Prof. Dr. med. Ludwig M. Heindl

Leitung des Schwerpunkts für Ophthalmoonkologie und Ophthalmoplastische Chirurgie
Zentrum für Augenheilkunde
Universität zu Köln
Kerpener Str. 62
50937 Köln
Tel. 0221 / 478-4300
E-Mail: ludwig.heindl@uk-koeln.de

KONTAKT



Einfluss der Blutdruckregulation durch die Renin-Angiotensin-Aldosteron-Kaskade auf das diabetische Makulaödem

PROF. MUDR. MATUS REHAK¹, DR. MED. CATHARINA BUSCH¹,
PROF. DR. MED. PETER WIEDEMANN¹

1 Klinik und Poliklinik für Augenheilkunde, Universitätsklinikum Leipzig AÖR

Das diabetische Makulaödem, charakterisiert als Flüssigkeitsansammlung im Bereich der Makula, ist die häufigste Ursache einer Visusminderung im erwerbsfähigen Alter [1]. Es betrifft ca. 20 Millionen Patienten weltweit [1, 2]. Durch die rasant steigende Prävalenz der Diabetiker weltweit ist es mit einem exponentiellen Anstieg dieser Erblindungsursache auch in den Entwicklungsländern zu rechnen.

Pathophysiologisches Charakteristikum des DMÖ ist ein Zusammenbruch der Blut-Retina-Schranke (BRS), welche durch Gefäßendothel- und retinale Pigmentepithelzellen (RPE) gebildet wird. Aufgrund seiner gefäßpermeabilisierenden und pro-angiogenetischen Wirkung ist Vascular Endothel Growth Factor (VEGF) das Schlüsselmolekül in der Pathophysiologie des DMÖ [4]. Zusätzlich sind weitere inflammatorische Faktoren, wie Interleukin (IL)-1 β und IL-6 an der Formation des DMÖ beteiligt [5, 6]. Neben dem Zusammenbruch der BRS, führt eine verminderte retinale Flüssigkeitsresorption durch retinale Gliazellen (Müllerzellen) und des RPE zur Ansammlung von extrazellulärer Flüssigkeit in der Makula [7]. Beide Zelltypen sind charakterisiert durch die Expression multipler Ionen- und Wasser-

kanäle (Natrium-, Kaliumkanäle, Aquaporine). Im Rahmen eines Makulaödems kommt es typischerweise zu einer Dysregulation des transglialen Wassertransports u.a. bedingt durch eine verminderte Expression von Ionenkanälen mit konsekutiver Schwellung retinaler Müllerzellen (**Abbildung 1**).

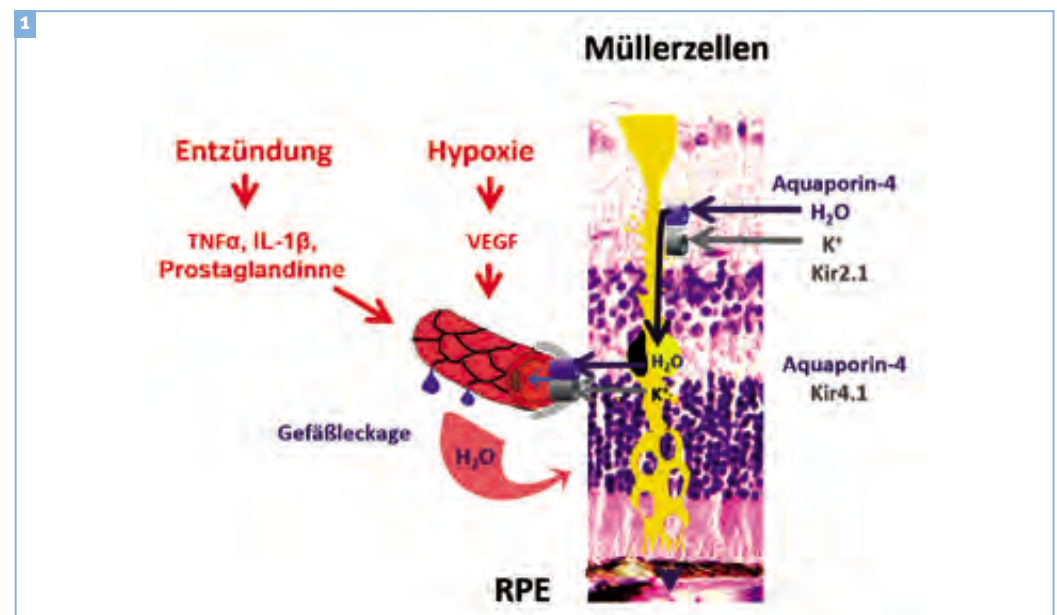
Zur Behandlung eines DMÖ stehen intravitreale Injektionen mit anti-VEGF Substanzen oder Steroiden zur Verfügung. Trotz günstiger Gesamtergebnisse der intravitrealen Therapie in den Zulassungsstudien, variiert das individuelle Ansprechen auf diese Behandlung (sowohl mit anti-VEGF als auch Steroiden) unter den einzelnen Patienten deutlich, bis hin zum substanziellen Visusverlust trotz intensiver Therapie [8–10]. Warum manche Patienten gut, und manche nur partiell oder gar nicht auf eine intravitreale Therapie ansprechen, ist bisher nur unzureichend verstanden.

Inwiefern auch metabolische Faktoren, wie etwa die Einstellung des Blutdruckes, Einfluss auf das individuelle Therapieansprechen haben, ist bisher nur unzureichend verstanden. Bisherige Studien über prädiktive Parameter in der Behandlung des

Abbildung 1

Pathophysiologie der Makulaödems

Müllerzellen regulieren die retinale Wasserhomöostase, RPE Zellen die subretinale Wasserhomöostase. Der Wassertransport durch Aquaporinkanäle (Aqp) ist gekoppelt mit dem Transport von K⁺ (Kir-Kanäle) und Cl⁻. Kommt es nun zu einer Suppression der Kir- und Aqp-Kanäle, führt dies zu einer osmotischen Schwellung der Müllerzellen und zur Ansammlung extrazellulärer Flüssigkeit (zystoides Ödem). Eine Netzhauthypoxie und Inflammation führen zur Expression von VEGF und zahlreichen weiteren Mediatoren (Interleukinen, TNF- α etc.) die den Zusammenbruch der BRS und eine Gefäßleckage verursachen.



DMÖ haben sich zumeist auf die Rolle einzelner klinischer oder bildmorphologischer Parameter konzentriert [11]. Bedenkt man jedoch die Komplexität der Erkrankung scheint ein multimodaler Ansatz mit Einschluss von funktionellen, anatomischen und möglichst auch systemischen Faktoren erforderlich.

An der Augenklinik des Universitätsklinikums Leipzig haben wir im Jahr 2018 eine prospektive longitudinale Beobachtungsstudie (LIPSIA) initiiert, die den Effekt systemischer Faktoren auf das Therapieansprechen bei Patienten mit DMÖ unter Anti-VEGF-Therapie untersucht. Zusätzlich wird in einer retrospektiven Kohortenstudie im Rahmen einer bereits etablierten internationalen Kooperation (International Retina Group) ein umfassender Datensatz über bereits identifizierte prädiktive Faktoren erhoben um unser Verständnis zum Wert einzelner Prädiktoren zu verbessern.

Die ersten Ergebnisse der LIPSIA Studie zeigten, dass der mittlere systolische Blutdruck bei 46 von 55 (83 %) Patienten höher als 140 mmHg betrug und damit nicht ausreichend eingestellt war. Bei 56 % der Patienten lag der mittlere systolische Blutdruckwert über 160 mmHg. Dagegen zeigte sich in dieser Kohorte, dass die Diabetes-Einstellung zwar nicht optimal, jedoch die Abweichung von empfohlenem HbA_{1c}-Wert geringer (mittlerer HbA_{1c} lag bei 7,2 %) als bei der Blutdruckeinstellung war. Diese Beobachtung unterstützt die Hypothese, dass der Blutdruck eine wesentliche Rolle bei der Entstehung und Resorption des Makulaödems spielt.

Neben seiner systemischen Rolle in Regulation von Blutdruck- und Flüssigkeitshaushalt, existiert ferner ein lokales okuläres Renin-Angiotensin-Aldosteron Systems (RAAS), welches u.a. an der retinalen Blutfluss- und Flüssigkeitsregulation beteiligt ist [12]. Verschiedene Studien lieferten bereits Hinweise dafür, dass das lokale RAAS eine entscheidende Rolle in der Pathogenese des diabetischen Makulaödems spielen könnte [13]. Lokal produziertes Angiotensin scheint neben dem bekannten vasoaktiven Effekt, u.a. auch eine pro-angiogene Wirkung zu haben [14]. Der lokale Effekt von Aldosteron auf die Netzhaut verbleibt aber unerforscht.

Ferner ist noch nicht abschließend geklärt, inwiefern das systemische und das lokale RAAS miteinander in Verbindung stehen. Die EUCLID Studie [15] konnte zeigen, dass eine systemische Blockade des RAAS durch Angiotensin-Converting-Enzym (ACE)-Inhibi-

toren wie Lisinopril die Progression der diabetischen Retinopathie bedeutend verlangsamen kann. Es wurde dabei vermutet, dass der Nutzen von ACE-Inhibitoren nicht allein durch eine alleinige Blutdruckregulation bedingt ist [16]. Tatsächlich konnten Studien zeigen, dass durch eine systemische RAAS-Hemmung auch die intravitreale Konzentration von Angiotensin II (ATII) und VEGF beeinflusst wird [17].

Auf zellulärer Ebene spielen RPE Zellen und Müllerzellen eine tragende Rolle bei der Regulation der retinalen Hydratation, u.a. durch die Expression verschiedener Wasser- und Ionenkanäle [7].

In Zellkulturversuchen untersuchen wir den Einfluss einer Hyperglykämie und Hypoxie (wie sie im Rahmen der diabetischen Retinopathie auftritt), auf das lokale RAAS sowie den Einfluss eines hypoxiealterierten RAAS auf RPE und Müllerzellen.

Erste Untersuchungen zeigten, dass die Expression mehrerer Schlüsselmoleküle, wie VEGF-A, VEGF-Rezeptor, Angiotensin-Converting-Enzym, Mineralo- und Glukokortikoidrezeptor, Aldosereduktase und Ionen- und Wasserkanälen, wie Aquaporine, in humanen RPE- und Müllerzellen-Zellkulturen (MIOM₁) durch eine Hyperglykämie, Hypoxie und Anwesenheit von Aldosteron bzw. Angiotensin II verändert wird. So zeigte sich in MZ eine signifikante Reduktion der Angiotensin-Rezeptor-Expression sowie eine signifikante Induktion der VEGF-A Expression durch eine Hypoxie. Die ACE-Expression wurde durch eine Hyperglykämie reduziert, durch eine Hypoxie + Hyperglykämie jedoch signifikant induziert. In RPE-Zellen zeigte sich eine signifikante Reduktion der Aquaporin 5 Expression sowie eine signifikante Induktion der VEGF-A und Aldosereduktase durch eine Hypoxie.

In weiteren Versuchen soll weiterführend der Einfluss einer Hypoxie und Hyperglykämie auf die Expression von Schlüsselmolekülen des lokalen RAAS in retinalen Endothelzellen untersucht werden.

LITERATUR

1. Tan G.S., Cheung N., Simo R., Cheung G.C., Wong T.Y. Diabetic macular oedema. *The lancet. Diabetes & endocrinology*. 2017; 5 (2): 143–155.
2. Yau J.W., Rogers S.L., Kawasaki R., et al. Global prevalence and major risk factors of diabetic retinopathy. *Diabetes care*. 2012; 35 (3): 556–564.

3. Aiello L.P., Bursell S.E., Clermont A., et al. Vascular endothelial growth factor-induced retinal permeability is mediated by protein kinase C in vivo and suppressed by an orally effective beta-isoform-selective inhibitor. *Diabetes*. 1997; 46 (9): 1473–1480.
4. Park S.P., Ahn J.K. Changes of aqueous vascular endothelial growth factor and interleukin-6 after intravitreal triamcinolone for branch retinal vein occlusion. *Clinical & experimental ophthalmology*. 2008; 36 (9): 831–835.
5. Noma H., Funatsu H., Mimura T., Harino S., Hori S. Vitreous levels of interleukin-6 and vascular endothelial growth factor in macular edema with central retinal vein occlusion. *Ophthalmology*. 2009; 116 (1): 87–93.
6. Mori F., Hikichi T., Takahashi J., Nagaoka T., Yoshida A. Dysfunction of active transport of blood-retinal barrier in patients with clinically significant macular edema in type 2 diabetes. *Diabetes care*. 2002; 25 (7): 1248–1249.
7. Bringmann A., Pannicke T., Grosche J., et al. Muller cells in the healthy and diseased retina. *Progress in retinal and eye research*. 2006; 25 (4): 397–424.
8. Gillies M.C., Lim L.L., Campain A., et al. A randomized clinical trial of intravitreal bevacizumab versus intravitreal dexamethasone for diabetic macular edema: the BEVORDEX study. *Ophthalmology*. 2014; 121 (12): 2473–2481.
9. Gonzalez V.H., Campbell J., Holekamp N.M., et al. Early and Long-Term Responses to Anti-Vascular Endothelial Growth Factor Therapy in Diabetic Macular Edema: Analysis of Protocol I Data. *American journal of ophthalmology*. 2016; 172: 72–79.
10. Pearson P.A., Comstock T.L., Ip M., Callanan D., Morse L.S., Ashton P., Levy B., Mann E.S., Elliott D. Fluocinolone acetonide intravitreal implant for diabetic macular edema: a 3-year multicenter, randomized, controlled clinical trial. *Ophthalmology*. 2011 Aug; 118 (8): 1580–7.
11. Zur D., Igllicki M., Busch C., et al. Optical Coherence Tomography Biomarkers as Functional Outcome Predictors in Diabetic Macular Edema Treated with Dexamethasone Implant. *Ophthalmology*. 2017.
12. Strain W.D., Chaturvedi N. The renin-angiotensin-aldosterone system and the eye in diabetes. *Journal of the renin-angiotensin-aldosterone system: JRAAS*. 2002; 3 (4): 243–246.
13. Funatsu H., Yamashita H., Nakanishi Y., Hori S. Angiotensin II and vascular endothelial growth factor in the vitreous fluid of patients with proliferative diabetic retinopathy. *The British journal of ophthalmology*. 2002; 86 (3): 311–315.
14. Fernandez L.A., Twickler J., Mead A. Neovascularization produced by angiotensin II. *The Journal of laboratory and clinical medicine*. 1985; 105 (2): 141–145.
15. Chaturvedi N., Sjolie A.K., Stephenson J.M., et al. Effect of lisinopril on progression of retinopathy in normotensive people with type 1 diabetes. The EUCLID Study Group. *EURODIAB Controlled Trial of Lisinopril in Insulin-Dependent Diabetes Mellitus*. *Lancet*. 1998; 351 (9095): 28–31.
16. Group ACEliDNT. Should all patients with type 1 diabetes mellitus and microalbuminuria receive angiotensin-converting enzyme inhibitors? A meta-analysis of individual patient data. *Annals of internal medicine*. 2001; 134 (5): 370–379.
17. Hogeboom von Buggenum I.M., Polak B.C., Reichert-Thoen J.W., de Vries-Knoppert W.A., van Hinsbergh V.W., Tangelder G.J. Angiotensin converting enzyme inhibiting therapy is associated with lower vitreous vascular endothelial growth factor concentrations in patients with proliferative diabetic retinopathy. *Diabetologia*. 2002; 45 (2): 203–209.



Herr Prof. Dr. Matus Rehak, Ph.D., FEBO ist geschäftsführender Oberarzt an der Klinik und Poliklinik für Augenheilkunde am Universitätsklinikum Leipzig AöR. Zu seinen Schwerpunkten gehört die gesamte konservative und chirurgische Retinologie mit einem besonderen Fokus

auf die Behandlung von retinalen Venenverschlüssen, diabetischer Retinopathie und intraokulären Tumoren. Nach seinem Studium an der Karls-Universität zu Prag und Charité in Berlin absolvierte er seine Facharztausbildung an der Augenklinik der Universität in Olomouc, Tschechien (Direktor: Prof. Dr. J. Řehak; 2005) und der Universität Leipzig (Direktor: Prof. Dr. Peter Wiedemann; 2006–2010). Im Jahr 2012 habilitierte er sich mit dem Thema »Retinaler Venenverschluss – Pathogenese und aktuelle Therapie«. Zwischen 2014 und 2016 war er als Oberarzt an der Augenklinik Charité, Campus Benjamin Franklin in Berlin tätig. Seine Berufung an die Juniorprofessur für Spezielle Augenheilkunde der Universität Leipzig erfolgte im Oktober 2016.

KONTAKT



Prof. MUDr. Matus Rehak, Ph.D., FEBO
Geschäftsführender Oberarzt
Klinik und Poliklinik für Augenheilkunde
Liebigstraße 10–14
04103 Leipzig
Tel. 0341 / 97-21650
Fax 0341 / 97-21659
E-Mail:
Matus.rehak@medizin.uni-leipzig.de

Einfluss der Chronobiologie auf OCTA-Perfusionsanalysen der Aderhaut

DR. FELIX ROMMEL^{1, 2}, PRIV.-DOZ. DR. VINODH KAKKASSERY¹,
PROF. DR. SALVATORE GRISANTI¹, PRIV.-DOZ. DR. MAHDY RANJBAR^{1, 2}

Veränderungen und Pathologien im Bereich der Aderhaut spielen eine entscheidende Rolle bei der Pathogenese zahlreicher Makulaerkrankungen. Bisher gelten die invasive Fluoreszein- (FLA) und Indocyaningrünangiographie (ICGA) als Goldstandard zur Darstellung und Beurteilung der retinalen und choroidalen Gefäße. Mit der rasanten technischen Weiterentwicklung der OCTA ist mittlerweile eine nicht-invasive, in vivo Quantifizierung der retinalen und choroidalen Perfusion in nahezu Echtzeit möglich. Hierdurch bietet sich erstmals die Möglichkeit anhand von repetitiven OCTA-Untersuchungen die Chronobiologie der Netz- und Aderhautperfusion zu bestimmen, ohne das Risiko von Nebenwirkungen [1, 2]. Ein weiterer Vorteil der OCTA ist die dreidimensionale Darstellung von Volumenscans. Mittels beliebiger Segmentierung der B-Scans lässt sich der Blutfluss schichtauflösend darstellen und vaskuläre Veränderungen exakt lokalisieren [3]. Dadurch lassen sich mittels OCTA, im Gegensatz zur FLA und ICGA, sogar gezielt die Substrukturen der Aderhaut, die Choriokapillaris, die Sattler-Schicht und die Haller-Schicht, einzeln darstellen [4, 5].

Das Volumen der Aderhaut ist abhängig von zahlreichen Faktoren wie dem Alter, der Achsenlänge

und dem Geschlecht [6]. Eine entscheidende Rolle bei Untersuchungen der Aderhaut spielt dabei jedoch auch der Zeitpunkt der Analyse. Beispielsweise nimmt die subfoveale Aderhautdicke während des Tagesverlaufes linear ab, um über Nacht zur Ausgangsdicke zurückzukehren [7, 8]. Bei Betrachtung der Aderhautsubstrukturen zeigt sich, dass insbesondere die Sattler-Schicht für diese Tagesschwankungen verantwortlich ist [5].

Die erste Studie, die Tagesschwankungen der Aderhautperfusion mittels OCTA untersuchte, beschränkte sich auf die Analyse der Choriokapillaris für lediglich zwei Untersuchungszeitpunkte (09:00, 18:00). Es konnte analog zur signifikant abnehmenden Aderhautdicke eine linear abnehmende Perfusion der Choriokapillaris gezeigt werden [9].

Unsere OCTA-Arbeitsgruppe untersuchte den Einfluss einer idiopathischen epiretinalen Gliose auf die Chronobiologie der Aderhautdicke und -perfusion [10]. Die epiretinale Gliose bewirkt sowohl einen vertikalen Zug auf die Netzhaut mit einer konsekutiven Dickenzunahme als auch eine tangential Kraftwirkung, die eine horizontale Verzerrung der Netzhaut mit seinen Gefäßen verursacht [11]. Wenige Arbeitsgruppen untersuchten bisher

1 Klinik für Augenheilkunde
Universität zu Lübeck

2 Laboratory for Angiogenesis & Ocular Cell Transplantation
Universität zu Lübeck

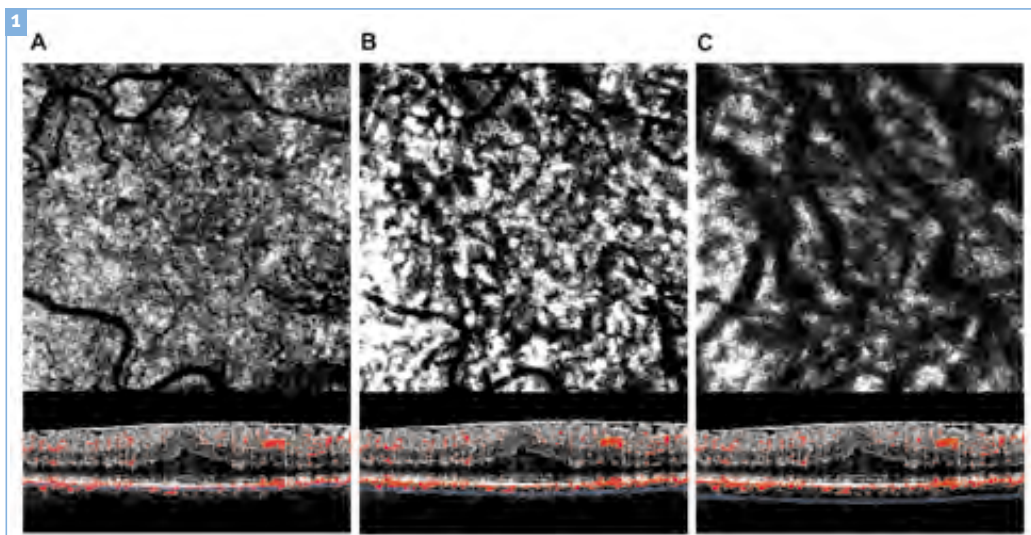
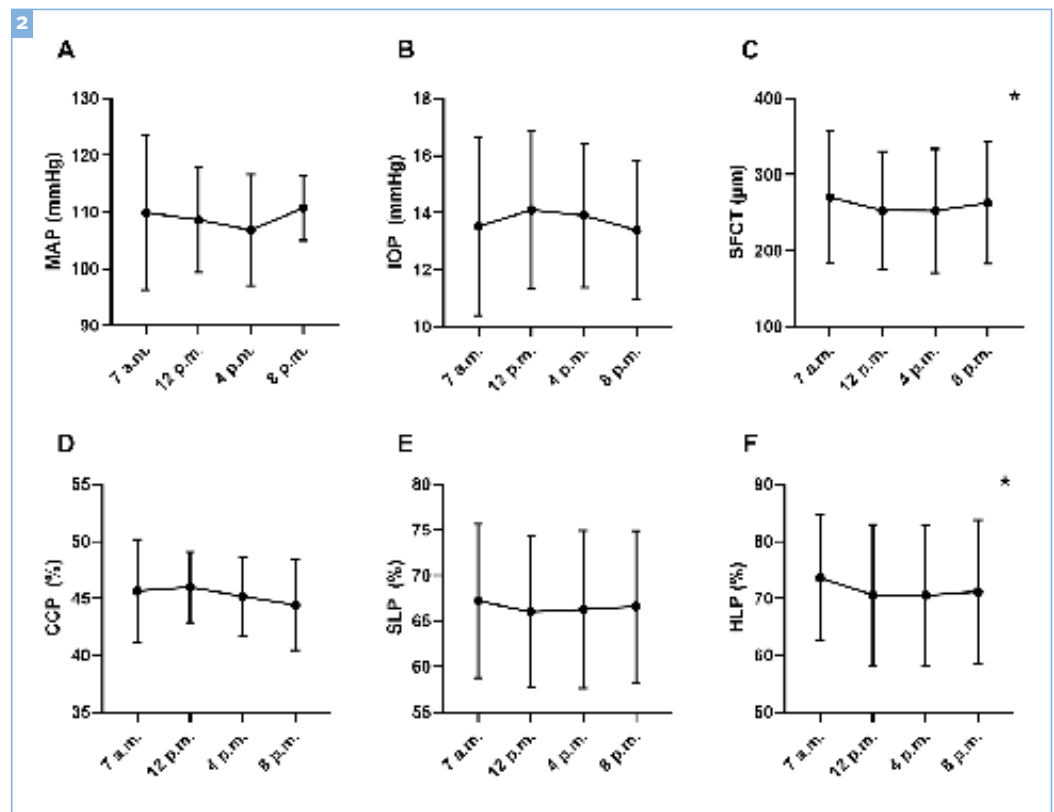


Abbildung 1

■ OCTA der Aderhaut bei epiretinaler Gliose. **A:** Segmentierung der Choriokapillaris mit dem resultierenden Angiogramm. **B:** Segmentierung der Sattler-Schicht mit dem resultierenden Angiogramm. **C:** Segmentierung der Haller-Schicht mit dem resultierenden Angiogramm.

Abbildung 2

■ Analyse von Tages-schwankungen (Mittelwerte mit Standardabweichung) bei Augen mit epiretinaler Gliose. MAP = mittlerer arterieller Blutdruck (A), IOP = Augeninnendruck (B), SFCT = subfoveale Aderhautdicke (C), CCP = Choriokapillarisperfusion (D), SLP = Perfusion der Sattler-Schicht (E), HLP = Perfusion der Haller-Schicht (F). * markiert statistische Signifikanz



den Einfluss einer epiretinalen Gliose auf die Aderhaut. Mittels OCTA konnte bereits gezeigt werden, dass Augen mit einer epiretinalen Gliose im Vergleich zum Partnerauge eine verminderte Perfusion der Choriokapillaris aufweisen [12]. Doch wurden in dieser Arbeit tageszeitliche Einflüsse nicht berücksichtigt. Das Ziel unserer Arbeit war die Quantifizierung der Perfusion der unterschiedlichen Aderhautsubstrukturen im Tagesverlauf unter dem Einfluss einer epiretinalen Gliose (s. **Abb. 1**). 21 Augen von 21 Patienten mit symptomatischer, operationswürdiger epiretinaler Gliose wurden für die prospektive Beobachtungsstudie rekrutiert und an vier verschiedenen Tageszeitpunkten (07:00, 12:00, 16:00, 20:00) mittels OCTA untersucht. Signifikante Tagesschwankungen konnten für die Aderhautdicke ($p=0,008$) und die Perfusion der Haller-Schicht ($p=0,001$) demonstriert werden. Für die Perfusion von Choriokapillaris und Sattler-Schicht sowie für den Augeninnendruck und den mittleren arteriellen Blutdruck konnte keine signifikante Chronobiologie nachgewiesen werden (s. **Abb. 2**).

Zusammenfassend deuten die erhobenen Daten darauf hin, dass die epiretinale Gliose einen Einfluss auf die physiologischen Tagesschwankungen der Aderhautdicke und -perfusion nimmt. Weitere Untersuchungen sind erforderlich um zu eruieren, ob möglicherweise die Gefäß- und Perfusionsänderungen in der Aderhaut durch die Gliose eine Rolle in ihrer Pathogenese spielen [13]. Für zukünftige longitudinale OCTA-Studien sollte zwingend die

Chronobiologie der Aderhaut beachtet werden und Follow-up Untersuchungen möglichst zur selben Tageszeit erfolgen.

LITERATUR

- Holz F.G., Krohne T.U. [New perspectives in retinal imaging with OCT angiography]. *Ophthalmologe*. 2016 Jan; 113 (1): 4–5.
- Siegfried F., Rommel F., Rothe M., Brinkmann M.P., Sochurek J.A.M., Freitag J., et al. Evaluating diurnal changes in choroidal sublayer perfusion using optical coherence tomography angiography. *Acta Ophthalmol*. 2019 May 14.
- Rommel F., Siegfried F., Kurz M., Brinkmann M.P., Rothe M., Rudolf M., et al. Impact of correct anatomical slab segmentation on foveal avascular zone measurements by optical coherence tomography angiography in healthy adults. *J Curr Ophthalmol*. 2018 Jun; 30 (2): 156–60.
- Nicolò M., Rosa R., Museffi D., Musolino M., Sacchegiani M., Traverso C.E. Choroidal Vascular Flow Area in Central Serous Chorioretinopathy Using Swept-Source Optical Coherence Tomography Angiography. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2017 01; 58 (4): 2002–10.
- Gabriel M., Esmaeelpour M., Shams-Mafi F., Hermann B., Zabihian B., Drexler W., et al. Mapping diurnal changes in choroidal, Haller's and Sattler's layer thickness using 3-dimensional 1060-nm optical coherence tomography. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 2017 Oct; 255 (10): 1957–63.
- Barteselli G., Chhablani J., El-Emam S., Wang H., Chuang J., Kozak I., et al. Choroidal volume variations

- with age, axial length, and sex in healthy subjects: a three-dimensional analysis. *Ophthalmology*. 2012 Dec; 119 (12): 2572–8.
7. Tan C.S., Ouyang Y., Ruiz H., Sadda S.R. Diurnal variation of choroidal thickness in normal, healthy subjects measured by spectral domain optical coherence tomography. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2012 Jan 25; 53 (1): 261–6.
 8. Usui S., Ikuno Y., Akiba M., Maruko I., Sekiryu T., Nishida K., et al. Circadian changes in subfoveal choroidal thickness and the relationship with circulatory factors in healthy subjects. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2012 Apr 24; 53 (4): 2300–7.
 9. Sarwar S., Hassan M., Soliman M.K., Halim M.S., Sadiq M.A., Afridi R., et al. Diurnal variation of choriocapillaris vessel flow density in normal subjects measured using optical coherence tomography angiography. *Int J Retina Vitreous*. 2018; 4: 37.
 10. Rommel F., Siegfried F., Sochurek J.A.M., Rothe M., Brinkmann M.P., Kurz M., et al. Mapping diurnal variations in choroidal sublayer perfusion in patients with idiopathic epiretinal membrane: an optical coherence tomography angiography study. *International Journal of Retina and Vitreous*. 2019 May 21; 5 (1): 12.
 11. Nelis P., Alten F., Clemens C.R., Heiduschka P., Eter N. Quantification of changes in foveal capillary architecture caused by idiopathic epiretinal membrane using OCT angiography. *Graefes Archive for Clinical and Experimental Ophthalmology*. 2017 Jul; 255 (7): 1319–24.
 12. Yu Y., Teng Y., Gao M., Liu X., Chen J., Liu W. Quantitative Choriocapillaris Perfusion Before and After Vitrectomy in Idiopathic Epiretinal Membrane by Optical Coherence Tomography Angiography. *Ophthalmic Surg Lasers Imaging Retina*. 2017 01; 48 (11): 906–15.
 13. Michalewska Z., Michalewski J., Adelman R.A., Zawisła E, Nawrocki J. Choroidal thickness measured with swept source optical coherence tomography before and after vitrectomy with internal limiting membrane peeling for idiopathic epiretinal membranes. *Retina (Philadelphia, Pa)*. 2015 Mar; 35 (3): 487–91.

Priv.-Doz. Dr. Mahdy Ranjbar, Jahrgang 1984, ist seit 2016 als stellv. Klinikdirektor und leitender Oberarzt an der Univ.-Augenklinik Lübeck tätig. Dr. Ranjbar studierte Medizin an der Freiburger Albert-Ludwigs-Universität und promovierte dort zum Thema »Gezielte photodynamische Therapie mit in kationischen Liposomen enkapsuliertem Verteporfin im Laser-CNV-Mausmodell«. Nach seiner Approbation zum Arzt im Jahr 2010 begann er seine Facharzt-

ausbildung an der Univ.-Augenklinik Lübeck und erhielt hier 2015 seine Anerkennung als Facharzt und im Jahr 2018 die *Venia legendi* für das Fach Augenheilkunde. Der wissenschaftliche Schwerpunkt seiner Arbeitsgruppe liegt zum einen in dem Einsatz stammzellbasierter Therapien für das Auge sowie zum anderen in dem Verständnis und der Behandlung pathophysiologischer Angiogenese.



Dr. Felix Rommel, Jahrgang 1990, ist seit 2016 als Assistenzarzt an der Univ.-Augenklinik Lübeck unter der Leitung von Prof. Dr. Salvatore Grisanti tätig. Das Studium der Humanmedizin absolvierte er an der Medizinischen Hochschule Hannover und sammelte erste Erfahrungen in der Ophthalmologie während seines Praktischen Jahres unter der Betreuung von Prof. Dr. Carsten Framme. Nach seiner Approbation zum Arzt folgte die Promotion zum Dr. med. mit dem Thema »Mechanische Rekanalisation beim ischämischen Schlaganfall mittels Stent-Retriever« in der Neuroradiologie der Medizinischen Hochschule Hannover. Seit dem Beginn seiner

klinischen Weiterbildung an der Univ.-Augenklinik Lübeck liegen seine Forschungsschwerpunkte auf der Diagnostik retinaler Erkrankungen mittels OCT und OCT-Angiographie unter der Betreuung von Priv.-Doz. Dr. Mahdy Ranjbar.



Dr. Felix Rommel

Klinik für Augenheilkunde
UKSH – Campus Lübeck
Ratzeburger Allee 160
23538 Lübeck
Tel. 0451 / 500-43952
E-Mail: felix.rommel@uksh.de

KONTAKT



Diagnostik und Therapie des akuten Zentralarterienverschlusses

PRIV.-DOZ. DR. MAXIMILIAN SCHULTHEISS¹, DR. ROBERT KROMER¹,
ALEXANDER STEINHORST¹, PROF. DR. MARTIN SPITZER¹

**1 Klinik und Poliklinik
für Augenheilkunde,
Universitätsklinikum
Hamburg-Eppendorf**

Der akute retinale Zentralarterienverschluss (ZAV) stellt einen ophthalmologischen Notfall dar, der sich in einem plötzlichen und massiven Visusverlust äußert. Aus pathophysiologischer Sicht lassen sich die häufigeren nicht-arteriitischen ZAVs (NA-ZAV, 95 %) und die arteriitischen ZAVs (A-ZAV, 5 %) unterscheiden. Die Prognose der Sehkraft ist in den meisten Fällen der NA-ZAVs äußerst schlecht. Die schnelle Wiederherstellung der retinalen Perfusion ist entscheidend für den Erhalt der Sehkraft. Aufgrund mangelnder Datenlage, können aktuell keine evidenzbasierten Handlungsempfehlungen bezüglich einer effektiven Therapie gegeben werden. Der NA-ZAV stellt daher seit über 150 Jahren nach Erstbeschreibung durch von Graefe (1859) noch immer ein Dilemma in der klinischen Behandlungspraxis dar.

DIE INTRAVENÖSE LYSE THERAPIE – EINE MÖGLICHE BEHANDLUNGSOPTION

Zunehmende Hoffnung in der Behandlung des NA-ZAVs beruht auf der frühen intravenösen Fibrinolyse (IVF). Als Vorbild gilt der ischämische Schlaganfall, welcher seit vielen Jahren standardmäßig innerhalb von 4,5 Stunden (h) nach Beginn mit einer IVF therapiert wird. Aus pathophysiologischer Sicht ist der NA-ZAV ein okulärer Schlaganfall und somit dem cerebralen Schlaganfall äußerst ähnlich. Bisher liegen jedoch fast ausschließlich Fallserien, Fallberichte und ein abgebrochener prospektiv randomisierter Trial zur IVF bei NA-ZAV vor, sodass aufgrund mangelnder Evidenz keine klare Therapieempfehlung gegeben werden kann.

Wir haben in unserer eigenen prospektiven Fallserie Patienten, die innerhalb von 4,5 h nach Beginn eines NA-ZAV eine IVF-Therapie erhalten haben, mit der konservativ behandelten Kontrollgruppe der EAGLE-Studie (the European Assessment Group for Lysis in the Eye) verglichen. Diese ist die bis heute größte, prospektiv randomisierte Studie beim NA-ZAV. Wir konnten zeigen, dass trotz eines initial schlechteren Visus signifikant mehr Patienten einen Visusgewinn auf LogMAR $\leq 0,5$ (Lesevisus) in der mit IVF therapierten Gruppe erreichten (6/20 (30 %)

vs. 1/39 (3 %) an Tag 5 ($p = 0,005$) und 5/20 (25 %) vs. 2/37 (5 %) ($p = 0,045$) an Tag 30). Zudem zeigte eine kürzlich veröffentlichte Metanalyse anhand von 34 Patienten, die eine IVF-Therapie innerhalb der ersten 4,5 Stunden erhalten hatten, ebenfalls ein signifikant besseres Outcome für diese Patienten im Vergleich zu Patienten, die eine IVF-Therapie zu einem späteren Zeitpunkt erhalten hatten.

Insgesamt ist aber der Stellenwert der IVF-Therapie beim NA-ZAV weiterhin unklar. Dies hat uns veranlasst deren Wirksamkeit und Sicherheit im Rahmen einer prospektiv, randomisierten, Placebo-kontrollierten und doppelt-verblindeten Multicenter-Studie (REVISION – Early RE-perfusion Therapy with Intravenous Alteplase for Recovery of VISION in Acute Central Re-tinal Artery Occlusion) zu untersuchen. Diese Studie wird durch das Bundesministerium für Bildung und Forschung gefördert. Sie startet 2020 und die Drittmittel wurden im Rahmen einer Zusammenarbeit mit der Neurologie Tübingen (Dr. S. Poli, Coordinating Investigator) und unserer Klinik eingeworben.

Da die Wirksamkeit der IVF zeitabhängig ist, muss die Diagnostik möglichst schnell durchgeführt werden um ein bestmögliches Ergebnis zu erzielen. Analog zum Motto des ischämischen Apoplexes gilt beim NA-ZAV: Time is Retina!

DIAGNOSTIK VOR EINER LYSE THERAPIE

Als Voraussetzung zur Durchführung einer IVF muss der Beginn des NA-ZAVs exakt bestimmt werden können. Der Patient muss daher den plötzlichen, schmerzlosen Visusverlust mit beidseits geöffneten Augen bemerkt haben. Zum Einschluss in die REVISION-Studie darf der LogMAR Visus $\geq 1,3$ betragen und vor dem NA-ZAV muss das Sehen auf dem betroffenen Auge »normal« gewesen sein ($\leq 0,5$ LogMAR).

Bei einem frischen Zentralarterienverschluss besteht innerhalb der ersten Stunden kein kirschröter Fleck, sondern es sind nur fadendünne Arterien und ein

Sludge-Phänomen (stehende Erythrozyten in den venösen Gefäßen) erkennbar. Falls ein kirschröter Fleck sichtbar ist, muss die Anamnese und somit der Zeitpunkt des Beginns des NA-ZAV hinterfragt werden.

Im OCT sind bereits nach ca. einer Stunde ischämische Anzeichen in der inneren Netzhaut zu erkennen (zunehmendes Makulaödem – primär nur im Seitenvergleich parazentral erkennbar, Hyperreflektivität der inneren Netzhautschichten, Verschwimmen der inneren Netzhautschichten, Prominent Middle Limiting Membrane Sign). Das OCT dient daher in der REVISION-Studie zur Befundsicherung. Zusätzlich aber könnte das OCT auch einen zukünftigen Biomarker darstellen, der Rückschlüsse bezüglich der Verschlussdauer und des ischämischen Schadens zulässt. Zudem werden wir bei allen Patienten vor Lysebeginn eine Dopplersonographie der Zentralarterie durchführen um ein »Spot-Sign« (echo-reiche Struktur mit Schallschatten) im Bereich des Sehnervenkopfes möglicherweise darzustellen. Das Spot-Sign könnte einen prognostischen Faktor darstellen. In einer Fallserie konnte nämlich gezeigt werden, dass bei Vorliegen eines solchen »Spot-Signs« eine IVF nicht zu einer Re-perfusion der

Zentralarterie führt. Der diagnostische Stellenwert sowohl des »Spot-Signs« als auch des OCTs soll daher im Rahmen der REVISION-Studie untersucht werden.

Aus Zeitgründen empfehlen wir auf eine Fluoreszenzangiographie und ein Gesichtsfeld zu verzichten.

Sollte sich der Patient innerhalb der ersten 4,5 Stunden nach Zentralarterienverschluss befinden und von neurologischer Seite her keine Kontraindikationen gegen eine IVF-Therapie bestehen (dies schließt u. a. eine unauffällige cerebrale Bildgebung mit ein), kann der Patient in die REVISION-Studie eingeschlossen werden. Im Rahmen der Studie werden wir die Patienten für insgesamt 90 Tage beobachten.

Prinzipiell sollte jedoch bei jedem Patienten mit einem frischen NA-ZAV der Gefäß- und Herzstatus zur Ursachendiagnostik genau erhoben werden und wegen des Vorliegens möglicher stummer ischämischer Apoplexe (Studien zeigen eine Rate von bis zu 25 %) eine Überwachung auf der Stroke-Unit erfolgen.

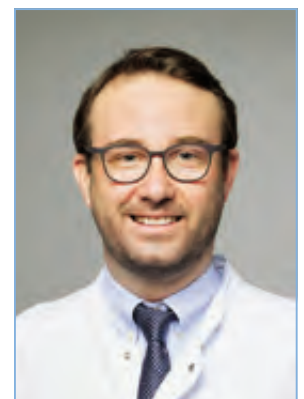
Priv.-Doz. Dr. med. Maximilian Schultheiß, FEBO begann nach seinem Studium in Berlin und Würzburg, seine augenärztliche Ausbildung an der Universitätsaugenklinik Tübingen. Sowohl das FEBO-Examen als auch die deutsche Facharztprüfung bestand er 2013.

Hiernach arbeitete er als Funktionsoberarzt im Bereich der Retinologie und wurde operativ sowohl in der Retinologie als auch der Kataraktchirurgie ausgebildet. 2015 fing er als Oberarzt am Klinikum Stuttgart an, wobei er zeitgleich aber weiterhin an der Universitätsaugenklinik Tübingen angestellt war. Hiernach erfolgte 2016 der gemeinsame Wechsel mit Prof. Spitzer an das Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf. Nach zwei Jahren als Oberarzt erfolgte 2018 die Beförderung zum Leitenden Oberarzt.

Im Jahre 2009 wurde ihm der Dokortitel und 2018 die Venia legendi verliehen. Das Thema seiner Habilitationsschrift war »Neuroprotection in central and retinal artery occlusion«. Wissenschaftliche Schwerpunkte sind klinisch der Zentralarterienverschluss (Mitantagsteller der REVISION-Studie) und grundlagenwissenschaftlich die retinalen Ganglienzellen und das Hornhautendothel.

Priv.-Doz. Dr. Maximilian Schultheiss

Klinik und Poliklinik für Augenheilkunde
Martinistr. 52, Gebäude W40
20246 Hamburg
Tel. 040 / 7410-53296
Fax. 040 / 741054906
E-Mail: m.schultheiss@uke.de



KONTAKT



Ophthalmologische Epidemiologie und Versorgungsforschung – Herausforderungen in einer älter werdenden Gesellschaft

PROF. DR. ALEXANDER K. SCHUSTER¹, DR. STEFAN NICKELS¹,
PROF. DR. NORBERT PFEIFFER¹

1 Augenklinik und Poliklinik,
Universitätsmedizin
der Johannes
Gutenberg-Universität
Mainz

Im Jahr 2030 werden 21 Millionen Deutsche 65 Jahre und älter sein. Der Anteil der älteren Menschen an der Bevölkerung nimmt stark zu, und aus bevölkerungsbasierten Studien wissen wir, dass genau in dieser Altersgruppe Augenerkrankungen überproportional zunehmen.

Um die gesundheitliche Versorgung der Bevölkerung sicherzustellen, ist es nötig den Bedarf zu kennen oder zumindest gut schätzen zu können. Bisher mangelte es im internationalen Vergleich an belastbaren Daten aus Deutschland, doch das hat sich in den vergangenen Jahren deutlich verbessert. In den letzten Jahren wurden verschiedene Bevölkerungsstudien mit augenärztlicher Beteiligung begonnen, so beispielsweise die SHIP-Studie in Greifswald, die LIFE-Studie in Leipzig, die AUGUR-Studie in Regensburg, die Gutenberg-Gesundheitsstudie in Mainz, die NAKO Gesundheitsstudie oder die Rheinlandstudie in Bonn. Durch ihre Unterschiede in Design, Umfang und Schwerpunkt sind die Studien nicht als redundante Studien zu sehen, sondern ergänzen sich in ihrer Vielfalt.

Weitere Erkenntnisse können aus Sekundärdatenanalysen und Umfragen des Robert Koch-Instituts gewonnen werden. Abrechnungsdaten von Krankenkassen zeigen, dass 20% der deutschen Bevölkerung mindestens einmal im Jahr einen Augenarzt aufsuchen. Mit zunehmendem Alter nimmt die Inanspruchnahme deutlich zu und erreicht mit 51% im Alter von 80 Jahren einen Höhepunkt. In höherem

Alter sinkt die Inanspruchnahme jedoch wieder, obwohl die Prävalenz von Augenerkrankungen weiter ansteigt.

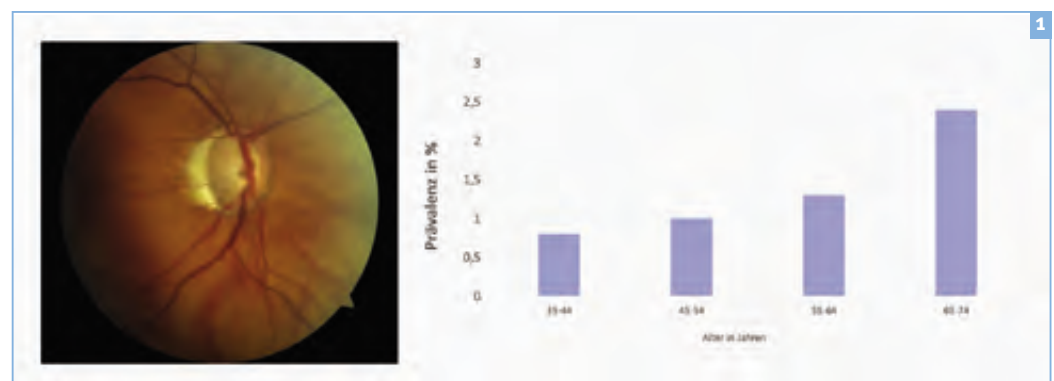
Für eine Planung einer optimalen ophthalmologischen Versorgung der Bevölkerung ist es nicht nur nötig, den Versorgungsbedarf zu schätzen – es ist auch wichtig, die Entwicklung der Versorgungskapazität zu kennen.

Seit dem Jahr 2000 nahm die Zahl der berufstätigen Augenärzte um ein Fünftel zu. Dies bedeutet jedoch nicht, dass die Versorgungskapazität gestiegen ist: Gleichzeitig sank die Anzahl der selbstständig tätigen Augenärzte und, wie fachübergreifende Daten zeigen, ist die durchschnittliche Wochenarbeitszeit von angestellten tätigen Ärzten deutlich geringer als die ihrer selbstständigen Kollegen. Durchschnittszahlen aus der Augenheilkunde gibt es nicht, aber in einer Umfrage aus dem Jahr 2017 berichten 56% der angestellten Augenärzte, dass sie 30 Stunden oder weniger arbeiten. Hierdurch ist die augenärztliche Versorgungskapazität annähernd gleichgeblieben.

Durch den demographischen Wandel zeichnet sich eine Steigerung des augenärztlichen Versorgungsbedarfs in Deutschland ab, der zunehmend auch durch bevölkerungsbasierte Studien untermauert wird, wie beispielsweise durch die Gutenberg-Gesundheitsstudie. Diese interdisziplinäre Studie startete bereits 2007 in der Region Mainz mit 15.010

Abbildung 1

■ Beispielbefund eines Studienteilnehmers der Gutenberg-Gesundheitsstudie mit einer glaukomatösen Optikusatrophie, sowie die Prävalenz der Glaukomerkrankung stratifiziert nach Alter. Modifiziert nach Höhn et al. Graefes Archive 2018.



Teilnehmern im Alter von 35 bis 74 Jahren und gegenwärtig wird die Zehn-Jahres-Nachuntersuchung durchgeführt, die ältesten Teilnehmer werden 85 Jahre alt sein. Sie untersucht unter anderem die Altersverteilung von bestehenden und neu auftretenden Augenerkrankungen sowie deren Risikofaktoren.

Kurzsichtigkeit ist eine Augenproblematik, die insbesondere im jungen Lebensalter auftritt und weltweit häufiger wird. Als Risikofaktoren gelten außer der erblichen Komponente Naharbeit (Lesen, Lernen) und Mangel an Sonnenlicht – beides erklärt vermutlich den starken Anstieg im asiatischen Raum durch intensive Bildung. Aber auch in Europa wird eine Zunahme erwartet. Inwieweit dies auch in Deutschland geschieht, werden zukünftige Betrachtungen zeigen.

Eine Kurzsichtigkeit erfordert jedoch nicht nur die Versorgung mit Brillen oder Kontaktlinsen, sondern erhöht das Risiko für Erkrankungen des Augenhintergrundes, insbesondere bei hoher Myopie. Ein Beispiel ist die myope Makulopathie, bei der charakteristische Netzhautveränderungen im makulären Bereich auftreten. In der Gutenberg-Gesundheitsstudie haben wir erstmals in einer bevölkerungsbasierten europäischen Studie die Häufigkeit geschätzt, indem wir die Fundusfotografien von mehr als 500 hochmyopen Teilnehmern (mehr als -6 Dioptrien) ausgewertet haben. Die Prävalenz liegt bei etwa 10%, mit einer deutlichen Zunahme mit steigender Myopie und mit höherem Alter. Personen mit myoper Makulopathie hatten zudem eine deutlich schlechtere Sehschärfe, insbesondere bei »patchy«-Atrophie und Makulaatrophie.

Auf Bevölkerungsebene zeigt sich auch ein Zusammenhang von Myopie beziehungsweise Achsenlänge auf die Messung der peripapillären Nervenfaserschichtdicke, ein wichtiger Parameter in der Glaukomdiagnostik. Normative Daten wurden durch Daten der Gutenberg-Gesundheitsstudie bestätigt und mögliche Zusammenhänge mit systemischen Parametern beleuchtet. Einige Parameter (Homozystein, Alkoholkonsum, obstruktive Schlafapnoe) zeigen einen schwachen Zusammenhang, und sind daher bei der Interpretation der peripapillären Nervenfaserschichtdicke, beispielsweise in der Glaukomdiagnostik, von untergeordneter Bedeutung.

Die Häufigkeit einer Glaukomerkrankung in der deutschen Bevölkerung wurde erstmals mittels bevölkerungsbasierter Studie ermittelt (**Abbildung 1**). Hier zeigt sich, dass die Prävalenz eines

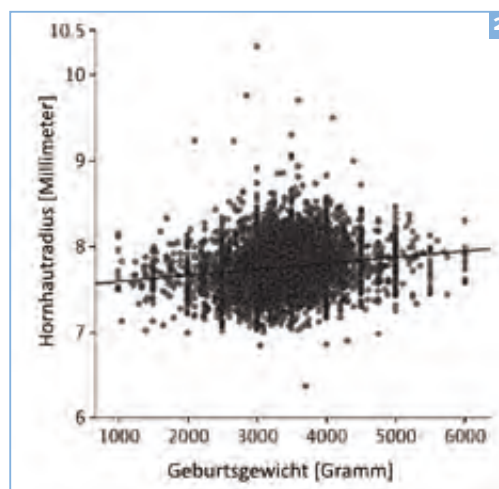


Abbildung 2

■ Beschreibung des Zusammenhangs zwischen Hornhautradius und Geburtsgewicht in der Gutenberg-Gesundheitsstudie. Modifiziert nach Fieß et al. *Jama Ophthalmol* 2019.

Glaukoms ähnlich war wie in anderen europäischen bevölkerungsbasierten Kohorten, mit einer etwas höheren Prävalenz bei jüngeren Probanden. Mit höherem Alter zeigte sich ein deutlicher Anstieg, wie er auch von der altersbedingten Makuladegeneration bekannt ist. Durch die Alterung der Gesellschaft in den nächsten Jahrzehnten wird daher die Anzahl an Patienten mit Augenerkrankungen wie der altersbedingten Makuladegeneration und dem Glaukom deutlich zunehmen.

Nicht nur bei Erkrankungen im hohen Alter, sondern auch am Beginn des Lebens hat der medizinische Fortschritt in den letzten Jahrzehnten zu einer deutlichen Verbesserung geführt, so stieg beispielsweise das Überleben von Frühgeborenen deutlich an. Neben der akuten Frühgeborenenretinopathie stellt Frühgeburtlichkeit möglicherweise auch ein Risikofaktor für die Entwicklung von Augenerkrankungen im Erwachsenenalter. In der Gutenberg-Gesundheitsstudie sehen wir, dass Teilnehmer mit niedrigem Geburtsgewicht eine veränderte Augenometrie haben (**Abbildung 2**) und kurzsichtiger sind als Vergleichspersonen mit normalem Geburtsgewicht. Weitere Analysen werden sich der Fragestellung widmen, ob sich auch das Risiko für Augenerkrankungen wie AMD und diabetische Retinopathie erhöht.

Der interdisziplinäre Ansatz dieser Studie ermöglicht es zudem, Erkenntnisse zu psychischen Komorbiditäten im Zusammenhang mit Augenerkrankungen auf den Prüfstand zu stellen und die psychische Beeinträchtigung der Betroffenen, wie auch deren Lebensqualität zu betrachten. Im Ge-

gensatz zu bisherigen Erkenntnissen zeigen unsere Ergebnisse, dass bei altersabhängiger Makuladegeneration keine erhöhte Prävalenz für Depression und Ängstlichkeit besteht. Hierfür wurde das Vorliegen von AMD-typischen Veränderungen auf Fundusfotografien analysiert, fortgeschrittene Stadien der Erkrankung zeigten sich selten.

Einer der Gründe für die Diskrepanz mit anderen Studien könnte im unterschiedlichen Studiendesign liegen: Bisherige Studien waren meist Fall-Kontroll-Studien, deren Teilnehmer in Kliniken rekrutiert wurden. Dies könnte möglicherweise zu einer Überrepräsentation von Patienten geführt haben, die besonders schwer erkrankt waren. Ähnliches zeigte sich auch für Personen, die berichten an einem Glaukom erkrankt zu sein: auch diese zeigten keine veränderte Prävalenz für Depressivität oder Ängstlichkeit.

Bevölkerungsbasierte Studien ermöglichen somit die Häufigkeit des Vorliegens und Auftretens von Augenerkrankungen zu ermitteln, wie auch bestehende Zusammenhänge zu anderen Erkrankungen auf Bevölkerungsebene kritisch zu reflektieren. Die verschiedenen Studien ergänzen sich gegenseitig und ermöglichen daher Schätzungen über den zukünftigen augenärztlichen Versorgungsbedarf, insbesondere vor dem Hintergrund einer älter werdenden Gesellschaft und des bestehenden augenärztlichen Versorgungssystems.

LITERATUR:

- European Eye Epidemiology Consortium. The Decreasing Prevalence of Nonrefractive Visual Impairment in Older Europeans: A Meta-analysis of Published and Unpublished Data. *Ophthalmology*. 2018 Aug; 125 (8): 1149–1159.
- Fieß A., Schuster A. K., Nickels S., Urschitz M. S., Elflein H. M., Schulz A., Münzel T., Wild P. S., Beutel M. E., Schmidtmann I., Lackner K. J., Pfeiffer N. Association of Low Birth Weight With Altered Corneal Geometry and Axial Length in Adulthood in the German Gutenberg Health Study. *JAMA Ophthalmol*. 2019 Feb 21. [Epub ahead of print].
- Fieß A., Schuster A. K., Nickels S., Elflein H. M., Schulz A., Beutel M. E., Blettner M., Pfeiffer N. Association of low birth weight with myopic refractive error and lower visual acuity in adulthood: results from the population-based Gutenberg Health Study (GHS). *Br J Ophthalmol*. 2019 Jan; 103 (1): 99–105.
- Fieß A., Schuster A. K., Pfeiffer N., Nickels S. Association of birth weight with corneal power in early adolescence: Results from the National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES) 1999–2008. *PLoS One*. 2017 Oct 26; 12 (10): e0186723.
- Höhn R., Nickels S., Schuster A. K., Wild P. S., Münzel T., Lackner K. J., Schmidtmann I., Beutel M., Pfeiffer N. Prevalence of glaucoma in Germany: results from the Gutenberg Health Study. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 2018 Sep; 256 (9): 1695–1702.
- Hoffmann E. M., Schmidtmann I., Siouli A., Schuster A. K., Beutel M. E., Pfeiffer N., Lamparter J. The distribution of retinal nerve fiber layer thickness and associations with age, refraction, and axial length: the Gutenberg health study. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 2018 Sep; 256 (9): 1685–1693.
- Lamparter J., Schmidtmann I., Schuster A. K., Siouli A., Wasieleska-Poslednik J., Mirshahi A., Höhn R., Unterrainer J., Wild P. S., Binder H., Lackner K., Beutel M. E., Münzel T., Pfeiffer N., Hoffmann E. M. Association of ocular, cardiovascular, morphometric and lifestyle parameters with retinal nerve fibre layer thickness. *PLoS One*. 2018 May 22; 13 (5): e0197682.
- Rezapour J., Nickels S., Schuster A. K., Michal M., Münzel T., Wild P. S., Schmidtmann I., Lackner K., Schulz A., Pfeiffer N., Beutel M. E. Prevalence of depression and anxiety among participants with glaucoma in a population-based cohort study: The Gutenberg Health Study. *BMC Ophthalmol*. 2018 Jun 28; 18 (1): 157.
- Schuster A. K., Pick J., Saalman F., Pfeiffer N. [Ophthalmologic healthcare utilization of people in need of long-term care: Analyses of health insurance data of the AOK Baden-Württemberg]. *Ophthalmologie*. 2018 Oct; 115 (10): 832–841.
- Schuster A. K., Wolfram C., Bertram B. and Pfeiffer N. Wer geht wie oft zum Augenarzt in Deutschland? Ergebnisse der DEGS1-Studie. [Who visits an ophthalmologist and how often? Results of the German nationwide adult health survey (DEGS1)]. *Der Ophthalmologe*. 2018 Dec; 115 (12): 1042–1049.
- Schuster A. K., Wolfram C., Pfeiffer N., Finger R. P. Augenhilfkunde 2019 – Wo stehen wir? Eine Betrachtung der Versorgungssituation in Deutschland [Ophthalmology 2019-where do we stand? : An analysis of the treatment situation in Germany]. *Der Ophthalmologe*. 2019. doi: 10.1007/s00347-019-0894-2. [Epub ahead of print].

Univ.-Prof. Dr. Alexander K. Schuster studierte Medizin und Medizinische Physik an der Medizinischen Fakultät Mannheim der Universität Heidelberg. Er schloss seine Promotion am Mannheimer Institut für Public Health mit »summa cum laude« ab. Anschließend begann er seine Weiterbildungszeit in der Ophthalmologie an der Unimedizin Mannheim, setzte diese an der Universitätsmedizin Mainz fort und schloss ein berufsbegleitendes Masterstudium in Epidemiologie an der Johannes Gutenberg-Universität Mainz ab. Dort forscht er in der

ophthalmologischen Epidemiologie und Versorgungsforschung über das Auftreten von Augenerkrankungen und deren Risikofaktoren in der Bevölkerung und untersucht die augenärztlichen Versorgungsstrukturen. Im Dezember 2017 wurde er auf die Stiftungsprofessur für ophthalmologische Versorgungsforschung an der Universitätsmedizin Mainz berufen, die von der »Stiftung Auge« gestiftet wurde und von der Deutschen Ophthalmologischen Gesellschaft und dem Berufsverband der Augenärzte Deutschlands e. V. finanziert wird.



Univ.-Prof. Dr. Alexander K. Schuster

Augenklinik und Poliklinik
Zentrum für Ophthalmologische
Epidemiologie und Versorgungsforschung
(ZOEV)
Universitätsmedizin Mainz
Langenbeckstraße 1
55131 Mainz
Tel. 06131 / 17-8213
Fax 06131 / 17-478213
E-Mail: alexander.schuster@
unimedizin-mainz.de
Internet: [http://www.unimedizin-mainz.de/
augenklinik/forschung/zentrum-fuer-
ophthalmologische-epidemiologie-und-
versorgungsforschung.html](http://www.unimedizin-mainz.de/augenklinik/forschung/zentrum-fuer-ophthalmologische-epidemiologie-und-versorgungsforschung.html)

KONTAKT



Small Incision Lenticule Extraction (SMILE) – Experimentelle und klinische Forschung –

PROF. DR. MED. WALTER SEKUNDO¹, PROF. DR. MED. MARCUS BLUM²,
PROF. DR. MED. FARHAD HAFEZI^{3,4,5}, DR. SABINE KLING³, PROF. DR. MED.
KATHLEEN S. KUNERT², ANNA S. LAUER², DR. MED. APOSTOLOS LAZARIDIS¹,
DIPL.-ING. ANKE MESSERSCHMIDT-ROTH, M.SC.¹, PROF. DR. MED. ROLF
PREUSSNER⁶, FLORIAN SCHRAML¹, DR. MEDIC. BOGDAN SPIRU¹,
EMILIO A. TORRES-NETTO, MD^{3,7}

1 Universitäts-Augenklinik Marburg
am UKGM und
Philipps Universität
Marburg

2 Augenklinik,
Helios Klinikum Erfurt

**3 Laboratory of Ocular
Cell Biology,**
Center for Applied
Biotechnology and
Molecular Medicine,
Universität Zürich,
Schweiz

4 ELZA-Institute,
Dietikon, Schweiz

**5 University of
Southern California,**
Los Angeles, USA

6 Augenklinik,
Universitätsmedizin,
Johannes-Gutenberg
Universität Mainz

**7 Paulista School
of Medicine,**
Federal University of
Sao Paulo,
Sao Paulo, Brazil

Einer der wichtigen wissenschaftlichen Schwerpunkte der Marburger Universitäts-Augenklinik seit 2005 besteht in der Entwicklung der intrastromalen cornealen refraktiven Hornhautchirurgie und hier insbesondere der Small Incision Lenticule Extraction (SMILE)-Operationsmethode. In diesem kurzen Assay gehe ich auf die wichtigsten Arbeiten unserer Arbeitsgruppe, die – seit der Erscheinung des letzten Bandes aus der »Spitzenforschung Ophthalmologie« im Jahre 2017 – entweder bereits publiziert oder sich im Prozess der Publikation befinden.

HISTORISCHES & EINFÜHRUNG

Zusammen mit Marcus Blum (Erfurt) und Fa. Carl Zeiss Meditec AG brachte ich die intrastromale refraktive Femtosekundenlaser-Chirurgie (also ohne Excimerlaser) bis zur klinischen Reife. Der erste Schritt war die Etablierung der Femtosekunden-Lentikel-Extraktion (FLEX), eines Verfahrens, bei dem sowohl der Flap als auch die zu entfernende Gewebelinse (»Lentikel«) allein mittels Femtosekundenlaser erzeugt wird [1]. Durch die weitere Entwicklung konnten wir den Zugangsschnitt bis auf 2 mm reduzieren und so eine echte flaplose »Schlüsselloch-Refraktivchirurgie« etablieren, die dann von dem Laserhersteller einen werbewirksamen Namen »SMILE« erhielt. (Abb. 1) [2]. Wenngleich das Verfahren für die Behandlung der Myopie und myopen Astigmatismus zu einem echten Hit geworden ist

(nach Herstellerangaben liegt die Zahl der registrierten Operationen zum Zeitpunkt der Erscheinung dieses Hefts bei weit über zwei Millionen operierten Augen), so verbleiben nach wie vor wissenschaftliche Fragen, die im Reifeprozess dieser OP-Methode nach einer Antwort suchen. Nach dem Erscheinen eines Lehrbuchs auf Chinesisch liegt seit 2014 Jahr auch ein internationales englischsprachiges Lehrbuch vor, bei dem die Herausgeberschaft und zahlreiche Beiträge aus Marburg kamen [3].

AKTUELLE ARBEITEN (AUSWAHL)

Aus den über 30 Publikationen zu dem Thema SMILE, an denen ich in den letzten 2 Jahren aktiv mitwirkte, möchte ich im Folgenden nur auf eine kleine Auswahl der wichtigen Veröffentlichungen eingehen. Bereits im Vorheft aus 2017 beschrieben wir unsere Arbeiten zu der Biomechanik der SMILE-OP unter Verwendung von Schweinehornhäuten. Es war daher naheliegend die Hypothese der besseren biomechanischen Stabilität auch an humanem Gewebe zu untersuchen.

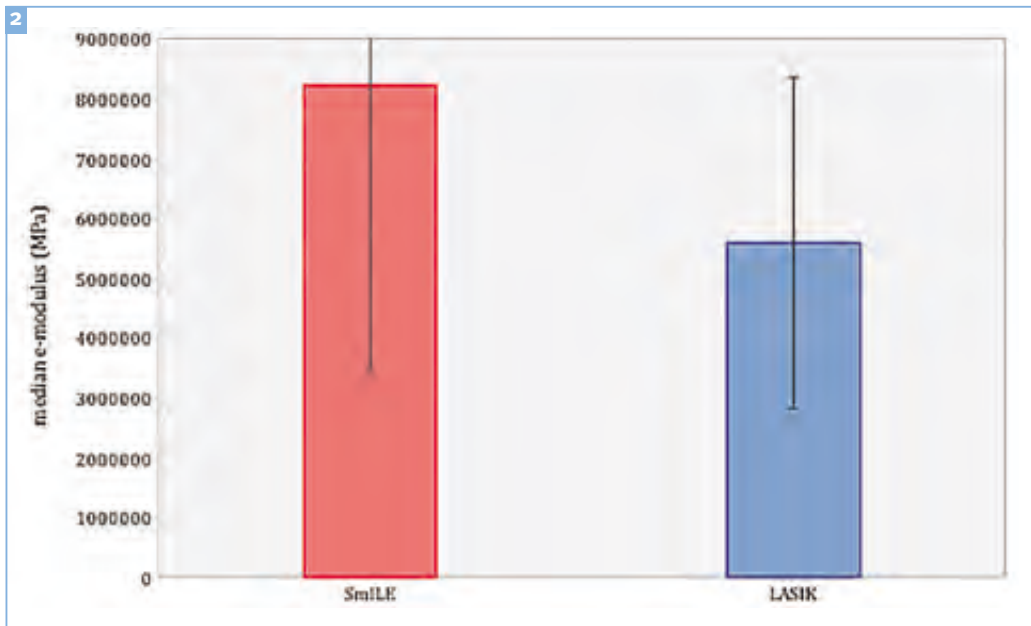
BIOMECHANIK DER HORNHAUT NACH SMILE: EX-VIVO VERSUCHE AN HUMANEN HORNHÄUTEN

In 2018 erschien eine Arbeit, in der wir 11 paarige humane Hornhäute auf die biomechanische Stabilität untersuchten. Dabei erhielt die eine Hornhaut eine refraktive Korrektur von -10 dpt/-0,75 dpt cyl x 0° und 7 mm-Zone mittels Femtolasik und die Hornhaut vom Partnerauge die gleiche Korrektur mittels SMILE. Die Messung erfolgte mittels 2D-Extensiometrie. Während der Stresswiderstand in beiden Gruppen gleich war, war das Elastizitätsmodul nach SMILE 1,47 mal höher als nach der gleichen Korrektur mittels Femtolasik. Das Ergebnis war hochsignifikant ($P=0.003$) (Abb. 2). Somit konnte die bessere biomechanische Stabilität der SMILE gegenüber der flap-basierten Verfahren auch im humanen Gewebe belegt werden [4].

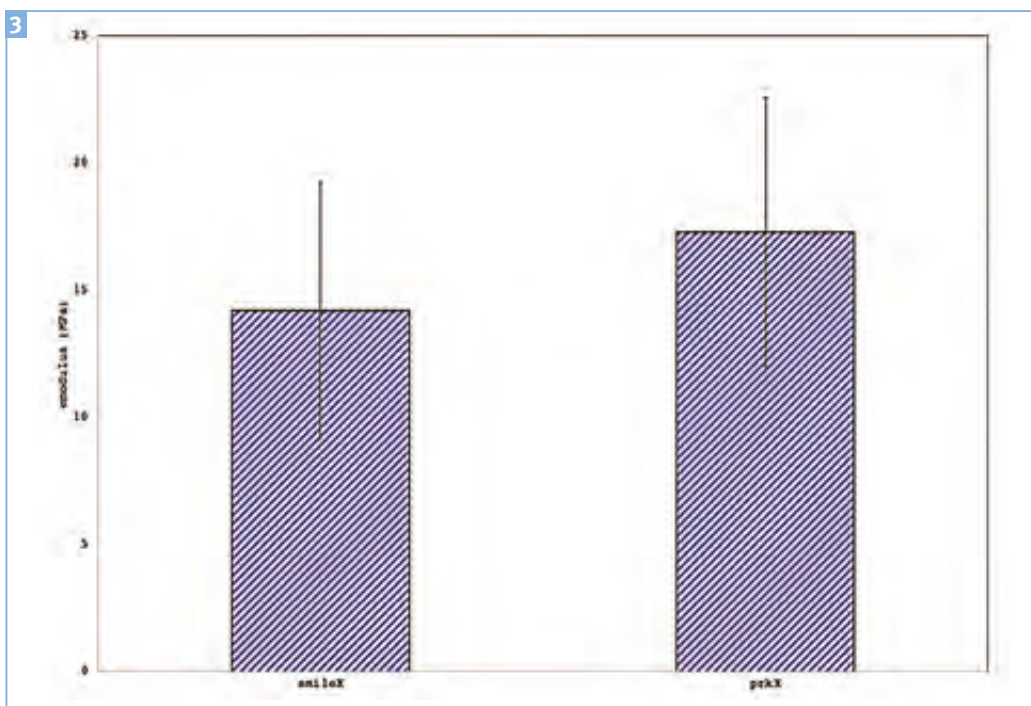
Abbildung 1

Ein Videoausschnitt: der vom Femtosekundenlaser geschnittene Lentikel (von »lenticula« = Linse) wird nach erfolgter manueller Separation mit einer Pinzette durch eine kleine Inzision entfernt.



**Abbildung 2**

■ Stresswiderstand getesteter paariger humaner Hornhäute: Der Stresswiderstand nach Femtolasik ist 1,47 mal geringer als nach SMILE bei gleicher Korrekturhöhe.

**Abbildung 3**

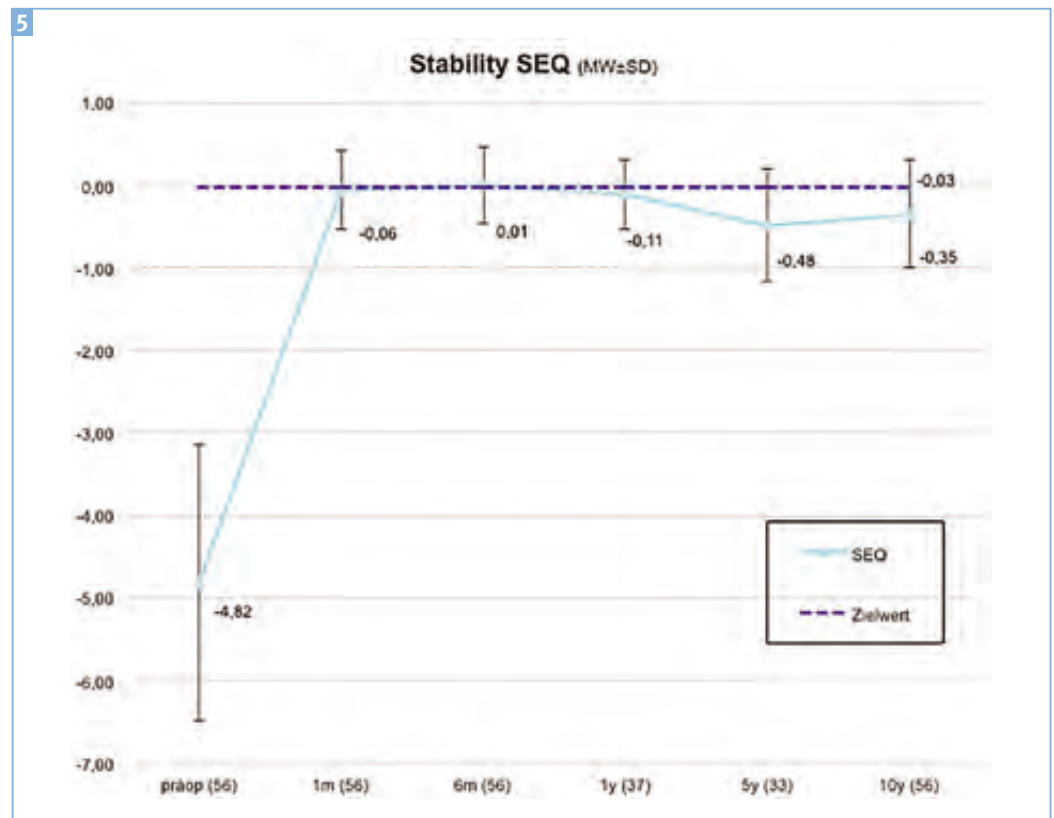
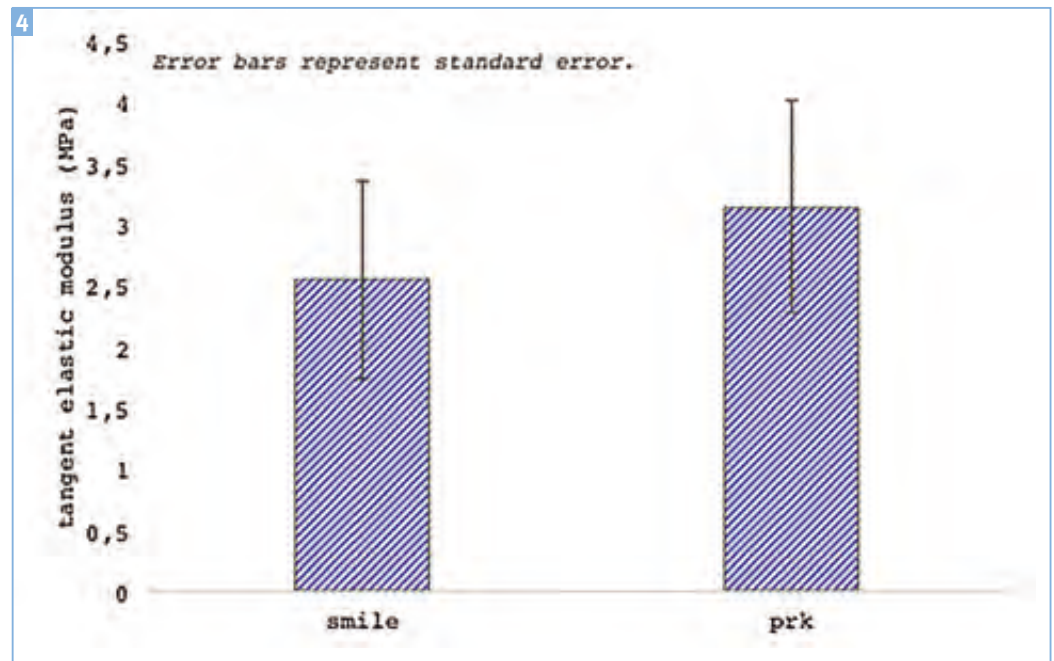
■ Stresswiderstand getesteter paariger humaner Hornhäute: Der Stresswiderstand nach SMILE ist tendenziell geringer als nach PRK. Die Differenz ist jedoch nicht statistisch signifikant.

In der darauf folgenden Studie mit einem ähnlichen Design und einer identischen Korrekturhöhe untersuchten wir je 13 paarige humane Hornhäute, bei denen wir SMILE mit der PRK verglichen, galt doch

die PRK bisher biomechanisch als die sicherste Methode. Im Gegensatz zu dem oben erwähnten Vergleich zu der Femto-Lasik war das Effektive Elastizitätsmodul nach SMILE (9.58 ± 4.26 MPa)

Abbildung 4

■ Stresswiderstand getesteter paariger humaner Hornhäute: Der Stresswiderstand nach quervernetzter SMILE ist tendenziell geringer als nach quervernetzter PRK. Die Differenz ist jedoch nicht statistisch signifikant.

**Abbildung 5**

■ Stabilität der erzielten Refraktionsänderung bei SMILE im Verlauf von 10 Jahren.

signifikant *nicht* wesentlich unterschiedlich zu dem nach PRK (11.9 ± 4.90 MPa) ($P=.081$). Das gilt auch für den Stresswiderstand (**Abb. 3**) [5].

Nun, wenn die SMILE der PRK biomechanisch ebenbürtig ist, so schließt sich die logische Frage an: Sollte es dennoch zu einer Keratektasie kommen und eine Kollagenquervernetzung (CXL) vonnöten sein, nach welcher OP sorgt CXL für eine effektivere Vernetzung? Hierfür haben wir die paarigen SMILE /PRK-behandelte Hornhäute mit dem Extensiometer vorgedehnt und anschließend mit 9 mW/cm^2 für 10 Minuten (Fluence $5.41/\text{cm}^2$) vernetzt. Während die PRK behandelten Hornhäute ein Elastizitätsmodul von 17.2 MPa erreichten, blieb es nach SMILE etwas darunter bei 14.1 MPa (**Abb. 4**). Der Unterschied zugunsten CXL-PRK war jedoch nicht statistisch signifikant ($p=0.093$) [6].

KLINISCHE FORSCHUNG ZU SMILE

Aus den klinischen Studien zu der SMILE-Methode, die unser Forschungsnetzwerk in den letzten 2 Jahren durchführte, möchte ich exemplarisch zwei herausgreifen, die m.E. zweifelsfrei Implikationen für die Zukunft haben. Da SMILE inzwischen 10 Jahre alt geworden ist, gingen wir zwei Fragen nach. Die erste Frage betraf die Langzeitergebnisse. Hier konnte gezeigt werden, dass SMILE innerhalb dieses beträchtlichen Zeitraumes eine erstaunliche Stabilität aufweist (**Abb. 5**). Obwohl es bei dieser 10-Jahresstudie um die Nachbeobachtung der allerersten Patienten geht, die noch mit dem Prototyp-Laser und 200 KHz Frequenz behandelt wurden, konnten wir auch nach einer ganzen Dekade erfreulicherweise keinen einzigen Zeilenverlust feststellen. (**Abb. 6**) [7].

Da nach 10 Jahren die ersten Patienten das Kataraktalter erreichen, erschien es uns sinnvoll sich auch der Herausforderung der Biometrie nach SMILE zu widmen. Wir untersuchten retrospektiv 204 Augen von 105 Patienten, die präoperativ sowie 3 Monate nach ihrer SMILE-Operation eine Biometrie mittels IOL-Master® (Carl Zeiss Meditec AG) sowie Hornhauttomographie mittels Pentacam® (Oculus Optikgeräte GmbH) erhielten. Selbstverständlich kannten wir die exakte Refraktionsänderung. Somit war es möglich die auf Refraktionsdaten basierende IOL-Stärke mit der aus verschiedenen Biometrieformeln ermittelten IOL-Stärke zu vergleichen. Wie erwartet, kam die Be-

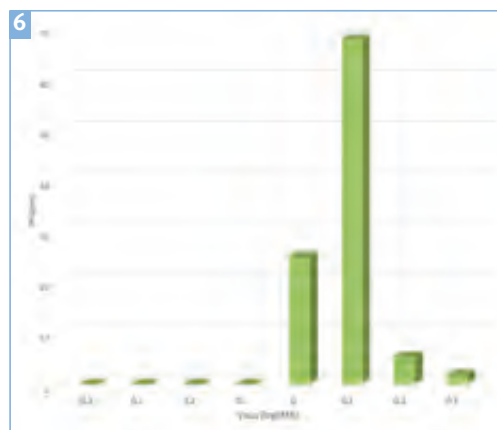


Abbildung 6

■ *Visusänderung 10 Jahre nach SMILE. 29% der Augen legten eine oder zwei Zeilen an cc-Visus zu. Ein Visusverlust ist nicht zu verzeichnen.*

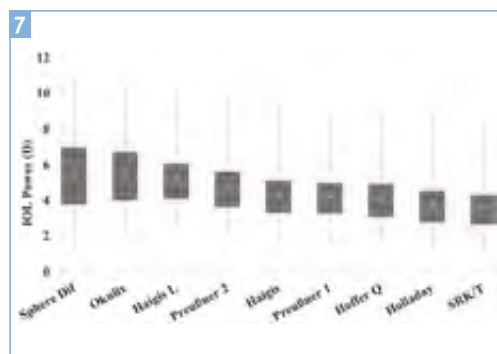


Abbildung 7

■ *Die Vorhersagbarkeit der IOL-Stärke nach SMILE. Das signifikant beste Ergebnis liefert die Biometrie unter Verwendung von Ray Tracing.*

rechnung mittels Ray-Tracing (Okulix®) der aus Refraktionsdaten ermittelten IOL-Stärke am nächsten, dicht gefolgt von Haigis-L-Formel, wobei die letztere stärkere Abweichungen vom Idealwert mit Zunahme der behandelten Myopie aufwies (**Abb. 7**). Dieses Ergebnis verdeutlicht den Stellenwert der gleichzeitigen exakten Messung der Hornhautvorder- und Rückfläche [8].

LITERATUR

1. Sekundo W., Kunert K., Russmann C., Gille A., Bissmann W., Stobrawa G., Sticker M., Bischoff M., Blum M. First efficacy and safety study of femtosecond lenticule extraction for the correction of myopia: six-month results. *J Cataract Refract Surg.* 2008; 34: 1513–20.
2. Sekundo W., Kunert K.S., Blum M. Small incision corneal refractive surgery using the small incision lenticule extraction (SMILE) procedure for the correction of myopia and myopic astigmatism: results of a 6 month prospective study. *Br J Ophthalmol.* 2011; 95: 335–9.



3. Sekundo W. (Hrsgb.) Small Incision Lenticule Extraction. Principles, Techniques, Complication management and Future Concepts. Springer 2015.
4. Spiru B., Kling S., Hafezi F., Sekundo W. Biomechanical properties of human cornea tested by two-dimensional extensimetry ex vivo in fellow Eyes: femtosecond laser-assisted LASIK versus SMILE. J Refract Surg. 2018; 34: 419–423.
5. Spiru B., Torres-Netto E. A., Kling S., Lazaridis A., Hafezi F., Sekundo W. Biomechanical properties of human cornea tested by two-dimensional extensimetry ex vivo in fellow eyes: PRK versus SMILE. J Refract Surg. 2019; 35: 501–505.
6. Torres-Netto E. A., Spiru B., Kling S., Giladorni F., Lazaridis A., Sekundo W., Hafezi F. Similar biomechanical cross-linking effect after SMILE and PRK in human corneas in an ex vivo model for postoperative ectasia. Zur Publikation eingereicht.
7. Blum M., Lauer A. S., Kunert K. S., Sekundo W. 10 years of Refractive Lenticule Extraction. Part II: 10-year results of Small Incision Lenticule Extraction (ReLEx® SMILE). J Refract Surg. Im Druck.
8. Schraml F., Lazaridis A., Preussner R., Sekundo W. Predictability of intraocular lens power calculation after SMILE for myopia. Vortrag bei dem ESCRS Wintermeeting. Athen, Februar 2019.

Univ.-Prof. Dr.med. Walter Sekundo ist seit 2008 Direktor der Universitäts-Augenklinik Marburg. Als Augenchirurg ist er ein Allrounder mit Schwerpunkt im Bereich der Hornhaut-, Katarakt- und Refraktivchirurgie. Er studierte Humanmedizin an den Universitäten in Frankfurt am Main, New Orleans und Durham/USA sowie später Gesundheitsökonomie an der Universität Marburg. Seine Facharztausbildung erhielt er

an der Universitäts-Augenklinik Bonn. Er absolvierte Fellowships in der Augenpathologie (Tennents Institute of Ophthalmology, Glasgow) und in der Hornhaut- und Refraktivchirurgie (Moorfields Eye Hospital, London)/UK. Die Netzhaut- und Glaukomchirurgie perfektionierte er an den Uniklinika Marburg und Mainz. Mit nahezu 30.000 Operationen ist er ein »high volume«-Augenchirurg. Der Höhepunkt seiner wissenschaftlichen und operativen Tätigkeit ist die Mitentwicklung der SMILE-Operation. Zwei mal wurde er zum Preisträger des Leonhard-Klein-Preises. Er hielt rund 700 Vorträge auf nationalen und internationalen Kongressen. Sein Schrifttum weist über 160 Originalpublikationen, 46 Buchkapitel sowie die Herausgeberschaft eines Lehrbuchs über die SMILE-OP auf. Seit 2010 wird er unter den Top 30 Katarakt- und Refraktivchirurgen im Focus-Ranking geführt.

KONTAKT



Univ.-Prof. Dr. med. Walter Sekundo
 Universitätsklinikum Gießen
 und Marburg GmbH und
 Philipps-Universität Marburg
 Baldinger Straße
 35043 Marburg /Germany
 Tel. 06421 / 586-6275
 Fax 06421 / 586-5678
 E-Mail: sekundo@med.uni-marburg.de

SPITZENFORSCHUNG IN DER DIABETOLOGIE

INNOVATIONEN UND AUSZEICHNUNGEN

WISSEN
Lebendige
SCHAFT



LEBENDIGE WISSENSCHAFT

SPITZENFORSCHUNG IN DER DIABETOLOGIE

Ein Kooperationsprojekt der Informationszentrale des Instituts für Wissenschaftliche Veröffentlichungen (IWV)
mit der ALPHA Informationsgesellschaft mbH

Informationen erhalten Sie unter:
info@institut-wv.de | www.institut-wv.de
www.alphapublic.de



Bestellungen kostenfrei

per E-Mail: info@institut-wv.de,
Tel.: 06206 939-0 oder an
ALPHA Informationsgesellschaft mbH,
Finkenstraße 10, 68623 Lampertheim
– mit Angabe Ihrer Adresse möglich.

Das Pachychoroidale Erkrankungsspektrum der Makula

DR. MED. JAKOB SIEDLECKI¹, PROF. DR. MED. SIEGFRIED PRIGLINGER¹

**1 Universitäts-
Augenklinik München**
Ludwigs-Maximilians-
Universität München

EINLEITUNG

Die Chorioretinopathia centralis serosa (CRCS), erstbeschrieben von Albrecht von Graefe im Jahre 1866, als auch die Polypoidale Choroidale Vasculopathie (PCV) sind seit Langem als Erkrankungen mit verdickter Aderhaut bekannt [1–3], wurden bisher aber nie in einen Zusammenhang gebracht. Der Terminus »Pachychoroid«, also »dicke (pachy) Aderhaut«, wurde von Warrow und Kollegen aus der Arbeitsgruppe von Bailey Freund im Jahr 2013 eingeführt, um einen Überbegriff für die CRCS, die PCV und weitere assoziierte Erkrankungen zu schaffen, die (in Abwesenheit sekundärer Ursa-

chen, z. B. Inflammation) mit einer verdickten Aderhaut einhergehen [4]. Das Pachychoroid ist seitdem ein spannendes Betätigungsfeld für Retinologen weltweit geworden. Während im Jahr 2014 nur drei Artikel zum Terminus »Pachychoroid« auf Pubmed gelistet sind, wuchs diese Zahl im Jahr 2018 schon auf 50. Aufgrund dieses enormen Fortschritts an Krankheitsverständnis wird das »Pachychoroidale Erkrankungsspektrum« als eine komplett neue differentialdiagnostische »Schublade« immer beliebter, um altes, etabliertes klinisches Wissen mit neuesten Erkenntnissen aus dem multimodalen Imaging zu vereinen.

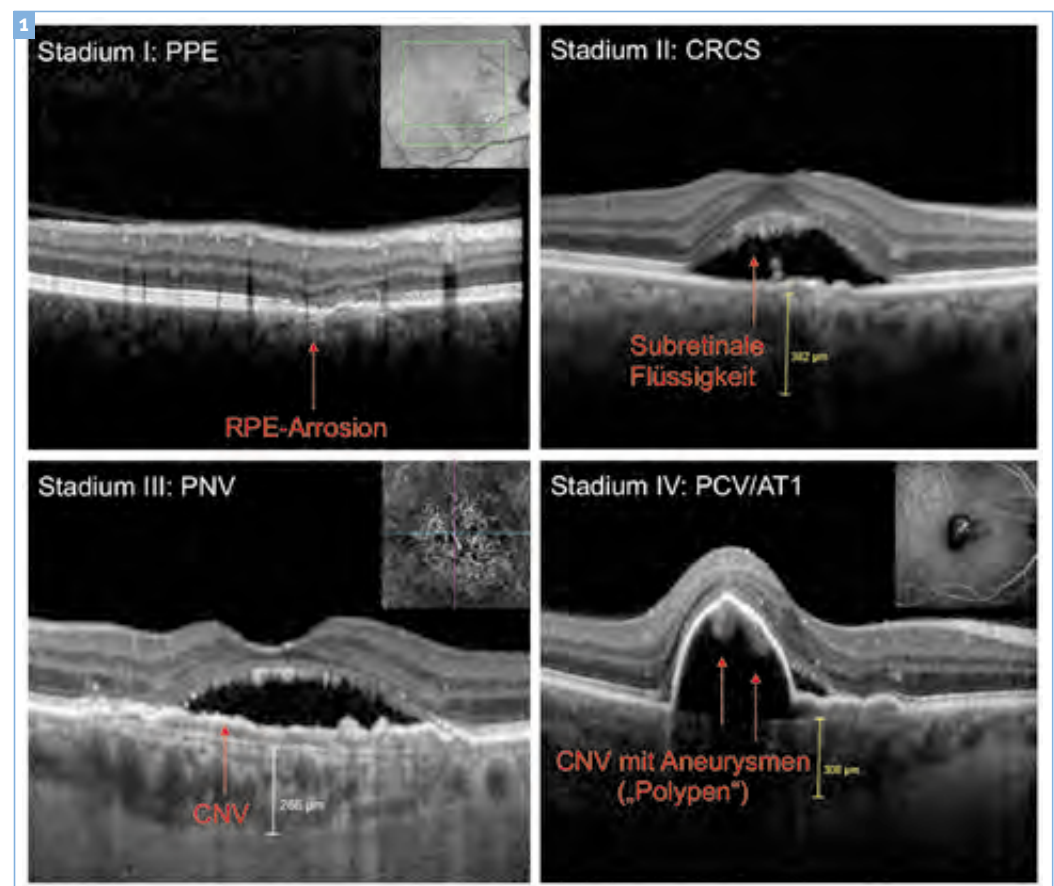


Abbildung 1

■ Stadieneinteilung der Pachychoroidalen Makulopathien mittels multimodalem Imaging

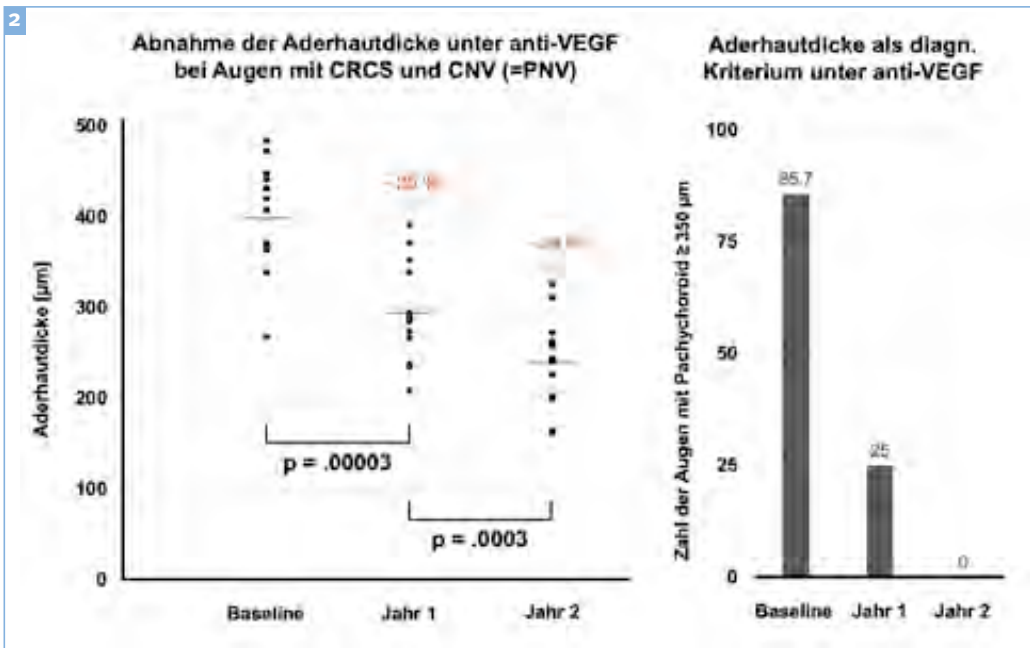


Abbildung 2
 ■ Verlust des »Pachychoroids« unter laufender anti-VEGF Therapie – ein häufiger Grund für die Fehldiagnose »AMD«

PATHOPHYSIOLOGIE

Anatomisch gliedert sich die Aderhaut in drei Schichten. Direkt unter der Bruch-Membran liegt die Choriocapillaris, worunter sich die Sattler-Schicht (mittellumige) und die Haller-Schicht (großlumige Gefäße) anschließen.

Vor allem die Haller-Schicht zeigt beim Pachychoroid pathognomonisch eine Distension der großlumigen Gefäßen, die zu sogenannten »pachyvesels« werden, und führt so zu einer Dickenzunahme im Rahmen pachychoroidaler Erkrankungen [5]. Die über der distendierten Haller-Schicht liegende Choriocapillaris [5] ist in der Folge rarefiziert. Etwa zwei von drei Augen mit symptomatischem Pachychoroid zeigen in Bereichen der größten Aderhautdicke eine fokale choroidale Leckage, die sich besonders gut in der Indocyaningrün-Angiographie darstellen lässt, und Schäden am assoziierten retinalen Pigmentepithel (RPE) und der Netzhaut verursacht.

PACHYCHOROIDALE MAKULOPATHIEN

Neben der CRCS und der PCV wurden in den letzten Jahren als ergänzende Makulopathien die Pachychoroidale Pigmentepitheliopathie (PPE) und die Pachychoroidale Neovaskulopathie (PNV) beschrieben (zudem auch das Peripapillary Pachychoroid Syndrome und der Focal Choroidal Excavation, die mangels Makulabeteiligung hier nicht besprochen werden sollen).

Das Besondere an diesem pachychoroidalen Spektrum der Makulopathien liegt darin, dass es sich aller Voraussicht nach nicht um vier Erkrankungen

handelt, sondern um eine Erkrankung in vier Stadien. Als Forschungsschwerpunkt der Universitäts-Augenklinik München wurde in den letzten Jahren die logische Einordnung dieser Phänotypen gelegt, woraus eine Stadieneinteilung resultiert (**Abb. 1**) [6]. Im Folgenden sollen die einzelnen Erkrankungsstadien kurz mit ihren spezifischen diagnostischen Zeichen und vor allem ihrer logischen Sequenz erläutert werden [6].

1. PACHYCHOROIDALE PIGMENTEPITHELIOPATHIE (PPE)

Die Pachychoroidale Pigmentepitheliopathie (PPE) stellt das Stadium 1 der Pachychoroidalen Makulopathien (**Tabelle 1**) dar [5]. Es zeigen sich eine charakteristische RPE-Arrosion, die sich in der

Pachychoroidale Erkrankungen der Makula	
0	Unkompliziertes Pachychoroid (UCP)
I	Pachychoroidale Pigmentepitheliopathie (PPE)
II	Chorioretinopathia centralis serosa (CSC)
III	Pachychoroidale Neovaskulopathie (PNV)
IIIa	mit neurosensorischer Abhebung (Überlappung mit CRCS)
IIIb	ohne neurosensorische Abhebung
IV	Pachychoroidale aneurysmale Type 1 CNV (PAT ₁) (früher: Polypoidale Choroidale Vaskulopathie, PCV)

Tabelle 1
 ■ Stadieneinteilung der Pachychoroidalen Makulopathien

Infrafrrot-Aufnahme ebenso wie im OCT gut über Bereichen choroidaler Leckage darstellen lässt [5]. Die PPE wird als forme fruste der CRCS verstanden und kann sich in eine CRCS umwandeln.

2. CHORIORETINOPATHIA CENTRALIS SEROSA (CRCS)

Die CRCS stellt das Stadium 2 der Pachychoroidalen Makulopathien dar. Kommt es über Stellen fokal verdickter Aderhaut mit choroidaler Leckage zu Mikrorissen im RPE, kann Flüssigkeit in den subretinalen Raum eintreten [5]. In Fällen ohne suffiziente Spontanresorption haben sich Mineralkortikoid-Antagonisten (Spironolacton, Eplereon), die half-dose Photodynamische Therapie (PDT) sowie auch neuere Laserverfahren (Mikropuls, sub-threshold etc.) neben den klassischen Lasertechniken (Quellpunktverödung extrafoveal) etabliert. In der Universitäts-Augenklinik München wird derzeit eine prospektive Studie zur Evaluation des Endpoint-Management Laserverfahrens (PASCAL Synthesis 523, Topcon Corporation, Tokio, Japan) bei chronischer CRCS durchgeführt (Leitung: Dr. med. Benedikt Schworm).

3. PACHYCHOROIDALE NEOVASKULOPATHIE (PNV, »CRCS MIT CNV«)

Wie von Mrejen und Kollegen letzters in einer Langzeit-Studie gezeigt, entwickelt etwa jeder vierte Patient mit CRCS eine CNV [7]. Die Terminologie dieser Komplikation ist derzeit uneinheitlich, sodass von manchen Ophthalmologen seit Jahren von »CRCS mit CNV« gesprochen wird, während andere Ophthalmologen den neuen Begriff »Pachychoroidale Neovaskulopathie« (PNV) bevorzugen. Da es durch die uneinheitliche Benennung zu Missverständnissen kommen kann, ist es ratsam, Augen mit CNV bei CRCS zukünftig einheitlich als PNV zu betiteln [6].

4. PACHYCHOROIDALE ANEURYSMALE TYP 1 CNV (PCV/AT1)

Es ist ziemlich sicher, dass es sich bei der PCV eigentlich um eine aneurysmale Typ 1 CNV handelt, die aufgrund von vaskulärem Stress Gefäßaus-sackungen entwickelt hat [8]. Aufgrund dieser Erkenntnis bevorzugt auch der Erstbeschreiber der PCV, Lawrence Yannuzzi, mittlerweile den Begriff »aneurysmale Typ 1 CNV« [8].

AB WANN IST EIN CHOROID EIN »PACHYCHOROID«?

Im konventionellen OCT lässt sich die Aderhaut oft nicht komplett gegen die Sklera abgrenzen

– hilfreich ist hier der enhanced depth imaging (EDI) Modus am OCT-Gerät, der eine bessere Tiefendarstellung erlaubt. Gemeinhin spricht man von einem Pachychoroid, wenn die subfoveale Aderhautdicke 350 µm übersteigt. Es ist jedoch zu beachten, dass mit zunehmendem Alter [9] als auch mit zunehmender Achslänge [10] die Aderhautdicke abnimmt. Ebenso zu beachten ist, dass therapeutische Interventionen die Aderhautdicke als Krankheitsdefinition eventuell unsicher bis unbrauchbar machen können. In einer Longitudinalstudie an Patienten mit CRCS, die aufgrund einer komplizierenden CNV eine langfristige anti-VEGF Therapie erhalten haben, konnten wir dieses Jahr zeigen, dass die mittlere Aderhautdicke im Jahr 1 nach im Mittel sieben anti-VEGF Injektionen um 25 ± 14 % abnahm. Dadurch zeigten, ausgehend von 86 % bei baseline, nach einem Jahr anti-VEGF Therapie nur noch 25 % der Augen ein Pachychoroid über 350 µm.

FAZIT

Dank der großen Fortschritte in der multimodalen Bildgebung, insbesondere der OCT-Angiographie, lässt sich mit der Beschreibung des Pachychoroidalen Erkrankungsspektrums eine neue differenti-aldiagnostische Schublade öffnen, die eine Vielzahl von Altersstufen betrifft. Es ist zu hoffen, dass die weitere Charakterisierung des Pachychoroidalen Spektrums es in Zukunft erlaubt, zielgerichtete Therapien zu entwickeln, um einen Sehverlust frühzeitig aufzuhalten.

LITERATUR

1. Chung S.E., Kang S.W., Lee J.H., Kim Y.T. Choroidal thickness in polypoidal choroidal vasculopathy and exudative age-related macular degeneration. *Ophthalmology*. 2011; 118 (5): 840–845.
2. Kuroda S., Ikuno Y., Yasuno Y., et al. Choroidal thickness in central serous chorioretinopathy. *Retina*. 2013; 33 (2): 302–308.
3. Von Graefe A. Ueber centrale recidivierende retinitis. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 1866; 12: 211–215.
4. Warrow D.J., Hoang Q.V., Freund K.B. Pachychoroid pigment epitheliopathy. *Retina*. 2013; 33 (8): 1659–1672.
5. Cheung C.M.G., Lee W.K., Koizumi H., Dansingani K., Lai T.Y.Y., Freund K.B. Pachychoroid disease. *Eye (Lond)*. 2019; 33 (11): 14–33.
6. Siedlecki J., Schworm B., Priglinger S.G. The Pachychoroid Disease Spectrum – And the Need for a Uniform Classification System. *Ophthalmology Retina*. 2019; (in press).
7. Mrejen S., Balaratnasingam C., Kaden T.R., et al. Long-term Visual Outcomes and Causes of Vision Loss in Chronic Central Serous Chorioretinopathy. *Ophthalmology*. 2019.
8. Dansingani K.K., Gal-Or O., Sadda S.R., Yannuzzi L.A., Freund K.B. Understanding aneurysmal type 1 neovascularization (polypoidal choroidal vasculopathy): a less-

- on in the taxonomy of 'expanded spectra' – a review. Clin Exp Ophthalmol. 2018; 46 (2): 189–200.
9. Akhtar Z., Rishi P., Srikanth R., Rishi E., Bhende M., Ramman R. Choroidal thickness in normal Indian subjects using Swept source optical coherence tomography. PLoS One. 2018; 13 (5): e0197457.
10. Flores-Moreno I., Lugo F., Duker J.S., Ruiz-Moreno J.M. The relationship between axial length and choroidal thickness in eyes with high myopia. Am J Ophthalmol. 2013; 155 (2): 314–319.e311.

Dr. med. Jakob Siedlecki studierte Medizin an der Ludwig-Maximilians-Universität München und der Technischen Universität München unter Förderung der Studienstiftung des deutschen Volkes und des Max Weber-Programms Bayern. Nach seiner Promotion »summa cum laude« über neue Therapieansätze bei neovaskulärer AMD übernahm er an der Augenklinik der Universität München die Leitung des Zentrums für intravitreale Therapie. Seine Forschungsschwerpunkte liegen in der Bildgebung und Therapie vaskulärer Netzhauterkrankungen sowie in der refraktiven Chirurgie. Als Autor zahlreicher wissenschaftlicher Publikationen ist er Mitglied

und Gastredner einer Vielzahl von nationalen und internationalen Fachgesellschaften (u.a. AAO, APAO, EURETINA, ESCRS, DOG).

Dr. med. Jakob Siedlecki

Augenklinik der Universität München
Mathildenstraße 8
80336 München
Tel. 089 / 4400-53811
Fax 089 / 4400-55160
E-Mail:
jakob.siedlecki@med.uni-muenchen.de



KONTAKT



Prof. Dr. med. Siegfried Priglinger studierte Biotechnologie und Medizin an der Universität Wien. Nach seiner Promotion »summa cum laude« folgte ein Forschungsaufenthalt am Schepens Eye Research Institute der Harvard Medical School in Boston, USA. Nach der Facharztausbildung an der Augenklinik der Universität München wurde er zum Oberarzt ernannt. Im Jahr 2006 erlangte er seine Habilitation über das Thema »Wundheilung in der Ophthalmologie«. Im Jahr 2007 wurde er Chefarzt der Augenklinik am Allgemeinen Krankenhaus Linz, Österreich. Nach seiner Ernennung zum außerplanmäßigen Professor im Jahr 2011 folgte er 2015 dem Ruf zum Lehrstuhlinhaber für Augenheilkunde an der Ludwig-Maximilians-Universität München. Klinisch liegt sein Schwerpunkt auf der (mikrochirurgischen) Behandlung von Netzhauterkrankungen. Sein chirurgisches Spektrum umfasst

weiterhin Operationen des Grauen Stars, des Grünen Stars, sowie (kerato)refraktive Eingriffe. Er ist Mitglied zahlreicher nationaler und internationaler Fachgesellschaften für Augenheilkunde sowie Autor von über 150 Publikationen in augenärztlichen Fachjournalen.

Prof. Dr. med. Siegfried Priglinger, FEBO

Direktor
Augenklinik der Universität München
Mathildenstraße 8
80336 München
Tel. 089 / 4400-53811
Fax 089 / 4400-55160
E-Mail:
s.priglinger@med.uni-muenchen.de



KONTAKT



Keratokonius und oxidativer Stress

M.SC. TANJA STACHON¹, DR. LORENZ LATTA¹,
 PROF. DR. BERTHOLD SEITZ¹, PROF. DR. NORA SZENTMÁRY^{1, 2}

1 Klinik für Augenheilkunde
 Universitätsklinikum des Saarlandes, UKS, Homburg/Saar, Deutschland

2 Klinik für Augenheilkunde
 Semmelweis Universität, Budapest, Ungarn

Keratokonius ist eine Erkrankung mit progressiver, kegelförmiger Vorwölbung und Verdünnung der Hornhaut, die etwa 1:2000 bis 1:500 der Bevölkerung betrifft. Die Ursachen des Keratokonius sind bis heute weitgehend ungeklärt. Zahlreiche Veränderungen der Hornhaut, die mit der Erkrankung einhergehen, sind allerdings erforscht. So sind bestimmte genetische Veränderungen nachgewiesen worden, z. B. im LOX Gen, COL5A1, TGFBI, ZNF469 und im RAB3GAP1 [1]. Die Ergebnisse weisen auf eine komplexe Erkrankung allerdings mit einer niedrigen Genotyp-Phänotyp Korrelation hin. Ebenso werden hormonelle Einflüsse [2, 3], der Effekt des Augenreibens [4], wie auch metabolische Ursachen diskutiert, und der Einfluss von oxidativem Stress [5]. Wahrscheinlich sind die genannten Veränderungen jedoch miteinander verknüpft.

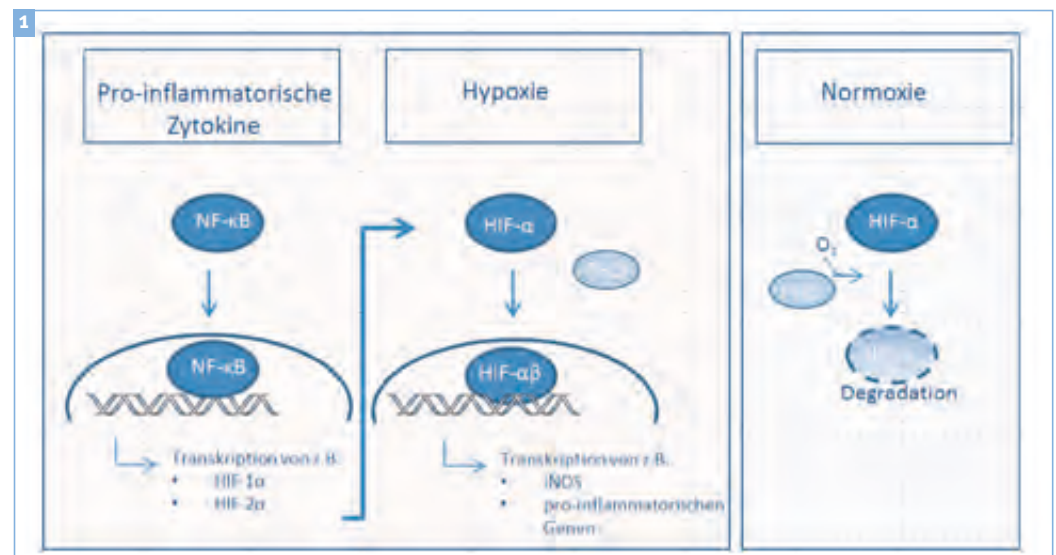
Grundsätzlich wurde der Keratokonius bisher als nichtentzündliche Erkrankung angesehen, allerdings wurden in den letzten Jahren zahlreiche Studien durchgeführt, in denen erhöhte Konzentrationen von pro-inflammatorischen Zytokinen wie Interleukin 4 (IL-4), IL-6 und TNF- α in Tränenflüssigkeit von Keratokonius Patienten nachgewiesen wurden [6]. So scheint zumindest eine entzündliche Kompo-

nente vorhanden zu sein. Entzündungsreaktionen gehen in der Regel mit einer verminderten Sauerstoffversorgung, also Hypoxie einher, welche zu oxidativen Stressreaktionen führen kann. Oxidativer Stress wird allerdings auch durch metabolische Veränderungen in den Keratozyten von Keratokonius Patienten hervorgerufen. So wurden Veränderungen bei der oxidativen Phosphorylierung, die zu einer Erhöhung der reaktiven Sauerstoffspezies (ROS) führen, nachgewiesen [7]. Eine erhöhte Konzentration an ROS wiederum kann entzündliche Prozesse auslösen.

Um diese Verbindung »Entzündung – Hypoxie – oxidativer Stress« bei Keratokonius Patienten näher zu untersuchen, haben wir zahlreiche Zellkultur-experimente unter hypoxischen Bedingungen durchgeführt.

In unseren früheren Experimenten haben wir bereits in kornealen Zellen von KC Patienten eine erhöhte mRNA Expression der »induzierten Nitrit Oxid Synthase« (iNOS) nachgewiesen [8]. iNOS wird in der Regel aufgrund entzündlicher Prozesse exprimiert. Der »nuclear factor 'kappa-light-chain-enhancer' of activated B-cells« (NF- κ B), ein Transkriptions-

Abbildung 1
Entzündung und Hypoxie
 Pro-inflammatorische Zytokine, wie z.B. IL-6 und TNF- α aktivieren den Transkriptionsfaktor NF- κ B, der unter anderem die Expression von HIF reguliert. Unter normalen Sauerstoffbedingungen wird HIF- α degradiert, während unter reduzierten Sauerstoffkonzentrationen HIF- α im Zellkern die Expression zahlreicher Gene steuert, z. B. iNOS, welches als freies Radikal zur Erregabwehr benötigt wird.



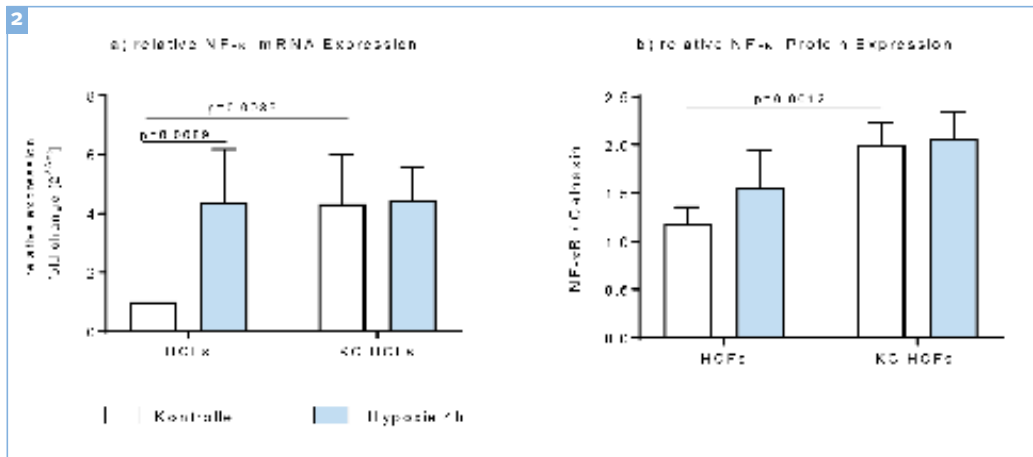


Abbildung 2
NF-κB quantitative PCR und semiquantitative Western blot Analyse in normalen (HCFs) und Keratokonus kornealen Fibroblasten (KC-HCFs) aus der Zellkultur.

Dargestellt sind die Mittelwerte ± SEM (n=8)
a) Relative NF-κB mRNA Expression. Im Gegensatz zu HCFs zeigen KC-HCFs keine Erhöhung der NF-κB mRNA Expression durch Hypoxie (4h CoCl₂).
b) Relative NF-κB Protein Expression. KC-HCFs zeigen eine höhere NF-κB Protein Expression, welche durch Hypoxie nicht weiter ansteigt (4h CoCl₂).

faktor, der wiederum von pro-inflammatorischen Zytokinen aktiviert wird, kann hier die Expression von iNOS regulieren (**Abbildung 1**). In der Regel wird das aufgrund des hypoxischen Milieus bei inflammatorischen Prozessen durch die »Hypoxie-induzierten Faktoren« (HIF) reguliert. Unter normoxischen Bedingungen wird HIF degradiert, liegt eine Hypoxie vor, wird HIF durch eine Prolyl-Hydroxylase (PHD) stabilisiert, gelangt in den Zellkern und induziert die Transkription mehrerer Gene, unter anderem iNOS. Allerdings kann NF-κB auch direkt am iNOS Promotor binden und so die Regulation steuern.

humanen kornealen Fibroblasten von Patienten mit einem Keratokonus (KC-HCF) (p=0,0089). Auch auf Proteinebene zeigen die KC-HCFs eine erhöhte Expression (p=0,0012) (**Abbildung 2a und b**). Dadurch würde auch die erhöhte mRNA Expression von iNOS durch KC-HCF erklärt (p<0,00019). Auf Proteinebene finden sich keine Unterschiede in der iNOS Expression zwischen normalen und KC-HCFs (**Abbildung 3a und b**). Möglicherweise liegt das an einem erhöhten iNOS Umsatz, oder an der Regulation der Zellen, die iNOS Konzentration nicht weiter zu erhöhen. Besonders zu erwähnen ist, dass kein Effekt durch hypoxische Einflüsse auf die Expression von NF-κB und iNOS bei KC-HCFs zu erfassen ist. Eine Begründung dafür wäre eine dauerhafte Stresssituation der Zellen, die metabolische Funktionen pathologisch verändert.

In humanen kornealen Fibroblasten (»Keratozyten«) von normalen Hornhäuten (HCF) lag die mRNA Expression von NF-κB signifikant niedriger, als in

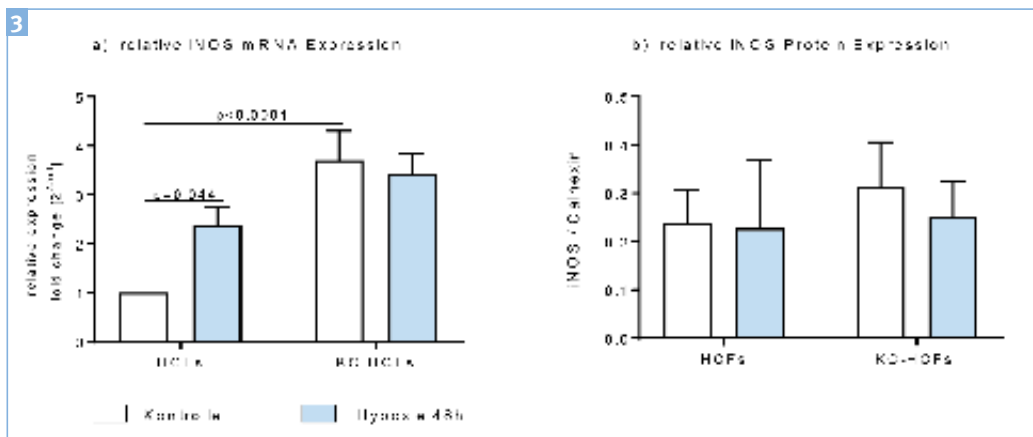
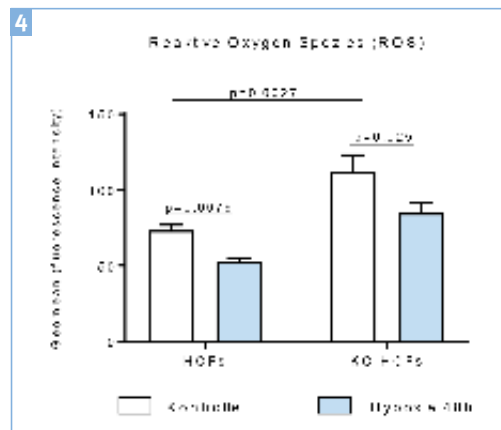


Abbildung 3
iNOS quantitative PCR und semiquantitative Western blot Analyse in normalen (HCFs) und Keratokonus kornealen Fibroblasten (KC-HCFs) aus der Zellkultur.

Dargestellt sind die Mittelwerte ± SEM (n=8)
a) Relative iNOS mRNA Expression. Im Gegensatz zu HCFs zeigen KC-HCFs keine Erhöhung der iNOS mRNA Expression durch Hypoxie (48h CoCl₂).
b) Relative iNOS Protein Expression. KC-HCFs zeigen auf Protein Ebene keine Unterschiede in der iNOS Expression. Hypoxie zeigt ebenfalls keinen Effekt auf die iNOS Protein Expression bei normalen oder KC-HCFs (48h CoCl₂).

Abbildung 4**Reaktive Oxygen Spezies (ROS) in normalen (HCFs) und Keratokonus kornealen Fibroblasten (KC-HCFs) aus der Zellkultur**

Dargestellt sind die Mittelwerte \pm SEM ($n=8$) KC-HCFs zeigen eine höhere ROS Konzentration als HCFs. Durch ein hypoxisches Milieu (48h CoCl_2) wurde bei beiden Zelltypen eine verminderte ROS Konzentration nachgewiesen.



Hypoxie verursacht in der Regel oxidativen Stress. Die Konzentration der reaktiven Oxygen Spezies (ROS) ist in KC-HCFs im Vergleich zu HCFs signifikant erhöht ($p=0,0027$). Durch ein hypoxisches Milieu wird die ROS Konzentration in HCFs und KC-HCFs reduziert ($p<0,025$). Wodurch diese reduzierte Produktion von ROS entsteht, ist durch unsere Daten bislang nicht zu erklären.

Zusammengefasst lässt sich aufgrund unserer Daten jedoch zeigen, dass beim Keratokonus eine inflammatorische Komponente vorhanden ist (erhöhte NF- κ B mRNA und Protein Expression in KC-HCFs), und hypoxische Einflüsse keinen Einfluss auf die Regulation von NF- κ B und iNOS im Gegen-

satz zu normalen Zellen haben. Was der Auslöser dieser erhöhten Expression von NF- κ B und damit auch eine erhöhte Expression von iNOS ist, muss weiter untersucht werden.

LITERATUR

1. Bykhovskaya Y., Margines B., Rabinowitz Y.S. Genetics in Keratoconus: where are we? Eye Vis (London, England) 2016; 3: 16.
2. Thanos S., Oellers P., Meyer Zu Horste M., et al. Role of Thyroxine in the Development of Keratoconus. Cornea 2016; 35: 1338–46.
3. Stachon T., Stachon A., Hartmann U., et al. Urea, uric acid, prolactin and fT4 concentrations in aqueous humor of keratoconus patients. Curr Eye Res 2017; 42: 842–6.
4. Gatinel D., Gatinel D. Challenging the »No Rub, No Cone« Keratoconus Conjecture n.d.: 66–81.
5. Soiberman U., Foster J.W., Jun A.S., et al. Pathophysiology of Keratoconus: What Do We Know Today. Open Ophthalmol J 2017; 11: 252–61.
6. McMonnies C.W. Inflammation and Keratoconus. Optom Vis Sci 2015; 92: e35–341.
7. Karamichos D., Hutcheon A. E. K., Rich C. B., et al. In vitro model suggests oxidative stress involved in keratoconus disease. Sci Rep 2014; 4: 4608.
8. Stachon T., Kolev K., Flasko Z., et al. Arginase activity, urea, and hydroxyproline concentration are reduced in keratoconus keratocytes. Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol 2017; 255: 91–7.

**KONTAKT****M. Sc. Tanja Stachon**

Klinik für Augenheilkunde
und Hochschulambulanz
Universitätsklinikum des Saarlandes
Kirrberger Straße 100
Tel. 06841 / 16-22325
Fax 06841 / 16-22400
E-Mail:
tanja.stachon@uniklinikum-saarland.de

Tanja Stachon ist Master of Science und wissenschaftliche Mitarbeiterin seit 2010 im biologischen Labor der Klinik für Augenheilkunde in Homburg/Saar tätig. Sie studierte Molecular Life Sciences an der Hoogeschool Arnhem in Nijmegen. Sie arbeitet an Forschungsprojekten über die Entstehung des Keratokonus.

PREISE UND AUSZEICHNUNGEN

Im Jahr 2012 ist Frau Stachon mit dem Posterpreis der DOG ausgezeichnet worden und erhielt 2016 den 1. Vortragspreis der Tagung der Rhein-Mainischen Augenärzte. 2017 wurde sie mit dem »Prof. Dr. Peter Theiss Forschungspreis« ausgezeichnet.

Künstliche Intelligenz, Versorgungsforschung, Frühgeborenenretinopathie und translationale Grundlagenforschung

PROF. DR. ANDREAS STAHL¹, PROF. DR. FRANK TOST¹,
DR. BASTIAN GRUNDEL¹, DIPL. PHYS. RICO GROSSJOHANN¹,
MARC-ANTOINE BERNARDEAU¹

Die Übertragung von Ergebnissen der Grundlagenforschung in die klinische Praxis ist für die Augenheilkunde von zentraler Bedeutung. Innovative Behandlungskonzepte werden, wie eine statistische Erhebung des *American Journal of Medicine* beispielhaft belegen konnte, nur in einem geringen Prozentsatz in adäquaten randomisierten Studien geprüft (27 von 101). Von 19 Studien mit positivem Ergebnis fanden nur 5 tatsächliche Anwendung in der Krankenversorgung. Umgekehrt gelangen Pseudoinnovationen aus der präklinischen Forschung, sogar mit kritischen Risiken, in den medizinischen Betreuungsprozess ohne dass die Ergebnisse dieser Studien kritisch hinterfragt und überprüft würden. Ein drittes Problemfeld stellt die Übertragung der Ergebnisse von Zulassungsstudien in die klinische Routine dar. Häufig können die positiven Ergebnisse aus Zulassungsstudien in der klinischen Routine nicht erreicht werden – sei es wegen unterschiedlicher Patientenselektion, sei es wegen mangelnder Therapieadhärenz, die oftmals in der klinischen Routine weit hinter den Vorgaben klinischer Studien zurückbleibt.

Der Translation von Grundlagenwissen über präklinische Forschung und klinische Studien in die Routineversorgung kommt deshalb eine besonders wichtige Aufgabe zu. Erst dadurch gelingt es, neue Behandlungskonzepte dem entscheidenden Realitätstest zu unterziehen. Zum einen können diese Fragen mit klassischen Ansätzen der Versorgungsforschung beantwortet werden. Zum anderen gewinnen moderne Forschungsansätze wie *Deep Learning*-Verfahren immer mehr an Bedeutung, indem sie es ermöglichen, sehr große Routinedatensätze auf patientenspezifische Parameter hin zu untersuchen, die mit dem Behandlungsverlauf korrelieren und damit möglichen prädiktiven Wert für die individuelle Patientenberatung generieren.

In Greifswald ist mit dem Forschungsverbund Community Medicine ein in Deutschland in dieser Form einzigartiger Forschungsschwerpunkt etabliert, der es ermöglicht Probandenkohorten über lange Zeitabschnitte hinweg longitudinal auszuwerten. Die Universitäts-Augenklinik Greifswald ist in diesen Forschungsverbund seit Jahren fest integriert.

Eine aktuelle Publikation aus dieser Forschungsaktivität stellte durch Auswertung von MRT-Aufnahmen eines großen Probandenkollektivs eine Korrelation zwischen der Bulbusposition in der Augenhöhle (Exophthalmometrie) und allgemeinen Körperparametern (body-mass-index[BMI], Taillen-, Hüftumfang) fest. Die Zunahme des Taillen-, Hüftumfanges geht signifikant mit einer Vorverlagerung des Sehorgans um 0,05 Millimeter einher und sollte als Einflussfaktor bei der Exophthalmometrie berücksichtigt werden. [1]

Ein neuer Forschungsschwerpunkt der Universitäts-Augenklinik Greifswald liegt auf der Anwendung künstlicher Intelligenz zur Analyse und Prädiktion von individuellen Patientenverläufen unter IVOM-Therapie. Hierfür werden in einer Kollaboration mit der Universitäts-Augenklinik Freiburg, der Hochschule Mittweida, der Universität Rostock und der Firma Averbis in einem BMBF-geförderten Projekt klinische Verlaufsdaten und OCT-Bilddaten von Patienten mit AMD, DMÖ und RVO analysiert. Ziel ist es, Vorhersagen über den individuellen Therapieverlauf bezüglich der Visusentwicklung zu ermöglichen. Hierfür werden in *Deep Learning*-Verfahren tiefe neuronale Netzwerke trainiert, die ausgehend von OCT-Bilddaten in Kombination mit klinischen Daten Visusschätzungen und Verlaufsprognosen generieren sollen. Details, siehe unter www.topos.averbis.de

Ein Schwerpunkt der klinischen, aber zunehmend auch der präklinischen Forschung am Standort Greifswald ist die Frühgeborenenretinopathie. Auf diesem Gebiet sind in den letzten Jahren durch die Einführung der Anti-VEGF Behandlung zahlreiche neue und äußerst relevante Fragestellungen entstanden: wie sicher ist die neue Behandlungsoption, wo liegt die ideale Dosis, was ist das beste Medikament, um nur einige aktuelle Probleme zu nennen. Für deren Klärung ist es notwendig, eine ausreichende, interdisziplinäre Datenbasis zu schaffen. Das seit 2011 bestehende Retina.net ROP Register wird seit 2019 vom Standort Greifswald aus koordiniert und hat das Ziel möglichst viele Behandlungsverläufe bei Frühgeborenenretinopathie zu sammeln und gemeinsam im Verbund auszuwerten.

1 Klinik und Poliklinik für Augenheilkunde, Universitätsmedizin Greifswald

Aktuell sind über 300 Behandlungsverläufe im Register dokumentiert und es sind bereits zwei Publikationen mit Registerdaten erschienen, zuletzt die mit dem Julius-Springer-Preis für Ophthalmologie ausgezeichnete Publikation im Ophthalmologen 2018. [2] Darüber hinaus wird auch die weltweit erste prospektiv randomisierte Studie zu Ranibizumab bei Frühgeborenenretinopathie, CARE-ROP, von Greifswald aus koordiniert. Die Daten des primären Endpunkts wurden 2018 publiziert, [3] die Daten der ein- und zwei-Jahresnachkontrollen werden aktuell ausgewertet.

Nicht zu vernachlässigen ist bei aller Bedeutung der klinischen Forschung die Basis, auf der jede Weiterentwicklung der Medizin begründet ist. **Die ophthalmologische Grundlagenforschung** nimmt an der Universitäts-Augenklinik in Greifswald eine wachsende Bedeutung ein. Wichtig ist bei allen hier durchgeführten Grundlagenprojekten der direkte Bezug zu klinischen Problemstellungen – daher die Bezeichnung translationale Grundlagenforschung im Beitragstitel. In einem aktuellen Projekt analysieren wir labortechnisch mikro-RNA Muster

bei Patienten mit verschiedenen retinalen Erkrankungen und setzen diese in den Kontext zu klinischen Erkrankungsstadien und -verläufen. Ziel ist es, neue Biomarker zu entdecken, die mit Krankheitsstadien und/oder -verläufen korrelieren. Die mikro-RNAs bieten hierfür aufgrund ihrer relativ hohen Stabilität und den noch zahlreichen offenen Fragestellungen hervorragende Möglichkeiten für neue Erkenntnisse.

LITERATUR

1. Schmidt P, Kempin R, Langner S, et al. Association of anthropometric markers with globe position: A population-based MRI study. PLoS ONE 2019; 14: e0211817.
2. Walz J.M., Bemme S., Reichl S., et al. [Treated cases of retinopathy of prematurity in Germany: 5-year data from the Retina.net ROP registry]. Ophthalmologie 2018; 115: 476–488.
3. Stahl A., Krohne T.U., Eter N., et al. Comparing Alternative Ranibizumab Dosages for Safety and Efficacy in Retinopathy of Prematurity: A Randomized Clinical Trial. JAMA Pediatr 2018; 172: 278–286.



Prof. Dr. med. Andreas Stahl, Jahrgang 1977, ist seit Januar 2019 Direktor der Klinik und Poliklinik für Augenheilkunde der Universitätsmedizin Greifswald. Während des Studiums der Humanmedizin in Freiburg im Breisgau verbrachte er ein Jahr am Imperial College in London, im Rahmen dessen auch der erste Kontakt mit dem Fach Augenheilkunde erfolgte. Die experimentelle Doktorarbeit erfolgte im Bereich Angiogenese in Freiburg mit sechsmonatigem Forschungsaufenthalt an der Harvard Medical

School in der Arbeitsgruppe von Prof. Michael Klagsbrun. Nach der Promotion 2005 absolvierte er die Facharztweiterbildung an der Universitäts-Augenklinik Freiburg, unterbrochen von einem zweijährigen DFG-geförderten Forschungsaufenthalt an der Harvard Medical School in der Arbeitsgruppe von Prof. Lois Smith. Die Habilitation erfolgte 2013 zum Thema »Pathogenese und Therapie angioproliferativer Netzhauterkrankungen«. Die weitere klinische Ausbildung bis zum Geschäftsführenden Oberarzt erfolgte ebenfalls an der Universitäts-Augenklinik Freiburg. Wichtige wissenschaftliche Projekte liegen im Bereich der Semaphorine (DFG-gefördert), der künstlichen Intelligenz (BMBF-gefördert) und der Frühgeborenenretinopathie (Investigator-Initiated Trial und Registerprojekt). Sein klinischer Schwerpunkt liegt auf der Hinterabschnittschirurgie, sowie der Diagnostik und Therapie von Makulaerkrankungen, diabetischer Retinopathie und Frühgeborenenretinopathie.

KONTAKT



Prof. Dr. Andreas Stahl
Klinik und Poliklinik für Augenheilkunde
Universitätsmedizin Greifswald
Ferdinand-Sauerbruch-Straße
17475 Greifswald
Tel. 03834 / 86-5900
Fax 03834 / 86-5902
E-Mail: klinikleitung@uni-greifswald.de
www2.medizin.uni-greifswald.de/augen/

Prof. Dr. med. Frank Tost, Jahrgang 1960, ist leitender Oberarzt der Klinik und Poliklinik für Augenheilkunde der Universitätsmedizin Greifswald. Nach der Schulausbildung am Thomas-Müntzer-Gymnasium in Halle/Saale und anschließendem Militärdienst studierte er an der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg und absolvierte auch dort die Weiterbildung zum FA für Augenheilkunde. Diplom-Mediziner 1984, Promotion 1988. Die Weiterbildung zum FA für Augenheilkunde erfolgte an der Augenklinik der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg. Nach seiner Habilitation zum Thema »Möglichkeiten und Grenzen der Impressionszytologie der Bindehaut des Auges« erhielt er 1995 die *venia legendi* für das Fach Augenheilkunde. 1998 erfolgte die Berufung zum Universitätsprofessor für Augenheilkunde an die Ernst-Moritz-Arndt-Universität Greifswald. Seine klinischen Schwerpunkte liegen in der okuloplastisch-rekonstruktiven und ästhetischen Chirurgie, der Behandlung von Augenoberflächenkrankungen sowie der Glaukom- und

Vorderabschnittschirurgie. Der Arbeitsbereich »Experimentelle Ophthalmologie und Telemedizin« in Greifswald wurde von ihm initiiert und seitdem betreut. 2004 entstand unter seiner Leitung im Ergebnis eines BMBF-Projektes der Versorgungsforschung die Teleaugendienst GmbH. Wissenschaftliche Arbeiten wurden mit Auszeichnungen honoriert u. a. Hermann-Wacker-Preis der DOG 1998, Richard-Merten-Preis 2006, Medical Prize der European Association of Computer Graphics 2009.



Prof. Dr. Frank Tost

Klinik und Poliklinik für Augenheilkunde
 Universitätsmedizin Greifswald
 Ferdinand-Sauerbruch-Straße
 17475 Greifswald
 Tel. 03834 / 86-5900
 Fax 03834 / 86-5902
 E-Mail: klinikleitung@uni-greifswald.de
www2.medizin.uni-greifswald.de/augen/

KONTAKT



Zukunftsweisende Diagnostik und Therapie des Trockenen Auges

PROF. DR. PHILIPP STEVEN¹, PROF. DR. MICHAEL E. STERN¹,
DR. UTA GEHLEN¹

1 Schwerpunkt
Trockenes Auge
und okuläre GvHD
Zentrum für
Augenheilkunde
Uniklinik Köln

Das Trockene Auge gehört zu den häufigsten chronischen Augenerkrankungen weltweit. Trotz großer Fortschritte bestehen deutliche diagnostische und therapeutische Lücken, die mit intensiven Forschungsanstrengungen und einer Verbesserung der Patientenversorgung gefüllt werden müssen. Der Schwerpunkt Trockenes Auge und okuläre GvHD der Uniklinik Köln kombiniert hierzu angewandte Grundlagenforschung mit translationalen Studien sowie klinische Versorgung von Schwerstbetroffenen mit Aus- und Weiterbildung.

»Trockenes Auge«, ein banaler Begriff für eine gar nicht banale Erkrankung. Jeder Patient, der nach zahlreichen erfolglosen Behandlungsversuchen verzweifelt und jeder Behandler, der trotz Leitliniengerechter Stufentherapie wiederkehrende, unzufriedene Patienten sieht, weiß das.

Auch wenn keine diagnostischen Verfahren zu erwarten sind, die mit einer einzelnen Messung eine detaillierte Diagnose stellen und auch wenn keine »Wundertherapien« in Entwicklung sind, die mit einer einmaligen Anwendung pro Woche die Mehrzahl der Patienten heilen werden, so sind doch große Fortschritte und neue Erkenntnisse zu erwarten, die die Behandlung des Trockenen Auges vereinfachen und den Anteil zufriedener Patienten steigern werden.

ZUKUNFTSWEISENDE DIAGNOSTIK

Die Verwendung digitaler Verfahren, die auf künstlichen neuronalen Netzwerken (syn. Deep Learning) beruhen, erlaubt bereits jetzt die schnelle Verarbeitung großer Bilddatensätze. Hierbei erfolgt nicht nur eine Aufbereitung der Daten, sondern auch eine automatisierte Bewertung, die dem Nutzer zum Beispiel hilft bestimmte Muster zu erkennen oder Dicken- und Volumenberechnungen nicht erst vornehmen zu müssen, sondern unmittelbar durch die Software zur Verfügung gestellt zu bekommen.

In unserer Arbeitsgruppe entwickeln wir im Rahmen eines EU-geförderten Projekts Algorithmen, um Deep Learning Strategien für die Bildgebung am Vorderen Augenabschnitt und insbesondere für die Diagnostik des Trockenen Auges zu verwenden. Unser Doktorand Asif Setu (MSc Computer Science) hat bereits Anwendungen programmiert, in denen Deep Learning derart verwendet wird, dass Infrarotabbildungen von Meibomdrüsen [1] automatisch erkannt und analysiert werden (**Abbildung 1**). So können, untersucherunabhängig, Länge, Krümmung, Breite und viele weitere Parameter im Bruchteil einer Sekunde analysiert werden. Um Kontrollfunktionen zu definieren, wird die Software derzeit so trainiert, dass sie kritisch vorgeht. Das heißt, dass zum Beispiel die Bildqualität vorab bewertet wird, um keine falschen Analysen durchzuführen.

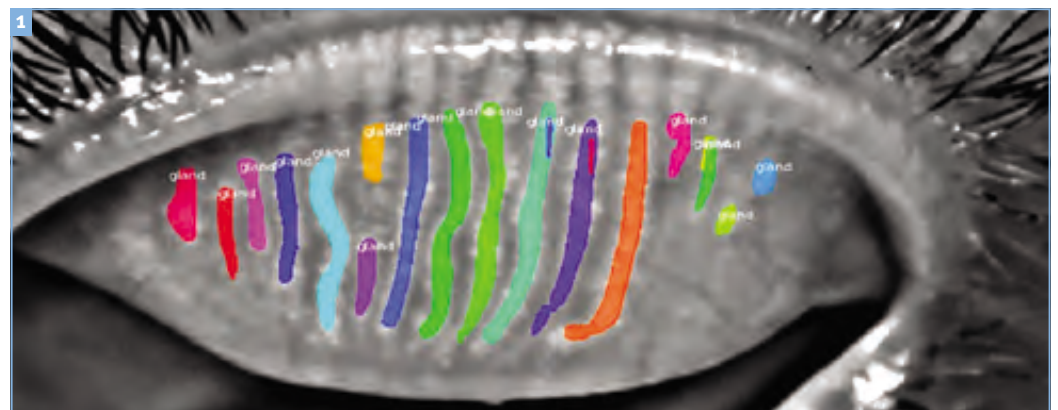


Abbildung 1

■ Meibographie mit automatischer Detektion der Meibomdrüsen mittels Deep Learning.

Unsere Gruppe arbeitet zusammen mit dem Institut für angewandte Ophthalmobiologie (IOBA) der Universität in Valladolid (Spanien) an weiteren Analyseverfahren für die Untersuchung von Hornhautnerven und weiterhin mit der Firma Heidelberg-Engineering an der Implementierung dieser neuen Tools für OCT-Anwendungen an der Augenoberfläche sowie für die intravitale Konfokalmikroskopie der Hornhaut.

Diese neuen Bildverarbeitungsstrategien werden außerdem in der experimentellen Imaging Facility eingesetzt, die als Projekt der DFG Forschergruppe FOR2240 (www.for2240.de) durch unserer Arbeitsgruppe geleitet wird. Hier führen wir grundlagenwissenschaftliche Experimente mit neuen OCT-Technologien wie Angio-OCT oder mikroskopische OCT an den zahlreichen in der FOR2240 zur Verfügung stehenden Entzündungs- und Angiogenesemodellen durch.

ZUKUNTSWEISENDE THERAPIE

Das in unserem Labor etablierte Modell des experimentellen Trockenen Auges [2] (**Abbildung 2**) ist durch höchste Standardisierung für die Entwicklung neuer Therapieverfahren optimal geeignet. Durch einen hohen Grad an Organisation in der Bestimmung der Read-out Parameter werden Daten generiert, die auch für Zulassungsverfahren verwendet werden können. Hierzu haben wir durch die Verwendung eines elektronischen Laborbuchs (<https://scinote.net>) und einer mehrfach verschlüsselten Datenbank (<https://tresorit.com>) zur sicheren Archivierung und Austausch von Forschungsdaten Strukturen geschaffen, die eine höchst erfolgreiche Zusammenarbeit mit Industriepartnern ermöglicht.

Aus diesen Zusammenarbeiten, die nicht nur die Grundlagenforschung sondern auch translationale Studien umfassen, sind in den vergangenen Jahren ein zugelassenes Medizinprodukt (NovaTears®, Novaliq GmbH, vermarktet als: EvoTears®, URSAPHARM Arzneimittel GmbH) und ein sich in Phase III befindliches Arzneimittel (CyclASoL®, Novaliq GmbH) entstanden [3, 4]. Beide Präparate ergänzen die Behandlung des Trockenen Auges, sowohl in der Verbesserung der Tränenfilmstabilität und der Funktion der Meibomdrüsen, als auch in einer nebenwirkungsarmen Hemmung der Oberflächenentzündung. Basierung auf dieser Kooperation

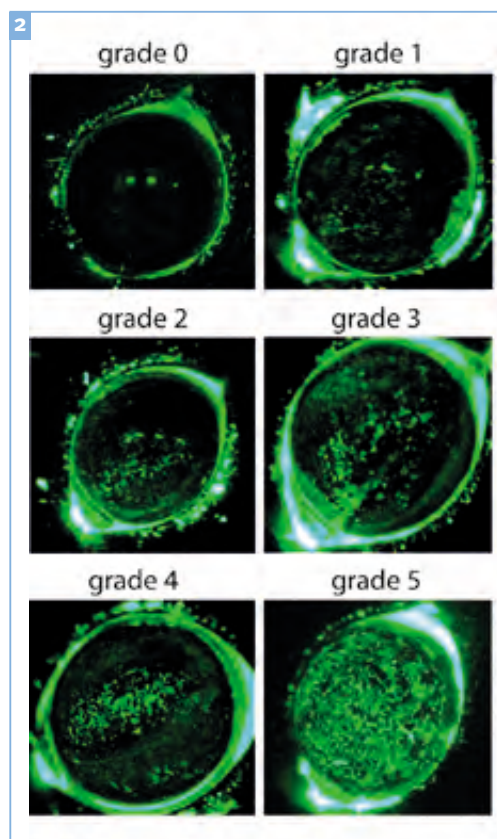


Abbildung 2

■ Fluoreszeinfärbung der Hornhaut in verschiedenen Schweregraden im Experimentellen Trockene Augen Mausmodell. (Original in: [2])

und gefördert durch ein weiteres EU Projekt arbeiten wir mit unserem Doktoranden Bao Tran (MSc Pharmazie) an der Entwicklung von Augentropfen, die durch die Bindung an Cannabinoid-Rezeptoren, Augenschmerzen beim Trockenen Auge behandeln sollen. Das auf einer Idee unserer Arbeitsgruppe beruhende Konzept könnte eine weitere hochrelevante therapeutische Lücke beim Trockenen Auge füllen, die aktuell stark im Fokus internationaler Forschung liegt.

Zur Erforschung neuer Behandlungsansätze des schweren Trockenen Auges nach Blutstammzelltransplantation wird derzeit von unserer DFG-geförderten Doktorandin Daniela Heß (MSc Biologie) ein Modell für okuläre Graft-versus-Host Disease etabliert. Damit werden in einem Projekt der FOR2240 Studien durchgeführt, die durch die Beeinflussung der Häm- und Lymphangiogenese, weitere neue Therapieoptionen zur Behandlung des Trockenen Auges in Aussicht stellen.

Abbildung 3

JACIE-akkreditierte ophthalmologische Untersuchungseinheit auf der Knochenmarkstransplantationsstation der Uniklinik Köln.



Prof. Dr. med. Philipp Steven



Dr. rer. nat. Uta Gehlsen



ZUKUNFTSWEISENDE PATIENTENVERSORGUNG

Alle vorangegangenen Bemühungen haben das gemeinsame Ziel, die Versorgung unserer Patienten zu verbessern. Dies gelingt nicht nur durch die frühe Einführung neuer diagnostischer und therapeutischer Verfahren, sondern vor allem durch eine Schwerpunktbildung mit Mobilisierung von Ressourcen trotz der dem Trockenen Auge typischen ökonomischen Einschränkungen.

Durch großzügige Unterstützung der Uniklinik Köln, der Pharmaunternehmen Novaliq und URSAPHARM sowie der Familie Ziehm ist es gelungen, 2018 am Zentrum für Augenheilkunde der Uniklinik Köln einen »Schwerpunkt für Trockenes Auge und okuläre GvHD« zu etablieren. Diese Anschubfinanzie-

rung ermöglicht es uns nicht nur, in Spezialsprechstunden ausschließlich beide Krankheitsbilder zu betreuen, sondern auch alle Patientendaten in einer Datenbank (EPISODE) zu erfassen, Patienten unmittelbar für Studien zu rekrutieren und vor allem den augenärztlichen Nachwuchs im Rahmen von 6-monatigen Rotationen auszubilden.

Als besonderen Bereich des Schwerpunkts gilt es das »Kompetenzzentrum für okuläre Graft-versus-Host Erkrankung« hervorzuheben, indem wir 2018 400 lokale, überregionale und internationale Patienten betreut haben. Das über das Kölner Transplantationsprogramm JACIE-akkreditierte Kompetenzzentrum verfügt über die weltweit einzige Untersuchungseinheit auf einer Knochenmarkstransplantationsstation (**Abbildung 3**). Dies ermöglicht es uns, Patienten unter Isolationsbedingungen genauso zu untersuchen und zu behandeln, wie bei einer Vorstellung in unserer Klinik, jedoch ohne Gefahr einer Infektion und mit deutlich reduzierten gesundheitlichen Belastungen.

Wir sind überzeugt, durch die Etablierung eines fokussierten translationalen Forschungsprogramms mit enger Verzahnung zu Spezialsprechstunden und der Etablierung eines Kompetenzzentrums für besonders schwer verlaufende Fälle des Trockenen Auges im Rahmen einer okulären GvHD, dem Ziel näher zu kommen, Patienten möglichst bald neue diagnostische Verfahren und Therapien anbieten zu können. Das interdisziplinäre Team des Schwerpunkts Trockenes Auge und okuläre GvHD der Uniklinik Köln arbeitet hierfür intensiv innerhalb großer Forschungsverbünde, sowie mit lokalen und internationalen Kooperationspartnern und Industriepartnern zusammen.

KONTAKT



Prof. Dr. med. Philipp Steven Dr. rer. nat. Uta Gehlsen

Schwerpunkt Trockenes Auge
und okuläre GvHD
Universität zu Köln
Zentrum für Augenheilkunde
Kerpener Str. 62
50937 Köln
Tel. 0221 / 478-85632
Fax 0221 / 478-32591
<http://www.for2240.de>
<http://www.itded3.eu>

LITERATUR

- Engel, L.A., et al., Meibography and meibomian gland measurements in ocular graft-versus-host disease. *Bone Marrow Transplant*, 2015. 50 (7): p. 961–7.
- Gehlsen, U., et al., A semifluorinated alkane (F4H5) as novel carrier for cyclosporine A: a promising therapeutic and prophylactic option for topical treatment of dry eye. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*, 2017. 255 (4): p. 767–775.
- Wirta, D.L., et al., A Clinical Phase II Study to Assess Efficacy, Safety, and Tolerability of CycIASol for Treatment of Dry Eye Disease. *Ophthalmology*, 2019.
- Steven, P., et al., Semifluorinated Alkane Eye Drops for Treatment of Dry Eye Disease – A Prospective, Multicenter Noninterventional Study. *J Ocul Pharmacol Ther*, 2015. 31 (8): p. 498–503.



Patienten mit trocken-gereizten Augen?



- **Dexpanthenol und Natriumhyaluronat**
 - Lang anhaltende Befeuchtung & Linderung von Symptomen des trockenen Auges
- **Ohne Konservierungsstoffe, mit Citratpuffer**
 - Gut verträglich auch bei längerer Anwendung
 - Für harte und weiche Kontaktlinsen geeignet
- **12 Monate Haltbarkeit bei der Mehrdosis-Flasche nach Anbruch**

Bepanthen® Augentropfen

L.DE.MKT.CC.08.2019.3734



Thermische Stimulation der Retina: von der translationalen Forschung zur experimentellen technischen Umsetzung

DR. JAN TODE¹, DR. CLAUS VON DER BURCHARD¹,
DR. ELISABETH RICHERT¹, PROF. DR. ALEXA KLETTNER¹,
DR. RALF BRINKMANN^{2,3}, PROF. DR. JOHANN ROIDER¹

1 **Universitätsklinikum
Schleswig-Holstein,**
Campus Kiel, Klinik
für Ophthalmologie,

2 **Medizinisches
Laserzentrum
Lübeck GmbH**

3 **Institut für
Biomedizinische Optik,**
Universität zu Lübeck

Die retinale Laserbestrahlung ist die Standardtherapie einer Vielzahl von Netzhauterkrankungen. Bei der retinalen Laserkoagulation werden Verdünnungsherde der Netzhaut erzeugt, die mit einem Funktionsverlust des bestrahlten Areals einhergehen. Diese Therapie ist im Bereich der Makula lutea (Bereich des zentralen Gebrauchsgesichts-

felds) problematisch, da sie zu einer Gesichtsfeld-einschränkung führen kann. Im Bereich der Fovea zentralis (Punkt des schärfsten Sehens) ist sie kontraindiziert, da eine retinale Koagulation in diesem Bereich zum Sehverlust führt. Bei der diabetischen Retinopathie (DRP) und bei der altersabhängigen Makuladegeneration (AMD), die zu-

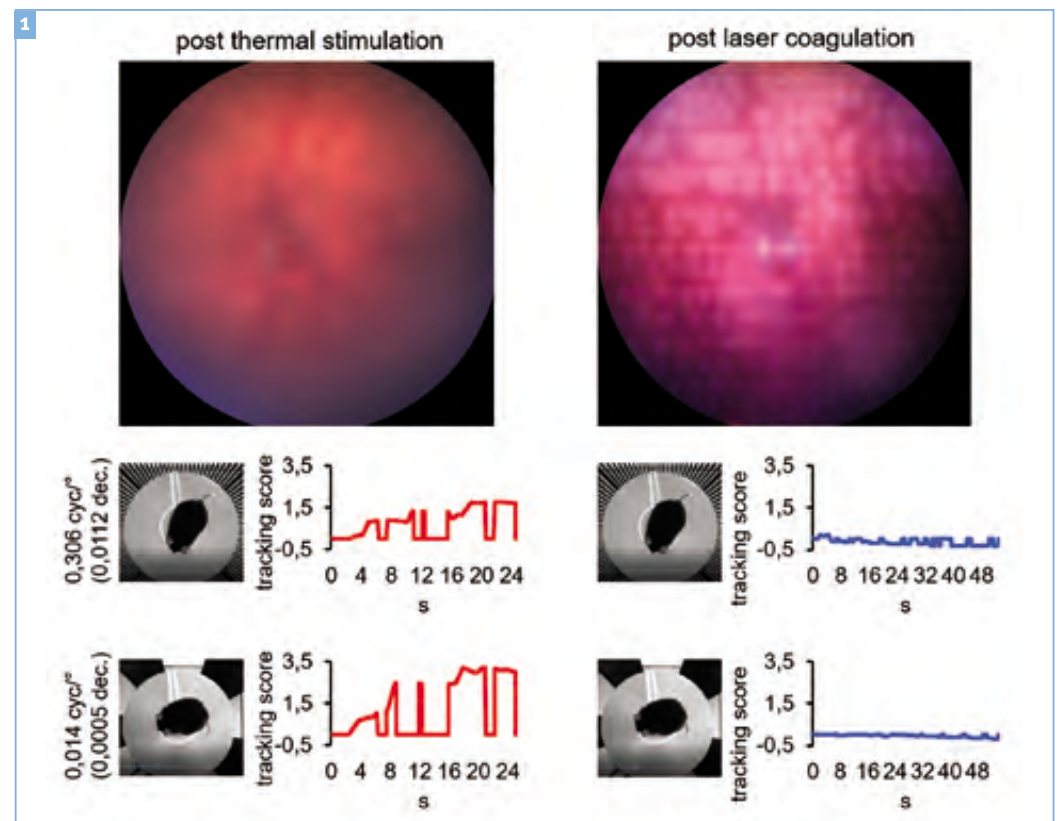


Abbildung 1

■ Visuelle Funktion mit der Optodrum

Links: Fundusbild einer Maus, 1 Woche nach thermischer Stimulation der Retina TSR mit 198 spots, 1 spot spacing, 4,3 mW, 10 ms, 50 μ m (30 % der letzten klinisch sichtbaren Schwelle). Darunter Tracking-Score derselben Maus bei unterschiedlicher Balkenweite (in cycles per degree). Überschreiten die Trackingbewegungen der Mausschnauze den Score eins, so gilt die Balkenweite als gesehen. Die Maus konnte nach der TSR 0,306 cyc/° oder 0,0112 Dezimalvisus erkennen (unverändert zum Zeitpunkt vor der Behandlung). Die TSR hatte keinen schädigenden Effekt auf die Sehleistung.

Rechts: 1 Woche nach überschweiliger Laserkoagulation mit 261 spots, ohne wesentliches Spacing, 40 mW, 10 ms, 50 μ m. Darunter tracking score derselben Maus nach Laserbehandlung bei unterschiedlicher Balkenweite. Die Maus konnte weder die obere Balkenweite (0,0112 Dezimalvisus) noch die untere (0,0005 Dezimalvisus) wahrnehmen.

sammen für etwa die Hälfte der Neuerblindungen in Deutschland ursächlich sind [1], kommt es genau in diesem Bereich zu Umbauvorgängen, Degeneration und Atrophie des retinalen Pigmentepithels (RPE), der Bruch'schen Membran (BrM), der Photorezeptoren und der retinalen Gefäßnetze. Für die zentralen degenerativen Prozesse gibt es bis dato keine adäquate Therapie.

Die aktuelle Therapie der Wahl eines visusmindernden zystoiden Makulaödems als fortgeschrittene Ausprägung der Erkrankung ist die wiederholte intravitreale anti-VEGF (vascular endothelial growth factor) Therapie [2, 3], die gute Erfolge zeigt. Diese Injektionstherapie kommt erst für die späten Erkrankungsstadien zur Anwendung.

In klinischen Studien [4, 5] und eigenen tierexperimentellen Vorarbeiten [6] konnte gezeigt werden, dass eine nicht-schädigende thermisch stimulierende Lasertherapie (TSR) zu einem Rückgang der pathologischen Netzhautveränderungen, sowohl des diabetischen Makulaödems [7] als auch der frühen AMD-typischen Veränderungen [6], führen

kann. Anders als bei der konventionellen Laserkoagulation kommt es hierbei zu keiner Schädigung der Photorezeptoren und somit nicht zu Gesichtsfeldausfällen oder Sehminderung. Daher könnte die TSR eine effektive, wenig invasive, komplikationsarme und kostengünstige Behandlungsoption darstellen.

Voraussetzung für diese subsichtbare Lasertherapie ist eine zuverlässige Temperaturmessung [8] und -regelung [9], um die Unversehrtheit der Photorezeptoren zu garantieren. Außerdem bedarf es eines Mapping-Systems zur Kartierung der subsichtbaren Laserherde, um eine Doppelbehandlung und damit mögliche Schädigungen zu vermeiden. Eine automatische Temperaturregelung der Lasertherapie sowie ein zuverlässiges Mapping-System zur Echtzeitregistrierung subsichtbarer Laserherde stellen ein Novum dar und werden derzeit im BMBF-geförderten Verbundprojekt »RegiLas« entwickelt. Beides garantiert ein hohes Maß an Sicherheit und Effektivität einer thermisch stimulierenden Lasertherapie im sensibelsten Bereich der Netzhaut, der Makula.

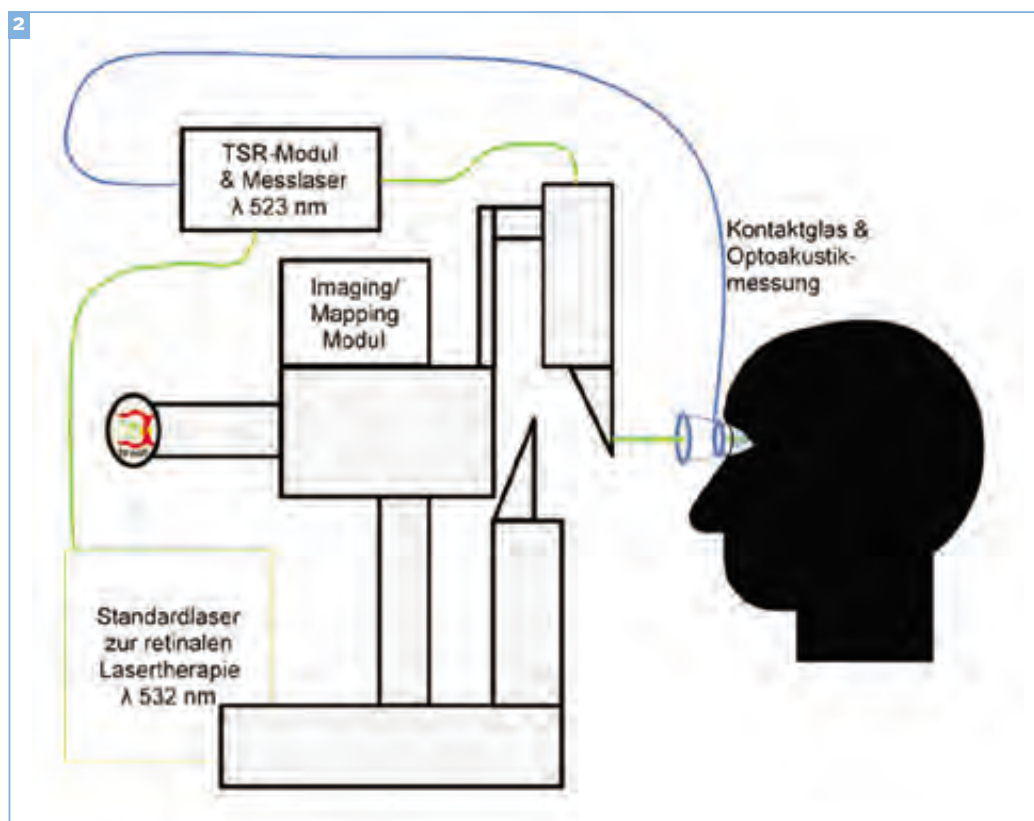
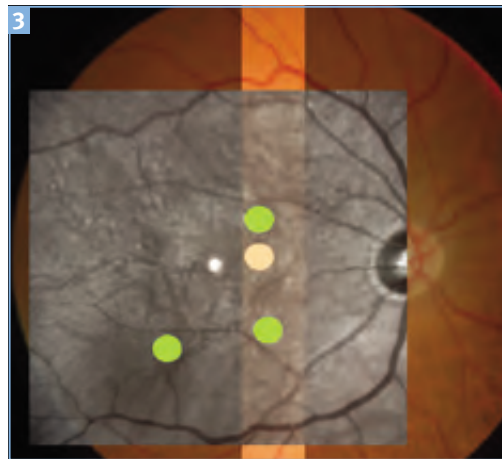


Abbildung 2
■ Schematischer Aufbau des integrierten TSR-Moduls sowie des Imaging/Mapping-Moduls

Während der Laserbestrahlung mittels Standardlaser zur retinalen Lasertherapie (grün) über das TSR-Modul und einen Laserlink wird die Zieltemperatur leistungsgeregelt in Echtzeit angepasst, indem per Kontaktglas mit integrierter Optoakustikmessung (blau) die an der Retina erreichte Temperatur live gemessen und an das TSR-Modul gemeldet wird. Die so erzeugten subsichtbaren Laserherde werden getrackt, per Livemapping markiert und in das Ocular der Spaltlampe in Echtzeit eingeblendet. So sieht der Behandler immer den Fundus, kann das optische Alignment anpassen und dennoch den Ort der TSR-Herde nachvollziehen.

Abbildung 3**■ Beispiel des Ocularbildes**

Der Funduseinblick verläuft standardmäßig über die indirekte Ophthalmoskopie an der Spaltlampe. Zusätzlich wird ein Infrarot-Fundusbild aufgenommen, getrackt und in das Ocular eingblendet. Die subsichtbaren TSR-Herde werden hier kartiert und ebenfalls eingblendet. Zusätzlich werden Informationen zur Leistung, Bestrahlungsdauer und Spotgröße eingblendet.



Im translationalen Ansatz der Maus konnten wir sowohl die anatomische als auch die funktionelle Sicherheit (siehe **Abb. 1**) der Lasermethode zeigen. Außerdem konnten wir einen therapeutischen Effekt der thermischen Stimulation auf AMD-typische Veränderungen der Bruch'schen Membran (BrM) und des retinalen Pigmentepithels (RPE) nachweisen [6].

In dem BMBF geförderten Verbundprojekt »Regi-Las« (Förderkennzeichen: 13N14360) werden die o.g. Überlegungen in ein System zum klinischen Einsatz am Menschen gegossen. Sowohl ein Mapping-Verfahren zur Registrierung der subsichtbaren Laserherde als auch die automatische Temperaturregelung über optoakustisches Feedback und eine Sicherheitsüberprüfung mittels funduskorreliertem Elektroretinogramm (ERG) werden hierbei integriert (siehe **Abb. 2**).

Mittels einer im Kontaktglas integrierten optoakustischen Sonde kann die Netzhaut-Temperatur während der Photokoagulation live gemessen werden. Diese Information wird an das TSR-Modul weitergegeben, welches einem Standard-Laser zur retinalen Photokoagulation und der Spaltlampe zwischengeschaltet ist.

Das Modul kann so bedarfsgerecht die Laserleistung zeitlich regeln, um die gewünschte Zieltemperatur zu erreichen. Langfristig ist die Entwicklung des TSR-Systems der nächste Schritt zur Implementierung einer neuen Lasertherapie zur Behandlung der diabetischen Makulopathie oder sogar der trockenen AMD. Im Rahmen des Projekts ist eine Pilotstudie mit einer TSR-Behandlung und Spaltlampen-integriertem Echtzeit-Mapping mit Einspiegelung in das Spaltlampenocular (siehe **Abb. 3**) geplant.

LITERATUR

1. Knauer, C. & Pfeiffer, N. Erblindung in Deutschland – heute und 2030. *Ophthalmol.* 103, 735–741 (2006).
2. CATT Research Group et al. Ranibizumab and bevacizumab for neovascular age-related macular degeneration. *N. Engl. J. Med.* 364, 1897–1908 (2011).
3. Korobelnik, J.-F. et al. Intravitreal aflibercept for diabetic macular edema. *Ophthalmology* 121, 2247–2254 (2014).
4. Lavinsky, D. & Palanker, D. Nondamaging photothermal therapy for the retina: initial clinical experience with chronic central serous retinopathy. *Retina Phila. Pa* 35, 213–222 (2015).
5. Lavinsky, D. et al. Nondamaging Retinal Laser Therapy: Rationale and Applications to the Macula. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 57, 2488–2500 (2016).
6. Tode, J. et al. Thermal Stimulation of the Retina Reduces Bruch's Membrane Thickness in Age Related Macular Degeneration Mouse Models. *Transl. Vis. Sci. Technol.* 7, 2 (2018).
7. Park, Y. G., Kim, E. Y. & Roh, Y. J. Laser-based strategies to treat diabetic macular edema: history and new promising therapies. *J. Ophthalmol.* 2014, 769213 (2014).
8. Brinkmann, R. et al. Real-time temperature determination during retinal photocoagulation on patients. *J. Biomed. Opt.* 17, 061219 (2012).
9. Baade, A. et al. Power-controlled temperature guided retinal laser therapy. *J. Biomed. Opt.* 22, 1–11 (2017).

Dr. Jan Tode ist Wissenschaftler und Facharzt für Augenheilkunde an der Klinik für Ophthalmologie am Universitätsklinikum Schleswig-Holstein Campus Kiel. Während des Medizinstudiums an der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel (CAU) begann er als wissenschaftlicher Mitarbeiter am Physiologischen Institut der CAU im Labor von Prof. Dr. Wilfrid Jänig. Er promovierte 2012 zum Thema »Charakteristika regenerierender Muskelaifferenzen nach Nervendurchtrennung des Nervus gastrocnemius-soleus und Kreuzanastomose an den Nervus suralis«. Von 2011 bis 2016 absolvierte Dr. Tode seine Facharztausbildung.

Er übernahm 2013 die Leitung des tierexperimentellen Labors der Klinik für Ophthalmologie in enger Zusammenarbeit mit Dr. Elisabeth Richert, Prof. Dr. Johann Roider und Prof. Dr. Alexa Klettner. Sein wissenschaftlicher Schwerpunkt liegt auf der translationalen Erforschung neuer therapeutischer Ansätze zur Behandlung

der Uveitis insbesondere Interleukin-6-Modifikatoren, sowie neuer Ansätze zur Behandlung der AMD vor allem schonende Laserverfahren. Dr. Tode ist Prüfarzt mehrerer klinischer Studien mit retinologischem Schwerpunkt zur Implementierung neuer Laserverfahren in den Menschen sowie zur Erforschung subretinaler Netzhautprothesen.

**Dr. Jan Tode**

Klinik für Ophthalmologie
UKSH, Campus Kiel
Arnold-Heller-Straße 3
24105 Kiel
Tel. 0431 / 500-24387
Fax 0431 / 500-24204
E-Mail: Jan.Tode@uksh.de

KONTAKT

Künstliche Intelligenz in der ophthalmologischen Diagnostik

DR. MED. MAXIMILIAN TREDER¹, UNIV.-PROF. DR. MED. NICOLE ETER¹

¹ Klinik für Augenheilkunde, Universitätsklinikum Münster

»Künstliche Intelligenz« (KI) beschreibt von Maschinen durchgeführte automatisierte, »intelligente« Entscheidungsprozesse und ist in verschiedenen Ausprägungen schon seit mehr als einem halben Jahrhundert bekannt [1, 2]. In den letzten Jahren ist es allerdings durch die Einführung neuer Algorithmusarchitekturen mit einer deutlichen Verbesserung der Performance und Funktionalität zu einem wahren »Hype« in verschiedensten Lebensbereichen gekommen. Hierbei sind besonders das »Maschinelle Lernen« und das »Deep Learning« als Unterformen der KI hervorzuheben. Das besondere dieser Unterformen ist die Fähigkeit der Algorithmen aus vorhandenen Informationen selbstständig zu »lernen« [1, 3, 4]. Hierdurch konnte eine deutliche Verbesserung der Performance erreicht werden. Als besonders effektiv und verbunden mit sehr guten Ergebnissen hat sich das »Deep Learning« gezeigt [1, 3, 4]. Hierbei wird als Algorithmus ein sogenanntes tiefes neuronales Netzwerk verwendet. Vereinfachend beschrieben werden dabei Eingangs-

informationen (Inputs) über verschiedene Bearbeitungsschichten (Hidden-Layers) zunehmend komplexer verarbeitet. Am Ende steht eine Ausgabe von Wahrscheinlichkeitswerten (Outputs), anhand derer verschiedene Aufgaben automatisiert durchgeführt werden können (**Abbildung 1**) [1, 3, 4].

ANWENDUNGEN IN DER AUGENHEILKUNDE

Neben anderen medizinischen Bereichen, wie v. a. der Radiologie, ist die Augenheilkunde aufgrund der vielfältigen Bildgebungsmöglichkeiten besonders für die Anwendung von KI geeignet [1, 4]. Für die automatische Interpretation von Bildern lassen sich die Veröffentlichungen in der Literatur zum Großteil in die Anwendungsbereiche Segmentierung, Detektion bzw. Klassifizierung und Prädiktion einteilen [1]. Anwendungsbereiche sind dabei sowohl der vordere, als auch der hintere Augenabschnitt [4].

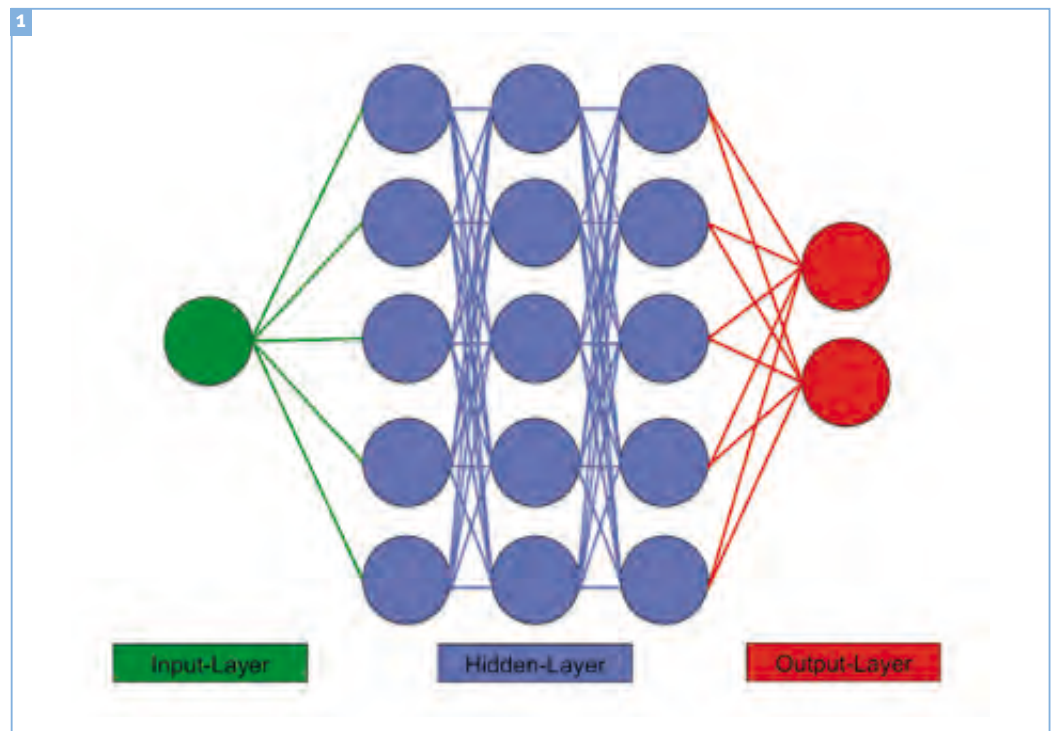


Abbildung 1

■ Schematische Darstellung eines neuronalen Netzwerkes.

SEGMENTIERUNG

In Bezug auf die Segmentierung bietet sich die Möglichkeit der automatischen Identifikation und Markierung von anatomischen Strukturen oder Läsionen, verbunden mit der Möglichkeit einer automatischen Quantifizierung. Eine korrekte automatische Segmentierung bei pathologisch veränderten Bildern, z. B. in der optischen Kohärenztomographie (OCT), ist häufig durch die geräteeigene Software nicht fehlerfrei möglich. Besonders interessant ist in diesem Zusammenhang die automatische Identifizierung verschiedener Netzhautschichten bei pathologischen OCTs z. B. im Rahmen einer altersbedingten Makuladegeneration (AMD) [5–8], aber auch die korrekte krankheitsunabhängige Ermittlung der zentralen retinalen Schichtdicke [9, 10]. Auch im Zusammenhang mit der Nervenfaserschichtbeurteilung im OCT im Zusammenhang mit einem Glaukom ist eine korrekte Segmentierung unabdingbar, auch hier kann künstliche Intelligenz helfen die Diagnostik zu verbessern [11, 12]. In einer kürzlich erschienenen Studie von Daniel et al. 2019 gelang eine automatische Segmentierung des kornealen Endothels mithilfe eines neuronalen Netzes [13].

Damit eine Bildinterpretation jedoch überhaupt sinnvoll möglich ist, ist immer auch eine Qualitätsbeurteilung der Bilder notwendig. Dass diese mithilfe von künstlicher Intelligenz möglich ist, konnte unsere Arbeitsgruppe kürzlich für OCT-Angiographieaufnahmen zeigen [14], einer anderen Arbeitsgruppe gelang dies für OCT-Vorderaugenabschnittsaufnahmen [15].

DETEKTION BZW. KLASSIFIKATION

Ein Großteil der Literatur über die Verwendung von künstlicher Intelligenz in der Augenheilkunde beschäftigt sich mit einer automatischen Detektion bzw. Klassifikation ophthalmologischer Bildgebung. Hierbei können im Zusammenhang mit der retinalen Diagnostik u. a. Veränderungen einer diabetischen Retinopathie, einer AMD oder eines retinalen Venenverschlusses automatisch erkannt und auch quantifiziert werden [16–19]. Besonders interessant ist die Möglichkeit einer automatischen Therapieentscheidung im Zusammenhang mit einer Anti-Vascular Endothelial Growth Factor (Anti-VEGF)-Therapie bei Makulaödem [20, 17]. 2018 wurde erstmalig ein auf »Deep Learning« basierendes Diagnosegerät zur Erkennung einer

diabetischen Retinopathie anhand von Fundusfotographien durch die U.S. Food and Drug Administration (FDA) zugelassen [21–23].

Im Zusammenhang mit der Papillendiagnostik ist ebenfalls die Detektion und Klassifizierung eines Glaukoms mit hoher Genauigkeit möglich [24–27]. Der Arbeitsgruppe um Garcia-Martin et al. 2015 gelang die automatische Erkennung einer Multiplen Sklerose anhand von OCT-Nervenfaserschicht-Aufnahmen [28]. Unsere Arbeitsgruppe nutzte ein tiefes neuronales Netzwerk zur automatischen Detektion einer Transplantatablösung nach Decemet Membrane Endothelial Keratoplasty (DMEK) [29].

PRÄDIKTION

Die automatische Prädiktion bietet die Möglichkeit aus Bildinformationen prognostische Aussagen zu tätigen. Damit besteht langfristig die Möglichkeit künstliche Intelligenz zu nutzen, um versteckte Biomarker in den verschiedenen Bildgebungsmodalitäten aufzudecken und individualisierte Diagnose-, Progressions- und Therapieaussagen zu tätigen. Konkrete Anwendungsmöglichkeiten für die Augenheilkunde die dabei bereits in Studien erfolgreich überprüft wurden, umfassen dabei beispielsweise die Vorhersage des Therapiebedarfs einer intravitrealen Anti-VEGF-Therapie [30] sowie die Progression von früher und intermediärer AMD [31, 32]. Unserer Arbeitsgruppe gelang es zudem ein tiefes neuronales Netzwerk zu nutzen, um durch automatische Subklassifizierung einer geographischen Atrophie auf das Progressionsrisiko zu schließen [18].

ZUKUNFTSAUSBLICK

Die künstliche Intelligenz bietet für die Zukunft der ophthalmologischen Diagnostik sehr interessante Anwendungsfelder. Wie die Literatur zeigt, geht es dabei nicht um arzt ersetzende Maßnahmen, sondern um die Schaffung arztunterstützender Systeme. Hierdurch kann eine Verbesserung der vorhandenen Diagnostik z. B. durch automatische Segmentierung, eine Zeitersparnis in der Bildinterpretation durch Minimierung zeitaufwendiger Tätigkeiten sowie die Möglichkeit zur individualisierten Medizin durch Prädiktion erreicht werden.

SCHLÜSSELWÖRTER

- künstliche Intelligenz
- Deep Learning
- Maschinelles Lernen

LITERATUR

1. Schmidt-Erfurth U., Sadeghipour A., Gerendas B., Waldstein S., Bogunovič H. (2018) Artificial intelligence in retina. *Prog Retin Eye Res* 67: 1–29.
2. Hendler J. (2006) Introducing the Future of AI. *IEEE Intelligent Systems* 21 (3): 2–4.
3. Angermueller C., Pärnamaa T., Parts L., Stegle O. (2016) Deep learning for computational biology. *Mol Syst Biol* 12 (7): 878.
4. Treder M., Eter N. (2018) »Deep Learning« und neuronale Netzwerke in der Augenheilkunde – Einsatzmöglichkeiten im Bereich der optischen Kohärenztomographie. *Ophthalmologie* 115 (9): 714–721.
5. Fang L., Cunefare D., Wang C., Guymer R., Li S., Farsiu S. (2017) Automatic segmentation of nine retinal layer boundaries in OCT images of non-exudative AMD patients using deep learning and graph search. *Biomed Opt Express* 8 (5): 2732–2744.
6. Ji Z., Chen Q., Niu S., Leng T., Rubin D. (2018) Beyond Retinal Layers: A Deep Voting Model for Automated Geographic Atrophy Segmentation in SD-OCT Images. *Transl Vis Sci Technol* 7 (1): 1.
7. Xu R., Niu S., Chen Q., Ji Z., Rubin D., Chen Y. (2019) Automated geographic atrophy segmentation for SD-OCT images based on two-stage learning model. *Comput Biol Med* 105: 102–111.
8. Xu Y., Yan K., Kim J., Wang X., Li C., Su L., Yu S., Xu X., Feng D. (2017) Dual-stage deep learning framework for pigment epithelium detachment segmentation in polypoidal choroidal vasculopathy. *Biomed Opt Express* 8 (9): 4061–4076.
9. Liefers B., Venhuizen F., Schreur V., van Ginneken B., Hoyng C., Fauser S., Theelen T., Sánchez C. (2017) Automatic detection of the foveal center in optical coherence tomography. *Biomed Opt Express* 8 (11): 5160–5178.
10. Venhuizen F.G., van Ginneken B., Liefers B., van Grinsven M., Fauser S., Hoyng C., Theelen T., Sanchez C. I. (2017) Robust total retina thickness segmentation in optical coherence tomography images using convolutional neural networks. *Biomed Opt Express* 8 (7): 3292–3316.
11. Devalla S., Chin K., Mari J., Tun T., Strouthidis N., Aung T., Thiéry A., Girard M. (2018) A Deep Learning Approach to Digitally Stain Optical Coherence Tomography Images of the Optic Nerve Head. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 59 (1): 63–74.
12. Larrosa J.M., Polo V., Ferreras A., Garcia-Martin E., Calvo P., Pablo L.E. (2015) Neural Network Analysis of Different Segmentation Strategies of Nerve Fiber Layer Assessment for Glaucoma Diagnosis. *J. Glaucoma* 24 (9): 672–678.
13. Daniel M., Atzrodt L., Bucher F., Wacker K., Böhringer S., Reinhard T., Böhringer D. (2019) Automated segmentation of the corneal endothelium in a large set of 'real-world' specular microscopy images using the U-Net architecture. *Sci Rep* 1: 4752.
14. Laueremann J., Treder M., Alhawaiseh M., Clemens C., Eter N., Alten F. (2019) Automated OCT Angiography image quality assessment using a deep learning algorithm. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. doi: 10.1007/s00417-019-04338-7.
15. Niwas S.I., Jakhetiya V., Lin W., Kwok C.K., Sng C.C., Aquino M.C., Victor K., Chew P.T. (2016) Complex wavelet based quality assessment for AS-OCT images with application to Angle Closure Glaucoma diagnosis. *Comput Methods Programs Biomed* 130: 13–21.
16. Schlegl T., Waldstein S.M., Bogunovic H., Endstrasser F., Sadeghipour A., Philip A.M., Podkowiński D., Gerendas B.S., Langs G., Schmidt-Erfurth U. (2017) Fully Automated Detection and Quantification of Macular Fluid in OCT Using Deep Learning. *Ophthalmology* 125 (4): 549–558.
17. Treder M., Laueremann J.L., Eter N. (2018) Automated detection of exudative age-related macular degeneration in spectral domain optical coherence tomography using deep learning. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 256 (2): 259–265.
18. Treder M., Laueremann J.L., Eter N. (2018) Deep learning-based detection and classification of geographic atrophy using a deep convolutional neural network classifier. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 256 (11): 2053–2060.
19. Hwang D.K., Hsu C.C., Chang K.J., Chao D., Sun C.H., Jheng Y.C., A.A.Y., Wu J.C., Tsai C.Y., Wang M.L., Peng C.H., Chien K.H., Kao C.L., Lin T.C., Woung L.C., Chen S.J., Chiou S.H. (2019) Artificial intelligence-based decision-making for age-related macular degeneration. *Theranostics* 9 (1): 232–245.
20. Prahś P., Radeck V., Mayer C., Cvetkov Y., Cvetkova N., Helbig H., Marker D. (2018) OCT-based deep learning algorithm for the evaluation of treatment indication with anti-vascular endothelial growth factor medications. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 256 (11): 91–98.
21. Abràmoff M., Folk J., Han D., Walker J., Williams D., Russell S., Massin P., Cochener B., Gain P., Tang L., Lamard M., Moga D., Queller G., Niemeijer M. (2013) Automated analysis of retinal images for detection of referable diabetic retinopathy. *JAMA Ophthalmol* 131 (3): 351–357.
22. Abràmoff M., Lou Y., Erginay A., Clarida W., Amelon R., Folk J., Niemeijer M. (2016) Improved Automated Detection of Diabetic Retinopathy on a Publicly Available Dataset Through Integration of Deep Learning. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 57 (13): 5200–5206.
23. www.fda.gov/news-events/press-announcements/fda-permits-marketing-artificial-intelligence-based-device-detect-certain-diabetes-related-eye (Zugriff: 23.07.2019).
24. Muhammad H., Fuchs T.J., De Cuir N., De Moraes C.G., Blumberg D.M., Liebmann J.M., Ritch R., Hood D.C. (2017) Hybrid Deep Learning on Single Wide-field Optical Coherence tomography Scans Accurately Classifies Glaucoma Suspects. *J Glaucoma* 26 (12): 1086–1094.
25. Huang M., Chen H. (2005) Development and Comparison of Automated Classifiers for Glaucoma Diagnosis Using Stratus Optical Coherence Tomography. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 46 (11): 1786–1794.
26. Grewal D., Jain R., Grewal S., Rihani V. (2008) Artificial neural network-based glaucoma diagnosis using retinal fiber layer analysis. *Eur J Ophthalmol* 18 (6): 915–921.
27. Belghith A., Bowd C., Weinreb R., Zangwil L. (2014) A hierarchical framework for estimating neuroretinal rim area using 3D spectral domain optical coherence tomography (SD-OCT) optic nerve head (ONH) images of healthy and glaucoma eyes. *Conf Proc IEEE Eng Med Biol Soc* 2014 (2014): 3869–3872.
28. Garcia-Martin E., Herrero R., Bambo M.P., Ara J.R., Marfin J., Polo V., Larrosa J.M., Garcia-Feijoo J., Pablo L.E. (2015) Artificial neural network techniques to improve

- the ability of optical coherence tomography to detect optic neuritis. *Semin Ophthalmol* 30 (1): 11–19.
29. Treder M., Lauer mann J., Alhawsieh M., Eter N. (2019) Using Deep Learning in Automated Detection of Graft Detachment in Descemet Membrane Endothelial Keratoplasty – A Pilot Study. *Cornea* 38 (2): 157–161.
30. Bogunovic H., Waldstein S. M., Schlegl T., Langs G., Sadeghipour A., Liu X., Gerendas B.S., Osborne A., Schmidt-Erfurth U. (2017) Prediction of Anti-VEGF Treatment Requirements in Neovascular AMD Using a Machine Learning Approach. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 58 (7): 3240–3248.
31. Bogunovic H., Montuoro A., Baratsits M., Karantonis M., Waldstein S., Schlanitz F., Schmidt-Erfurth U. (2017) Machine Learning of the Progression of Intermediate Age-Related Macular Degeneration Based on OCT Imaging. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 58 (6): BIO141–BIO150.
32. Schmidt-Erfurth U., Waldstein S., Klmscha S., Sadeghipour A., Hu X., Gerendas B., Osborne A., Bogunovic H. (2018) Prediction of Individual Disease Conversion in Early AMD Using Artificial Intelligence. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 59 (8): 3199–3208.



Dr. med. Maximilian Treder ist Assistenzarzt an der Klinik für Augenheilkunde des Universitätsklinikums Münster. Das Medizinstudium absolvierte er von 2009 bis 2015 an der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster. Er promovierte 2016 im biomechanischen Labor der ansässigen Unfall-, Hand- und Wiederherstellungschirurgie. Sein Promotionsthema beschäftigte sich mit von Präzisionsrobotern durchgeführten biomechanischen Messungen verschiedener Kreuzbandplastiken. Aktuell beschäftigt er sich vor allem mit der Anwendung von Big Data und künstlicher Intelligenz in der Ophthalmologie. Ein weiteres For-

schungsinteresse gilt der klinischen Anwendung multimodaler retinaler Bildgebung.

Dr. med. Maximilian Treder

Klinik für Augenheilkunde
Universitätsklinikum Münster
Domagkstraße 15
48149 Münster
Tel. 0251/83-56001
Fax 0251/83-56002
E-Mail: maximilian.treder@ukmuenster.de

KONTAKT



Prof. Dr. med. Nicole Eter ist Lehrstuhlinhaberin und Direktorin der Klinik für Augenheilkunde am Universitätsklinikum Münster und Prodekanin im Dekanat der Medizinischen Fakultät. Ihr Studium der Humanmedizin absolvierte sie an der Universität Bonn (1988–1994) und legte dort die Facharztprüfung zur Fachärztin für Augenheilkunde ab (1999). Von 2002 bis 2010 war sie leitende Oberärztin der Universitäts-Augenklinik in Bonn, und leitete dies kommissarisch von 2002 bis 2003. Promotion (1995), Habilitation (2002) und APL-Professur (2007) erfolgten ebenfalls an der medizinischen Fakultät der Universität Bonn. 2010 erhielt Prof. Eter den Ruf auf die W3-Professur mit Leitungsfunktion an der Universität Münster. Sie war 2017–2018 Präsidentin der Deutschen Ophthalmologischen Gesellschaft. Seit 2017 ist sie Vorsitzende der Vereinigung ophthalmologischer Lehrstuhlinhaber.

FÖRDERUNGEN UND AUSZEICHNUNGEN:

Gefördert wurde Frau Prof. Dr. med. Nicole Eter durch die BMBF-Verbundprojekt-Förderung (2007–2010), DFG-Forschungsförderung im Einzelantrag (2010–2013), IZKF Forschungsförderung (2011–2014) sowie der IMF Forschungsförderung (2014). Außerdem ist Sie seit 2012 Mitglied des Exzellenzclusters CIM (Cells in motion) der Universität Münster.

Univ.-Prof. Dr. med. Nicole Eter

Klinik für Augenheilkunde
Universitätsklinikum Münster
Domagkstraße 15
48149 Münster
Tel. 0251/83-56004
Fax 0251/83-56003
E-Mail: nicole.eter@ukmuenster.de

KONTAKT



Frühd Diagnose von uvealen Melanomen mittels »Liquid-Biopsy«

PROF. DR. RER. NAT. AYSEGÜL TURA¹, PROF. DR. MED. HARTMUT MERZ²,
FRIEDRIKE SCHINDLER¹, PRIV.-DOZ. DR. MED. MAHDY RANJBAR¹,
PRIV.-DOZ. DR. MED. VINODH KAKKASSERY¹, PROF. DR. MED. SALVATORE
GRISANTI¹

- 1 Klinik für Augenheilkunde**
Universitätsklinikum
Schleswig-Holstein,
Campus Lübeck
- 2 Referenzzentrum für Hämatopathologie**
und Lymphknotenerkrankungen, Lübeck

Trotz Fortschritte bei der lokalen Kontrolle des uvealen Melanoms (UM) können bis zu 50 % der Patienten innerhalb von 5–10 Jahren letale Metastasen entwickeln. [1, 2] Dies stützt die Einschätzung, dass nicht nachweisbare Mikrometastasen bereits mehrere Jahre vor dem Therapiebeginn auftraten. [1, 3] Die Früherkennung von UM stellt daher weiterhin eine ungelöste klinische Problematik dar, die dringend weiterer Untersuchungen bedarf, um die Überlebensrate verbessern zu können.

Das Auftreten von Metastasen erfolgt fast ausschließlich bei den Patienten, die den Verlust einer Kopie von Chromosom-3 (Monosomie-3) in den primären Tumorzellen haben. [7, 8] Monosomie-3 war auch ausgeprägter in den Biopsien von UM-Patienten, deren Nävi eine schnellere Rate maligner Transformation aufwiesen. [9] Die derzeitigen diagnostischen Methoden reichen jedoch nicht aus, um die Umwandlung von Nävi in UM oder den Beginn von Mikrometastasen nicht-invasiv vorherzusagen.

AKTUELLE HERAUSFORDERUNGEN BEI DER FRÜHERKENNUNG VON UM

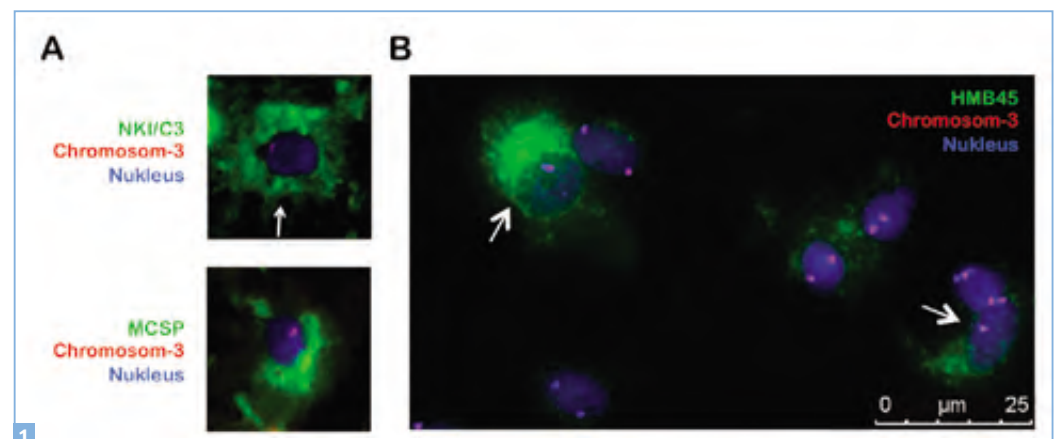
Je nach Größe und Lage des Tumors verursachen nicht alle intraokularen Melanome frühe Anzeichen oder Sehstörungen. Der Nachweis der meisten Tumore erfolgt daher zufällig während einer regelmäßigen Augenuntersuchung. Ein kleines UM kann jedoch nicht immer von einem Nävus unterschieden werden. Solche kleinen uvealen Läsionen werden regelmäßig auf Wachstum untersucht, bevor eine Melanomdiagnose gestellt wird. Der Grund für diese langjährige Beobachtung ist das Risiko von Augenkomplikationen während einer Biopsie. Außerdem liefert die Biopsie keine Informationen darüber, ob die Tumorzellen sich systemisch verbreitet haben. [1, 4–6]

DIAGNOSTISCHES UND PROGNOSTISCHES POTENZIAL ZIRKULIERENDER MELANOMZELLEN (ZMZ)

Aufgrund des Fehlens eines Lymphsystems im Auge tritt die Metastasierung des UMs hauptsächlich auf dem hämatogenen Weg auf. Frühere Daten aus dem PCR-basierten oder zytometrischen Nachweis von ZMZ im peripheren Blut deuteten tatsächlich darauf hin, dass alle UM-Patienten im Verlauf der Krankheit letztendlich positiv für diese Zellen werden. [10–13] Dies widerspricht jedoch der Metastasierungsrate, die etwa 50 % der UM-Patienten betrifft. Die genotypischen und phänotypischen Profile der ZMZ und nicht das bloße Vorhandensein dieser Zellen wurden daher als wertvollere Prognosefaktoren angesehen. [11, 14, 15]

Abbildung 1

■ *Diagnostisches Potential von ZMZ zur Früherkennung der Transformation von Aderhaut-Nävi zu UM.*
(A) Beispiele für die ZMZ positiv für die Melanom-Marker MCSP oder NKI/C3, die bei einem Patienten (männlich, 52 Jahre) mit einer verdächtigen uvealen Läsion nachgewiesen wurden, die nicht eindeutig als UM eingestuft werden konnte. Der Pfeil zeigt eine ZMZ mit Monosomie-3 an. **(B)** Eine Biopsie, die sechs Wochen nach der ZMZ-Analyse durchgeführt wurde, zeigte Zellen, die positiv für den Melanommarker HMB45 und Monosomie-3 (Pfeile) waren. Die pathologische Untersuchung bestätigte das Vorhandensein von melanozytären Proliferationen, bei denen der Verdacht auf ein malignes Melanom bestand.



Wir haben zuvor einen immunmagnetischen Anreicherungsassay etabliert, um intakte ZMZ aus dem peripheren Blut unserer UM-Patienten zu isolieren. [16] Wir haben auch einen neuen Immuno-FISH-Assay entwickelt, um die Kopienzahl von Chromosom-3 in den ZMZ zu bestimmen. Mit diesen Methoden konnten wir nachweisen, dass die ZMZ bei 91% (n = 40 von 44) der UM-Patienten vorlagen, während die Monosomie-3 nur bei 58% (n = 23 von 40) der ZMZ-positiven Patienten detektiert werden konnte. Wir beobachteten eine hohe Übereinstimmung zwischen dem Monosomie-3-Status der ZMZ und dem Primärtumor. Monosomie-3 in der ZMZ war auch mit einem fortgeschrittenen Tumorstadium assoziiert und wurde bei den Patienten beobachtet, die Metastasen innerhalb von 4 Jahren entwickelten. [17] Der Nachweis von Monosomie-3 in den ZMZ durch unseren nicht-invasiven und wiederholbaren Ansatz kann daher wertvolle Einblicke in die molekularen Eigenschaften des Primärtumors liefern und die Identifizierung von UM-Patienten mit einem hohen Metastasierungsrisiko ermöglichen.

Die Analyse der ZMZ trägt auch ein großes Potenzial für die Früherkennung der malignen Transformation bei Patienten mit auffälligen Aderhaut-Nävi. Wie bereits erwähnt, wird eine Biopsie bei Nävus-Patienten nur betrachtet, wenn die Läsion höchst verdächtig erscheint. In solchen Fällen kann ein positiver ZMZ-Befund eine Bestätigungsbiopsie rechtfertigen. Im Gegensatz zur konventionellen Biopsie kann die ZMZ-Analyse während der langjährigen Beobachtung von Nävus-Patienten beliebig oft wiederholt werden. [18] Jedoch liegen bisher keine Studien zur Genauigkeit dieses Ansatzes bei der Früherkennung der malignen Umwandlung vor.

Um mehr Einblick in diesen Aspekt zu bekommen, wird die »Liquid biopsy« in unserer Klinik derzeit bei allen Patienten mit vermeintlichen Aderhaut-Nävi durchgeführt. Die Patienten werden umfassend darüber informiert, dass es sich um eine experimentelle Methode handelt und der Nachweis von ZMZ nicht mit einer Metastasierung gleichgesetzt werden sollte. Bisher führten wir die ZMZ-Untersuchungen in regulären Zeitabständen insbesondere bei Patienten mit verdächtigen aber nicht eindeutigen klinischen Befunden durch. Bei solchen Patienten, die wiederholt ZMZ-positiv waren, erfolgte anschließend eine Probenbiopsie. Die pathologische Untersuchung der Biopsien konnte die maligne Transformation bei den ZMZ-positiven Patienten bestätigen, deren Nävi verdächtige klinische Veränderungen aufwiesen, die zuvor nicht als bösartig eingestuft werden konnten (**Abbildung 1**). Daher arbeiten wir derzeit weiter daran, das diagnostische Potenzial unseres ZMZ-Assays zu bestätigen, um die konventionelle Biopsie in naher Zukunft vollständig durch die »flüssige Biopsie« ersetzen zu können.

Zusammenfassend besitzt der Nachweis von ZMZ ein erhebliches Potenzial für die frühzeitige Erkennung

der Umwandlung verdächtiger Aderhaut-Nävi zu UM. Durch den Nachweis von Monosomie-3 in den ZMZ können zudem die UM-Patienten identifiziert werden, die ein höheres Risiko für Metastasen haben. Die frühzeitige Einschreibung solcher Patienten in klinische Studien vor der klinischen Manifestation von Metastasen könnte wiederum die Verhinderung oder Verzögerung der Metastasenbildung ermöglichen. Unser neuartiges, nicht-invasives »Flüssigbiopsie«-Verfahren verdient daher weitere Aufmerksamkeit, um das Management von Aderhaut-Nävi und UM in naher Zukunft verbessern zu können.

LITERATUR

1. Grisanti, S.; Tura, A. Uveal Melanoma. In *Noncutaneous Melanoma*; Scott, J.F., Gerstenblith, M.R., Eds.; Codon Publications: Brisbane (AU), 2018 ISBN 978-0-9944381-5-7.
2. Aronow, M.E.; Topham, A.K.; Singh, A.D. Uveal Melanoma: 5-Year Update on Incidence, Treatment, and Survival (SEER 1973-2013). *Ocul Oncol Pathol* 2018, 4, 145–151.
3. Blum, E.S.; Yang, J.; Komatsubara, K.M.; Carvajal, R.D. Clinical Management of Uveal and Conjunctival Melanoma. *Oncology (Williston Park, N.Y.)* 2016, 30, 29–32, 34–43, 48.
4. Krantz, B.A.; Dave, N.; Komatsubara, K.M.; Marr, B.P.; Carvajal, R.D. Uveal melanoma: epidemiology, etiology, and treatment of primary disease. *Clin Ophthalmol* 2017, 11, 279–289.
5. PDQ Adult Treatment Editorial Board Intraocular (Uveal) Melanoma Treatment (PDQ®): Health Professional Version. In *PDQ Cancer Information Summaries*; National Cancer Institute (US): Bethesda (MD), 2002.
6. Damato, B. Does ocular treatment of uveal melanoma influence survival? *Br. J. Cancer* 2010, 103, 285–290.
7. Scholes, A.G.M.; Damato, B.E.; Nunn, J.; Hiscott, P.; Grierson, I.; Field, J.K. Monosomy 3 in uveal melanoma: correlation with clinical and histologic predictors of survival. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 2003, 44, 1008–1011.
8. Kaliki, S.; Shields, C.L.; Shields, J.A. Uveal melanoma: estimating prognosis. *Indian J Ophthalmol* 2015, 63, 93–102.
9. Shields, C.L.; Pefkianaki, M.; Mashayekhi, A.; Shields, J.A.; Ganguly, A. Cytogenetic results of choroidal nevus growth into melanoma in 55 consecutive cases. *Saudi J Ophthalmol* 2018, 32, 28–32.
10. Ardjomand, N.; Komericki, P.; Langmann, G.; Mattes, D.; Moray, M.; Scarpatetti, M.; El-Shabrawi, Y. Lymph node metastases arising from uveal melanoma. *Wien. Klin. Wochenschr.* 2005, 117, 433–435.
11. Torres, V.; Triozzi, P.; Eng, C.; Tubbs, R.; Schoenfield, L.; Crabb, J.W.; Saunthararajah, Y.; Singh, A.D. Circulating tumor cells in uveal melanoma. *Future Oncol* 2011, 7, 101–109.
12. Wöll, E.; Bedikian, A.; Legha, S.S. Uveal melanoma: natural history and treatment options for metastatic disease. *Melanoma Res.* 1999, 9, 575–581.
13. Blanco, P.L.; Lim, L.A.; Miyamoto, C.; Burnier, M.N. Uveal melanoma dormancy: an acceptable clinical endpoint? *Melanoma Res.* 2012, 22, 334–340.

14. Schuster, R.; Bechrakis, N.E.; Stroux, A.; Busse, A.; Schmitzel, A.; Scheibenbogen, C.; Thiel, E.; Foerster, M.H.; Keilholz, U. Circulating tumor cells as prognostic factor for distant metastases and survival in patients with primary uveal melanoma. *Clin. Cancer Res.* 2007, 13, 1171–1178.
15. Mocellin, S.; Hoon, D.; Ambrosi, A.; Nitti, D.; Rossi, C.R. The prognostic value of circulating tumor cells in patients with melanoma: a systematic review and meta-analysis. *Clin. Cancer Res.* 2006, 12, 4605–4613.
16. Tura, A.; Lüke, J.; Merz, H.; Reinsberg, M.; Lüke, M.; Jager, M.J.; Grisanti, S. Identification of circulating melanoma cells in uveal melanoma patients by dual-marker immunoenrichment. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 2014, 55, 4395–4404.
17. Tura, A.; Merz, H.; Reinsberg, M.; Lüke, M.; Jager, M.J.; Grisanti, S.; Lüke, J. Analysis of monosomy-3 in immunomagnetically isolated circulating melanoma cells in uveal melanoma patients. *Pigment Cell Melanoma Res* 2016, 29, 583–589.
18. Tura, A.; Lueke, J.; Grisanti, S. *Liquid Biopsy for Uveal Melanoma*. In *Noncutaneous Melanoma*; Scott, J.F., Gerstenblith, M.R., Eds.; Codon Publications: Brisbane (AU), 2018 ISBN 978-0-9944381-5-7.



Prof. Dr. med. Salvatore Grisanti, Jahrgang 1967, ist seit 2008 Direktor und Lehrstuhlinhaber der Universitäts-Augenklinik Lübeck. Nach der Schulausbildung studierte er an der Univer-

sität zu Köln und promovierte dort 1993. Nach einem 2-jährigen Forschungsaufenthalt in den USA (University of Alabama at Birmingham und Schepens Eye Research Institute an der Harvard University Boston) setzte er seine Facharztausbildung an der Universitäts-Augenklinik Köln fort und erhielt dort in den Jahren 1999 die Anerkennung als Facharzt und 2000 die *Venia legendi* für das Fach Augenheilkunde. Seine Laufbahn setzte er von 2001 bis 2008 an der Universitäts-Augenklinik Tübingen fort. Seine klinisch-wissenschaftlichen Schwerpunkte liegen im Bereich von Fibrose- und Angiogenese-Prozessen im Auge sowie in der Klinik und Pathophysiologie des uveal Melanoms.

KONTAKT



Prof. Dr. Salvatore Grisanti

Klinik für Augenheilkunde
Universität zu Lübeck
UKSH – Campus Lübeck
Ratzeburger Allee 160
23538 Lübeck
Tel. 0451 / 500-43900
Fax 0451 / 500-43904



Prof. Dr. rer. nat. Aysegül Tura, Jahrgang 1977, ist wissenschaftliche Mitarbeiterin und Leiterin des Forschungslabors der Universitäts-Augenklinik Lübeck. Nach der Schulausbildung in Istanbul, studierte sie an der Universität Bogaziçi, Istanbul Molekularbiologie und Genetik und erhielt 2001 den Magister für das Fach. Von 2001 bis 2007 war sie Mitglied an der »Graduate School of Neural and Behavioural Sciences«

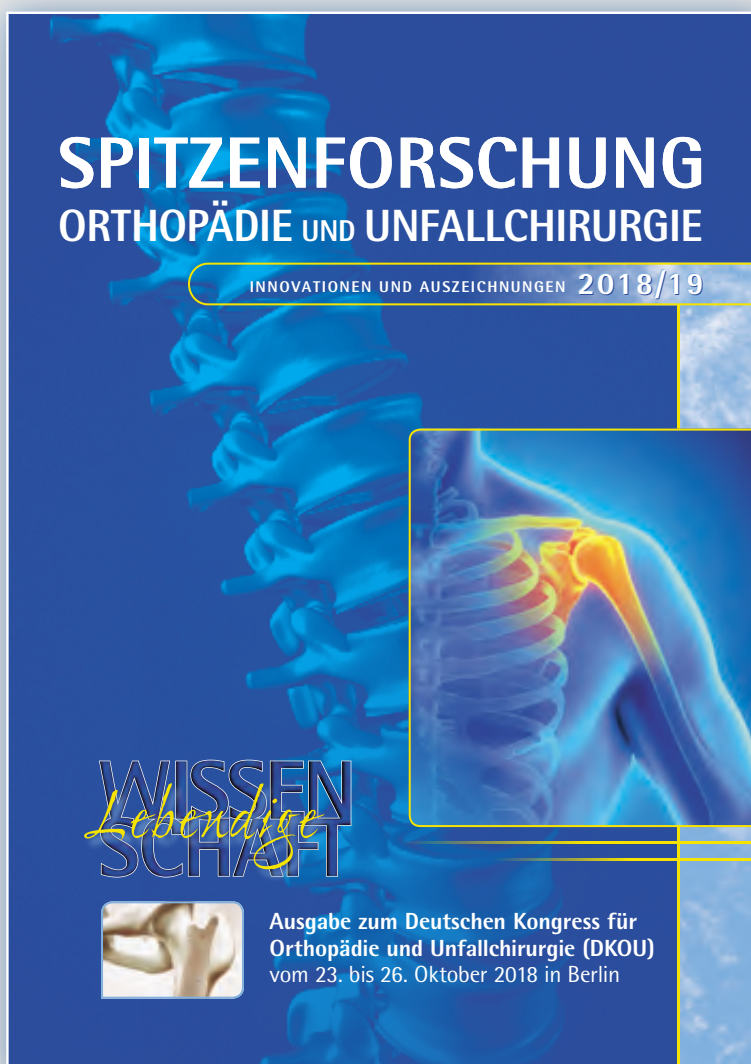
an der Universität Tübingen und promovierte dort 2007. Sie wechselte 2009 an die Universitäts-Augenklinik Lübeck und leitet seit 2016 das Forschungslabor. Ihre wissenschaftlichen Schwerpunkte sind die Pathophysiologie des uveal Melanoms und altersbedingter Makuladegeneration. Für ihre Forschungsarbeit erhielt Dr. Tura zahlreiche Auszeichnungen, u. a. den Glaukomforschungspreis der Deutschen Ophthalmologischen Gesellschaft (DOG, 2007), den Wissenschaftspreis der DOG (2015) und den Gragoudas Forschungspreis des Clubs Jules Gonin (2016).

KONTAKT



Prof. Dr. rer. nat. Aysegül Tura

UKSH Campus Lübeck
Klinik für Augenheilkunde
Labor für Experimentelle Ophthalmologie
Ratzeburger Allee 160 (Haus 30)
23538 Lübeck
Tel. 0451 / 500-43987
Fax 0451 / 500-43914
E-Mail: ayseguel.tura@uksh.de



Erscheinung
1 x jährlich

LEBENDIGE WISSENSCHAFT

SPITZENFORSCHUNG
ORTHOPÄDIE UND UNFALLCHIRURGIE

Ein Kooperationsprojekt der Informationszentrale des Instituts für Wissenschaftliche Veröffentlichungen (IWV)
mit der ALPHA Informationsgesellschaft mbH

Informationen erhalten Sie unter:
info@institut-wv.de | www.institut-wv.de
www.alphapublic.de



Bestellungen kostenfrei
per E-Mail: info@institut-wv.de,
Tel.: 06206 939-0 oder an
ALPHA Informationsgesellschaft mbH,
Finkenstraße 10, 68623 Lampertheim
– mit Angabe Ihrer Adresse möglich.

Funktion und Wirkungsweise von Müller'schen Gliazellen sezernierter Faktoren bei der retinalen Neuroprotektion

PRIV.-DOZ. DR. MED. JAN DARIUS UNTERLAUFT¹,
 PROF. DR. RER. NAT. WOLFRAM EICHLER¹

**1 Klinik & Poliklinik
 für Augenheilkunde**
 Universitätsklinikum
 Leipzig AöR

Bei den Glaukomen kommt es im Verlauf der Erkrankung zu einem Apoptose-bedingten Untergang retinaler Ganglienzellen (RGZ) [1, 2]. Dieses lässt sich in vorangeschrittenen Stadien ophthalmoskopisch am Sehnervenkopf in Form einer Atrophie des neuroretinalen Randsaums stadienabhängig mehr oder weniger gut an der Spaltlampe erkennen [3]. Der Untergang von RGZ der Netzhaut führt erst zur Entwicklung von relativen und dann zur Entwicklung von absoluten Gesichtsfelddefekten. Diese Gesichtsfelddefekte entwickeln sich bei den Glaukomen erst peripher und typischen Stadien folgend, bis sie in terminalen Stadien der Erkrankung auch das zentrale Gesichtsfeld miteinbeziehen und schließlich zu einer Erblindung des betroffenen Auges führen.

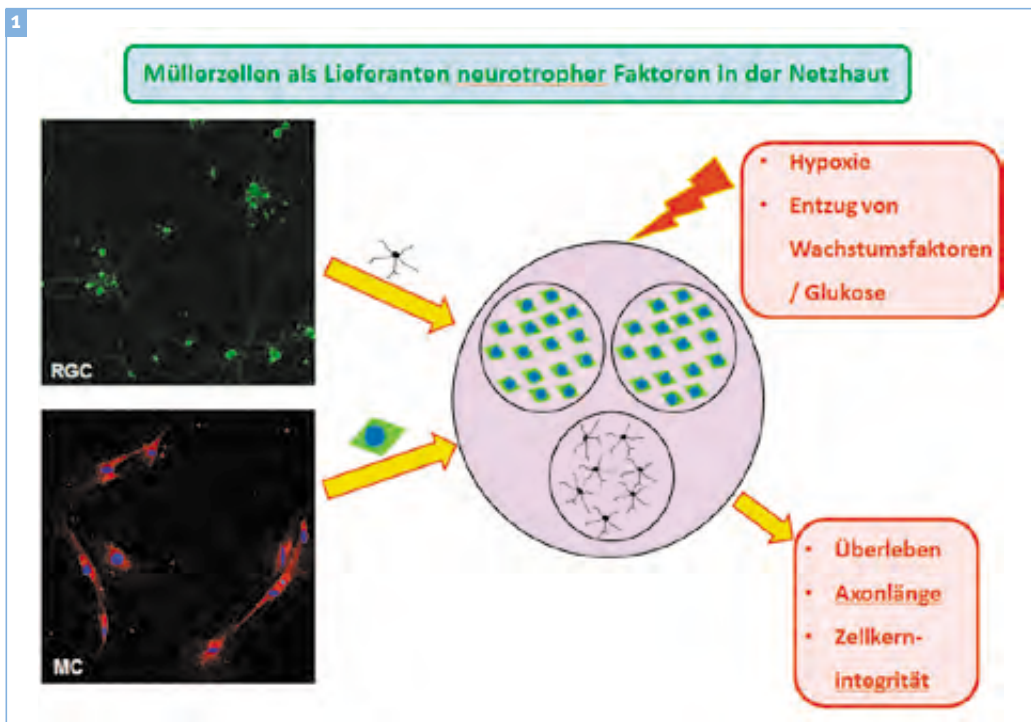
Die Senkung des intraokularen Drucks (IOD) ist die einzige bisher bekannte therapeutische Maßnahme, die zu einer Abbremsung oder im besten Fall Stoppen des oben skizzierten natürlichen Krankheitsverlaufs bei den Glaukomen führen kann. Der IOD lässt sich auf medikamentösen und / oder chirurgischen Weg senken, wobei beide Therapieoptionen mit Risiken und dem Auftreten von unerwünschten Nebenwirkungen verbunden sein können. Einmal untergangene RGZ lassen sich wegen ihres postmitotischen Charakters bisher beim Menschen nicht wieder regenerieren. Deshalb werden seit längerem therapeutische Wege gesucht um 1) RGZ gegenüber äußeren Noxen widerstandsfähiger zu machen und 2) Im Krankheitsverlauf untergegangene RGZ zu regenerieren / ersetzen.

Die Netzhaut besteht aus einer Vielzahl verschiedener neuronaler Zellen. Die Müller'sche Gliazelle ist die einzige Zelle, welche die gesamte Netzhaut vertikal durchspannt und so Kontakt zu allen Schichten und den darin vorhandenen Zelltypen hat. Lange wurde davon ausgegangen, dass es sich bei der Müller'schen Gliazelle »nur« um eine Art Stützgewebezelle ohne weitere Funktion handelt. Heute wissen wir allerdings, dass die Müller'schen Gliazellen in der Netzhaut sehr wohl eine Vielzahl physiologischer Aufgaben wie die Steuerung des Kalium- und Wasserhaushalts, die Aufnahme und Wiederverwertung von Neurotransmittern und die Speicherung von Laktat, Pyruvat und Glykogen

übernehmen [4]. Darüber hinaus wissen wir heute auch, dass die Müller'sche Gliazelle in der Netzhaut verschiedene teils neuroprotektiv wirksame Signalmoleküle wie zum Beispiel PEDF, VEGF und BDNF produziert und dadurch das Überleben retinaler Neurone aktiv unterstützt [5–8].

Verschiedene im Auge freigesetzte Botenstoffe sind für das Überleben retinaler Ganglienzellen bereits unter normalen physiologischen Bedingungen wichtig und können auch unter pathologischen Bedingungen das Überleben der RGZ sichern. Zu diesen Signalmolekülen gehören BDNF (brain-derived neurotrophic factor), NGF (nerve growth factor), CNTF (ciliary neurotrophic factor), VEGF (vascular endothelial growth factor), IGF-1 (insulinlike growth factor-1) und PEDF (pigment epithelium-derived factor) [9–15]. Beim PEDF handelt es sich um ein 50 kD schweres Glykoprotein, das neben einer angioinhibitorischen, anti-inflammatorischen, Vasopermeabilität-hemmenden auch eine neuroprotektive Wirkung besitzt [16]. PEDF ist im Plasma, in verschiedenen Bereichen des Gehirns und in vielen anderen Geweben nicht-neuronalen Ursprungs nachweisbar. Im Auge wird PEDF vom retinalen Pigmentepithel und von den Müller'schen Gliazellen produziert. Die neuroprotektiven Eigenschaften von PEDF sind bereits seit längerem bekannt und konnten in verschiedenen Modellen nachgewiesen werden.

Da es sich bei den RGZ um postmitotische, nicht mehr teilungsfähige Zellen handelt, können sie nicht ohne weiteres in Kultur genommen werden, und stehen nur in einem geringen Umfang zur Verfügung. RGZ können aus der Mäusenetzhaut mittels einer aufwendigen Immunopanning-Prozedur isoliert werden. Mithilfe von so gewonnenen RGZ konnten wir bisher die neuroprotektiven Eigenschaften von PEDF nachweisen [15]. Die Zugabe von PEDF zum Kulturmedium von RGZ bewirkte einen deutlichen Anstieg vitaler Zellen nach 24-stündiger Kultivierung (siehe auch **Abbildung 1**). Außerdem konnten wir zeigen, dass von Müller'schen Gliazellen in das gemeinsame Kulturmedium von Co-Kulturen aus RGZ und Müllerzellen sezerniertes PEDF das Überleben von RGZ deutlich steigert. Der entsprechende



Beweis hierfür ließ sich noch durch gezielte Antikörper-vermittelte Reduktion der PEDF-Konzentration im gemeinsamen Kulturmedium der Co-Kulturen und mittels Transfektion der Müllerzellen mit gegen PEDF-kodierende mRNA gerichtete siRNA weiter unterstreichen [17]. Mithilfe der R28-Zelle, einer immortalisierten retinalen Progenitorzelllinie der RGZ, konnten wir zeigen, dass PEDF an den PEDF-Rezeptor (PEDF-R) und den Laminin-Rezeptor (Lam-R) bindet und wirkt. Durch die Bindung von PEDF an die Oberflächenrezeptoren PEDF-R und Lam-R werden die intrazellulären NFκB- und STAT-3-Signalwege aktiviert [17, 18].

In weiteren Untersuchungen ist geplant die Validität unserer bisherigen Ergebnisse anhand von Versuchen am lebenden Versuchstier zu bestätigen. Hierzu sollen Untersuchungen an retinalen Organkulturen sowie In-vivo-Experimente in einem retinalen Ischämiemodell in der Maus folgen. Darüber hinaus planen wir die Konzentration von neuroprotektiv wirksamen Signalmolekülen im Kammerwasser von Glaukompatienten zu bestimmen. Ziel unserer Untersuchungen ist die Entwicklung einer humoralen Therapie neurodegenerativer Netzhauterkrankungen wie den Glaukomen oder der ischämischen und diabetischen Retinopathien mittels

neuroprotektiv wirkender Signalmoleküle. Die Konzentration dieser neuroprotektiv wirkenden Signalmoleküle könnte im Auge beispielsweise mittels intravitrealer Injektion oder Induktion einer Hypersekretion durch die Müller'schen Gliazellen therapeutisch erhöht werden.

LITERATUR

1. Quigley H.A. Neuronal death in glaucoma. *Prog Retin Eye Res* 1999; 18: 39–57.
2. Quigley H.A., Nickells R.W., Kerrigan L.A. et al. Retinal ganglion cell death in experimental glaucoma and after axotomy occurs by apoptosis. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1995; 36: 774–786.
3. Weinreb R.N., Khaw P.T. Primary open-angle glaucoma. *Lancet* 2004; 363: 1711–1720.
4. Bringmann A., Pannicke T., Grosche J. et al. Müller cells in the healthy and diseased retina. *Prog Retin Eye Res* 2006; 25: 397–424.
5. Stone J., Iltis A., Alon T. et al. Development of retinal vasculature is mediated by hypoxia-induced vascular endothelial growth factor (VEGF) expression by neuroglia. *J Neurosci* 1995; 15: 4738–4747.
6. Walsh N., Valter K., Stone J. Cellular and subcellular patterns of expression of bFGF and CNTF in the normal and

Abbildung 1

■ Schematische Darstellung des von uns eingesetzten Co-Kulturmodells bestehend aus primären retinalen Ganglienzellen (RGZ; grün) und kultivierten retinalen Müller'schen Gliazellen (MC; rot). Als die Zellvitalität kompromittierende Faktoren können der Entzug von Sauerstoff, Wachstumsfaktoren und Glukose dienen, um die Situation bei ischämischen Retinopathien oder retinalen neurodegenerativen Erkrankungen auf zellulärer Ebene zu imitieren. Die Vitalität der RGZ kann später anhand des Anteils überlebender RGZ, der Anzahl und Länge neu gebildeter Axone und der Integrität des Zellkerns unter Zuhilfenahme verschiedener Färbemethoden immunhistochemisch beurteilt werden.

- light stressed adult rat retina. *Exp Eye Res* 2001; 72: 495–501.
7. Harada T., Harada C., Kohsaka S. et al. Microglia-Müller glia cell interactions control neurotrophic factor production during light-induced retinal degeneration. *J Neurosci* 2002; 22: 9228–9236.
 8. Eichler W., Yafai Y., Keller T. et al. PEDF derived from glial Müller cells: a possible regulator of retinal angiogenesis. *Exp Cell Res* 2004; 299: 68–78.
 9. Mey J., Thanos S. Intravitreal injections of neurotrophic factors support the survival of axotomized retinal ganglion cells in adult rats in vivo. *Brain Res* 1993; 602: 304–317.
 10. Osborne N.N., Casson R.J., Wood J.P. et al. Retinal ischemia: mechanisms of damage and potential therapeutic strategies. *Prog Retin Eye Res* 2004; 23: 91–147.
 11. Skaper S.D. The biology of neurotrophins, signalling pathways, and functional peptide mimetics of neurotrophins and their receptors. *CNS Neurol Disord Drug Targets* 2008; 7: 46–62.
 12. Kilic U., Kilic E., Jarve A. et al. Human vascular endothelial growth factor protects axotomized retinal ganglion cells in vivo by activating ERK-1/2 and Akt pathways. *J Neurosci* 2006; 26: 12439–12446.
 13. Foxton R.H., Finkelstein A., Vijay S. et al. VEGF-A is necessary and sufficient for retinal neuroprotection in models of experimental glaucoma. *Am J Pathol* 2013; 182: 1379–1390.
 14. Kermer P., Klocker N., Labes M. et al. Insulin-like growth factor-I protects axotomized rat retinal ganglion cells from secondary death via PI3-K-dependent Akt phosphorylation and inhibition of caspase-3 In vivo. *J Neurosci* 2000; 20: 2–8.
 15. Unterlauff J.D., Eichler W., Kuhne K. et al. Pigment epithelium-derived factor released by Müller glial cells exerts neuroprotective effects on retinal ganglion cells. *Neurochem Res* 2012; 37: 1524–1533.
 16. Tombran-Tink J., Chader G.G., Johnson L.V. PEDF: a pigment epithelium-derived factor with potent neuronal differentiative activity. *Exp Eye Res* 1991; 53: 411–414.
 17. Unterlauff J.D., Claudepierre T., Schmidt M. et al. Enhanced survival of retinal ganglion cells is mediated by Müller glial cell-derived PEDF. *Exp Eye Res* 2014; 127C: 206–214.
 18. Eichler W., Savkovic-Cvijic H., Burger S. et al. Müller Cell-Derived PEDF Mediates Neuroprotection via STAT3 Activation. *Cell Physiol Biochem* 2017; 44: 1411–1424.



Herr PD Dr. Jan Darius Unterlauff, FEBO ist Oberarzt an der Klinik und Poliklinik für Augenheilkunde am Universitätsklinikum Leipzig AöR mit besonderer Spezialisierung auf den Gebieten der Glaukome und der Hornhauterkrankungen. Das Medizinstudium absolvierte er an der Georg-August Universität zu Göttingen (2000–2002) und an der Julius-Maximilians-Universität zu Würzburg (2002–2006). Die Weiterbildung zum Facharzt für Augenheilkunde absolvierte er an der Universitäts-Augenkliniken in Würzburg (Direktor: Prof. Dr. Dr. Franz Grehn; 2006–2010) und Leipzig (Direktor: Prof.

Dr. Peter Wiedemann; 2010–2012). Die Promotion zum Thema der ophthalmologischen Elektrophysiologie erfolgte 2008 in Würzburg unter wissenschaftlicher Leitung von PD Dr. rer. nat. Thomas Meigen. Die europäische Facharztprüfung wurde 2013 in Paris abgelegt. Die Habilitation zum Thema »Die Glaukome: Diagnostik, Therapie und Neuroprotektion« erfolgte 2015 in Leipzig.

FÖRDERUNGEN UND AUSZEICHNUNGEN

Herr PD Dr. Unterlauff wurde bisher durch das Nachwuchsförderprogramm des Universitätsklinikums Leipzig (2013–2014) und durch das DFG-Förderprogramm der DOG (2015 & 2016) unterstützt. Hieraus ging das aktuell von der DFG unterstützte Projekt »Der Einfluss glialer Mediatoren auf die PEDF-vermittelte Signalgebung und das neuronale Überleben in der Netzhaut« (UN-375/1-2; 2016 bis 2019) hervor. Herr PD Dr. Unterlauff ist Gründungsmitglied der Arbeitsgruppe Wissenschaftlicher Nachwuchs der DOG und ist Gutachter für verschiedene nationale und internationale Zeitschriften.

KONTAKT



PD Dr. Jan D. Unterlauff, FEBO
Klinik und Poliklinik für Augenheilkunde
Universitätsklinikum Leipzig AöR
Liebigstrasse 10-14
04103 Leipzig
Tel. 0341/97-21650
E-Mail: JanDarius.Unterlauff@medizin.uni-leipzig.de



Erscheinung
1 x jährlich

LEBENDIGE WISSENSCHAFT

SPITZENFORSCHUNG HERZ-KREISLAUF-MEDIZIN

Ein Kooperationsprojekt der Informationszentrale des Instituts für Wissenschaftliche Veröffentlichungen (IWV)
mit der ALPHA Informationsgesellschaft mbH

Informationen erhalten Sie unter:
info@institut-wv.de | www.institut-wv.de
www.alphapublic.de



Bestellungen kostenfrei
per E-Mail: info@institut-wv.de,
Tel.: 06206 939-0 oder an
ALPHA Informationsgesellschaft mbH,
Finkenstraße 10, 68623 Lampertheim
– mit Angabe Ihrer Adresse möglich.

MicroRNAs als molekulare Biomarker und neue Therapiestrategien im Bereich der Augenheilkunde

DR. MED. INGO VOLKMANN¹, DR. RER. NAT. HEIKO FUCHS¹,
DR. MED. ANNA BAJOR¹, PRIV.-DOZ. DR. MED. AMELIE PIELEN¹,
PROF. DR. MED. CARSTEN FRAMME¹

**1 Universitätsklinik
für Augenheilkunde**
Medizinische
Hochschule Hannover
(MHH)

Für die translationale Ophthalmologie ist neben der dauerhaften Genomveränderung auf DNA-Ebene (CRISPR/Cas-Methode) die Veränderung der Expression auf mRNA-Ebene durch short interfering RNAs (siRNAs) oder microRNAs (miRNAs) erfolgversprechend. Hierbei kann gezielt die Proteinexpression reguliert werden, ohne die DNA-Informationen verändern zu müssen.

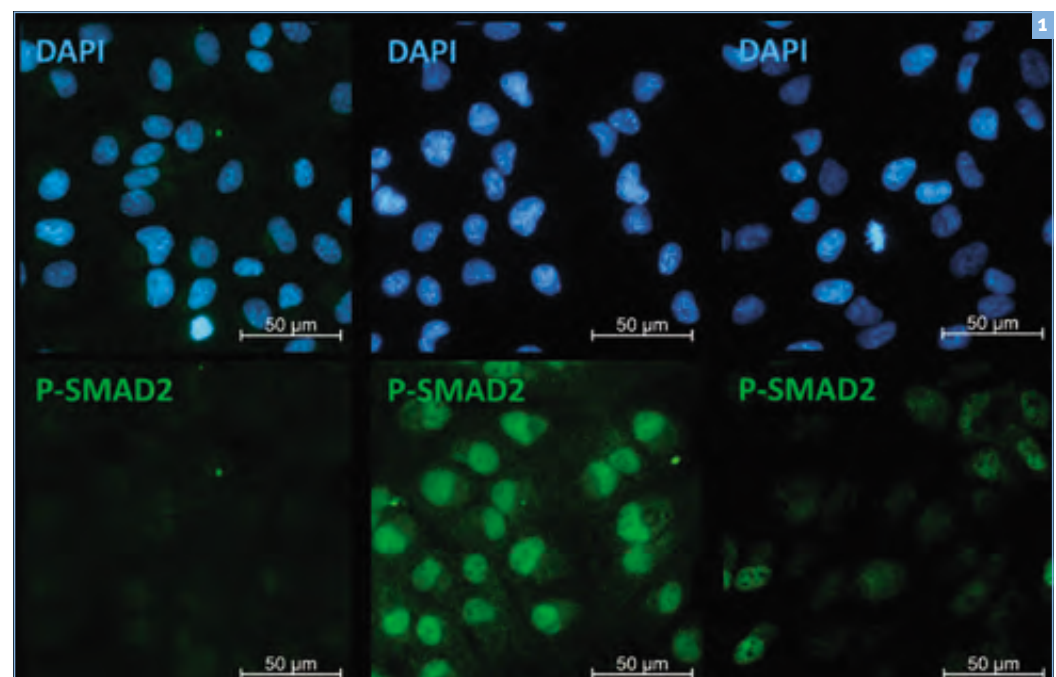
MiRNAs sind kleine, endogen exprimierte, nicht-kodierende RNA-Moleküle mit einer Länge von 21 bis 23 Nukleotiden, welche in der Lage sind, die mRNA-Expression über Inhibition der Proteinsynthese und Degradation der mRNA zu regulieren. MiRNAs besitzen eine 6 bis 8 Nukleotide lange Bindungsstelle, welche nicht nur bei einer mRNA, sondern bei über 100 mRNAs zu finden ist. Dadurch ist eine spezifische miRNA in der Lage, die Proteinsynthese von hunderten mRNAs zu regulieren und das Protein-Expressionsmuster (Proteosom) zu beeinflussen [1].

Veränderungen in der miRNA-Expression können mit bestimmten Erkrankungen assoziiert sein und miRNAs als Biomarker zu Diagnostik und Verlaufsabschätzung verwendet werden. So kann in der Kardiologie die klinische Unterscheidung zwischen einem Myokardinfarkt oder einer Tako-Tsubo-Kardiomyopathie über die miRNA-Signatur einer Blutprobe unterstützt werden [2]. Ebenso kann die Differenzierung weiterer Formen der Kardiomyopathien über miRNA-Signaturen erleichtert werden [3].

MiRNAs konnten auch in verschiedenen Körperflüssigkeiten, u.a. in Tränenfilm, Vorderkammerflüssigkeit und Glaskörper nachgewiesen werden. Interessant ist hierbei, dass die Flüssigkeiten im Auge nachgebildet werden und relativ einfach für Analysen zur Verfügung stehen, ohne dass eine Gewebeprobe genommen werden muss.

Abbildung 1

■ Immunzytochemische Detektion von Phospho-SMAD2 in einer RPE-Zelllinie (ARPE-19) 30 Minuten nach TGFB-Zugabe. Zellkerne wurden mit DAPI und P-SMAD2 mit P-SMAD2 AK detektiert. Links: ohne TGFB; Mitte: Kontrolltransfektion 30 min nach TGFB-Zugabe; Rechts: miRNA Transfektion 30 min nach TGFB-Zugabe



UNSERE GRUPPE FORSCHT HIERZU AN ZWEI VERSCHIEDENEN PUNKTEN:

MICRORNAS ALS MOLEKULARE BIOMARKER

Ziel unserer Forschung ist die Expressionsanalyse von miRNAs in verschiedenen Bereichen des Auges auf der Basis von Patientenproben. Die Messergebnisse können einerseits als Biomarker zur besseren Diagnostik bestimmter Erkrankungsbilder genutzt werden, andererseits als prognostische Marker zur frühzeitigen Erkennung eines Krankheitsverlaufs.

Im Rahmen einer prospektiven Studie wurden Glaskörperproben im Rahmen von Vitrektomien bei diabetischer Retinopathie, Amotio retinae und epiretinaler Gliose gewonnen. Wir untersuchen die Expressionsmuster im Rahmen von verschiedenen Erkrankungsprofilen und können deren klinisches Outcome bis zu ein Jahr nach OP nachverfolgen. Erste Auswertungen konnten zeigen, dass miRNAs im Rahmen der genannten Erkrankungen ganz unterschiedlich dereguliert werden und sich für jedes dieser Erkrankungsbilder ein spezielles miRNA-Profil ergibt. Einzelne miRNA-Kombinationen korrelieren so mit dem Visusverlauf und könnten als Prognoseparameter für eine erneute OP verwendet werden. Weitere Analysen hierzu werden derzeit durchgeführt. Eine Veröffentlichung der Ergebnisse ist in Vorbereitung.

MICRORNA-MODULATION *IN VITRO*

Neben der miRNA-Expressionsanalyse von Patientenproben beschäftigt sich unser experimentelles Forschungslabor mit der Fragestellung, inwiefern miRNAs oder miRNA-Inhibitoren in der Lage sind, die Pathogenese bestimmter Augenerkrankungen *in vitro* zu hemmen. Beispielsweise ist die Proliferative Vitreoretinopathie (PVR), eine Hauptursache für die Entstehung einer Netzhautablösung, gekennzeichnet durch die Bildung von narbenförmigem Gewebe, welches aus transdifferenzierten retinalen Pigmentepithelzellen (RPE-Zellen) besteht. Diese Transdifferenzierung lässt sich auch *in vitro* im Zellkulturmodell simulieren, wobei die RPE-Zellen von einem epithelialen Zustand in einen mesenchymalen Zustand übergehen (EM-Transition). Das Narbengewebe entsteht als Reaktion auf Wachstumsfaktoren, wie z.B. den Transforming Growth beta (TGFB). TGFB aktiviert über die mem-

branständigen TGFB-Rezeptoren der RPE-Zellen die Phosphorylierung der Transkriptionsfaktoren SMAD2 und SMAD3. P-SMAD2 und P-SMAD3 werden anschließend in den Zellkern transportiert und aktivieren eine Reihe von Genen, darunter den Vascular Endothelial Growth Faktor (VEGFA). In einem Projekt konnten wir zeigen, dass miRNAs, welche den TGFB-Signalweg auf mehreren Ebenen inhibieren, synergistisch wirken und sowohl die Phosphorylierung von SMAD2, die VEGF-Sekretion als auch eine EM-Transition der RPE-Zellen verhindern (**Abb. 1**).

In einem weiteren Projekt konnten wir zeigen, dass die Inhibierung von miRNAs eine TGFB-induzierte Hornhautvernarbung *in vitro* abmildern kann. In der Analyse von menschlichem Hornhautnarbengewebe und durch TGFB-1-induzierten Hornhaut-Myofibroblasten konnten wir einen 13- bzw. 4-fachen Anstieg von miR-145 im Vergleich zur gesunden Hornhaut und nicht induzierten Fibroblasten nachweisen [4]. Darüber hinaus verringerte die miR-145-Hemmung auch die Kontraktilität der Myofibroblasten, die Migrationskapazität und die TGFB-1-Sekretion, von denen angenommen wird, dass sie alle zur Hornhautvernarbung beitragen. MiR-145 spielt eine wichtige Rolle bei der Differenzierung und Aktivierung von TGFB-1-stimulierten Hornhautmyofibroblasten, die durch miR-145-Inhibition rückgängig gemacht werden kann und ist somit als vielversprechendes therapeutisches Ziel für die miRNA-basierende Gentherapie zu sehen um einen durch Hornhautfibrose verursachten Sehverlust zu verhindern oder zu behandeln.

LITERATUR

1. Raghunath A., Perumal E. Micro-RNAs and their roles in eye disorders. *Ophthalmic Res* [Internet]. 2015; 53 (4): 169–86.
2. Jaguszewski M., Osipova J., Ghadri J.-R., Napp L.C., Widera C., Franke J., et al. A signature of circulating microRNAs differentiates takotsubo cardiomyopathy from acute myocardial infarction. *Eur Heart J*. 2014; 35 (15): 999–1006.
3. Derda A.A., Thum S., Lorenzen J.M., Bavendiek U., Heineke J., Keyser B., et al. Blood-based microRNA signatures differentiate various forms of cardiac hypertrophy. *Int J Cardiol* [Internet]. 2015 Oct 1; 196: 115–22.
4. Ratuszny D., Gras C., Bajor A., Börger A.-K., Pielen A., Börgel M., et al. miR-145 Is a Promising Therapeutic Target to Prevent Cornea Scarring. *Hum Gene Ther* [Internet]. 2015 Oct; 26 (10): 698–707.



KONTAKT



Dr. med. Ingo Volkmann ist seit August 2014 an der Medizinischen Hochschule Hannover tätig. Seine Promotion erfolgte zuvor im Institut für Molekulare und Translationale Therapiestrategien (IMTTS) unter der Leitung von Prof. Dr. Dr. Thomas Thum im Rahmen des StrucMed-

Programms der Hannover Biomedical Research School (HBRS, Jahrgang 2010, *summa cum laude*) zur Rolle der *microRNAs* und epigenetischen Modulation im Rahmen der Endothelial-to-Mesenchymal-Transition unter Einfluss von TGF- β . Diese Arbeit wurde mit dem Promotionspreis der Medizinischen Hochschule Hannover ausgezeichnet. Seitdem liegt sein Forschungsschwerpunkt in der *microRNA*-Translation in den Bereich der Augenheilkunde.

Dr. Ingo Volkmann, FEBO

Universitätsklinik für Augenheilkunde
Medizinische Hochschule Hannover (MHH)
Carl-Neuberg-Straße 1
30625 Hannover
Tel. 0511 / 532-3061
Fax 0511 / 532-161053
E-Mail: volkmann.ingo@mh-hannover.de
www.mh-hannover.de/augenklinik.html



Dr. med. Anna Bajor, FEBO

Die Weiterbildung zur Fachärztin für Augenheilkunde erfolgte in Hannover wo sie nach einer Familienzeit als Funktionsoberärztin seit 2019 tätig ist. Die Promotion schloss sie als Stipendiatin der Hannover Biomedical Research School (HBRS) im Rahmen der Exzellenzinitiative im StrucMed Programm 2013 mit *summa cum laude* im Bereich der Immunologie am

Institut der Transfusionsmedizin ab. In weiterführender Kooperation folgten weitere Projekte vor allem im Bereich der Hornhaut und *miRNA*, sowie eine erfolgreiche Teilnahme am Ina-Pichlmayr-Mentoring Programm für Nachwuchswissenschaftlerinnen der Medizinischen Hochschule Hannover (2014–2015). Der Forschungsschwerpunkt liegt im vorderen Augenabschnitt, hier insbesondere auf der Hornhaut.



Dr. rer. nat. Heiko Fuchs leitet seit Sommer 2015 das experimentellen Forschungslabor für Augenheilkunde (Direktor: Prof. Dr. med. Carsten Framme) an der Medizinischen Hochschule Hannover. Nach Abschluss seines Biologiestudiums an der Freien Universität Berlin mit Schwerpunkt Molekulargenetik promovierte er am Institut für Zell- und Neurobiologie an der Charité Berlin über den Einfluss von *microRNAs* auf neuronale Vorläuferzellen und deren Differenzierung *in vitro*, *in ovo* und *in*

utero. Nach der Promotion arbeitete er am Max-Planck Institut für molekulare Genetik Berlin (Direktor: Prof. Hans Lehrach), inwiefern *microRNAs* für die Erzeugung von induzierten pluripotenten Stammzellen (iPS) verwendet werden können und war von 2012–2015 am Institut für Stammzellforschung und Translationale Medizin (Direktor: Prof. James Adjaye) am Universitätsklinikum Düsseldorf als wissenschaftlicher Mitarbeiter tätig.

Interview mit Herrn Dr. med. Bertram Meyer vom Augencentrum Köln

Seit 2017 sorgt ein neues, kompaktes Präzisionswerkzeug namens PLASMAGE® für Begeisterung bei den Anwendern in Dermatologie, plastischer Chirurgie und Ophthalmologie, da es auf sehr sichere und schonende Art und Weise die Behandlung verschiedener ästhetischer Indikationen rund ums Auge ermöglicht.

Die integrierte „Fractional Plasma“ Technologie ermöglicht es Energie in Form von atmosphärischem Plasma sehr fein dosiert, mit geringer Belastung für das umliegende Gewebe und punktgenau auf die Haut zu bringen. Dr. Bertram Meyer vom Augencentrum Köln war einer der ersten Ophthalmologen in Deutschland, die Erfahrungen mit dieser neuen Technologie sammeln konnten. Dr. Meyer meint dazu: „Die Möglichkeit nicht invasive Korrekturen an den Augenlidern anbieten zu können, deckt sich mit der steigenden Nachfrage unserer Patienten.“

Eine der populärsten Anwendungen von PLASMAGE® ist die Behandlung erschlaffter Haut an den Augen-



lidern, BLEFAROPLASMA® genannt. In der Praxis wird dieses Verfahren alternativ zur operativen Lidkorrektur, vor allem auch für das Unterlid angeboten. Die Gründe benennt Dr. Meyer wie folgt: „Die hohe Sicherheit der Behandlung, es besteht kein Risiko für das Auge, die geringen Nebenwirkungen, man bleibt gesellschafts- und arbeitsfähig und die kurze Phase bis das Ergebnis sichtbar wird. Die Behandlung kann ambulant durchgeführt werden, erfordert keinen OP und lediglich eine lokale Anästhesie. In der Regel können die Patienten kurze Zeit nach der Behandlung die Praxis verlassen. Wir nutzen die PLASMAGE® Methode auch als Alternative zur operativen Lidstraffung, vor allem bei leichten Befunden (jüngere Patienten) oder wenn keine Operation gewünscht ist.“

Neben der BLEFAROPLASMA® Anwendung lässt sich das PLASMAGE® auch zur präzisen Entfernung gutartiger Hautveränderungen einsetzen. Insbesondere in Augennähe ist es von großem Vorteil, dass kein Augenschutz erforderlich ist und eine lokale Anästhesie ausreicht. So lassen sich Syringome, Xanthelasma, Stielwarzen und andere Indikationen schnell und unkompliziert behandeln.



■ Dr. med. Bertram Meyer
Augencentrum Köln
Josefstr. 14
51143 Köln



KONTAKT

**MedSaB GmbH –
„Medicine, Science & Beauty“**
Tel. +49 (0)680 594 334 54
E-Mail: info@medsab.info
www.medsab.info

ANWENDUNGSGEBIETE

- Augenlider (BLEFAROPLASMA®)
- Xanthelasma
- Syringome
- Fibrome
- Hämangiome
- Hyperpigmentierungen
- Anti-Aging/Gesichtsfältchen
- Akne und Aknenarben

PATENTIERTE
SICHERHEIT
DURCH
FRACTIONAL
PLASMA



PLASMAGE®

PUNKTGENAUE HAUTBEHANDLUNGEN MITTELS FRACTIONAL PLASMA

Entwickelt zur präzisen,
gewebeschonenden Anwendung –
alternativ zu Laser- oder Radiofrequenz-Techniken.
Keine OP notwendig.
Lokale Anästhesie ausreichend.

CE **brera**
medical technologies

www.breramedical.com
www.medsab.com

OFFICIAL DISTRIBUTOR

medsab
medicine science & beauty

MedSaB GmbH medicine, science & beauty
Ebnatstrasse 65, 8200 Schaffhausen | Schweiz
T: +41 (0) 44 586 36 22, M: +41 (0) 77 446 57 78

Niederlassung Deutschland
Dr.-Kelp-Str. 5b, 26160, Bad Zwischenahn
T: +49 (0) 680 594 334 54 M: +49 (0) 176 321 306 36

Ein Netzwerk für klinische Studien in der Retinologie: retina.net e.V.

PROF. DR. PETER WALTER¹, PROF. DR. MED. ANDREAS STAHL²,
M.A. CLAUDIA MICHALIK³

1 Klinik für Augenheilkunde
Uniklinik RWTH Aachen

2 Klinik und Poliklinik für Augenheilkunde
Universitätsmedizin Greifswald

3 Zentrum für Klinische Studien (ZKS) Köln
Medizinische Fakultät der Universität zu Köln

Klinische Studien in der Retinologie werden in größerem Stil vor allem von der pharmazeutischen Industrie durchgeführt, etwa wenn es um Zulassungen von Medikamenten für die intravitreale Medikamentengabe geht. Beispiele für solche Studien waren die Zulassungsstudien für Ranibizumab und Aflibercept. Diese großen multizentrischen, kontrollierten Interventionsstudien haben in vergleichsweise kurzer Zeit zu einem erheblichen Erkenntnisgewinn geführt und letztendlich das therapeutische Vorgehen bei verschiedenen Erkrankungen revolutioniert. Im Gegensatz dazu ist der Erkenntnisgewinn beim Einsatz chirurgischer Methoden im hinteren Augenabschnitt eher gering. Bestes Beispiel dafür ist, dass die Inzidenz der PVR Reaktion nach Ablatiochirurgie sich seit Jahrzehnten nicht wesentlich geändert hat. Die erste große chirurgische Multicenterstudie in Deutschland mit einer retinologischen Fragestellung war die Daunomycinstudie, die seinerzeit von Professor Peter Wiedemann damals noch an der Universitäts-Augenklinik in Köln initiiert und durchgeführt wurde [1]. Eine weitere Studie war dann die SPR Studie, bei der es um den Vergleich der Buckelchirurgie und der Vitrektomie bei mittelschweren Formen der rhegmatogenen Amotioing [2]. Diese Studien wurden damals mit finanzieller Förderung der DFG durchgeführt. Schließlich wurden noch Studien zur Makularotation (MARAN) [3] und zum Einsatz von schwerem Silikonöl (HSO Studie) [4] durchgeführt. Das Problem dieser Studien lag in einer relativ langsamen Rekrutierung, der zögerlichen Teilnahme von Studienzentren und dem erheblichen finanziellen Aufwand dieser Studien für die administrative Betreuung, das Monito-

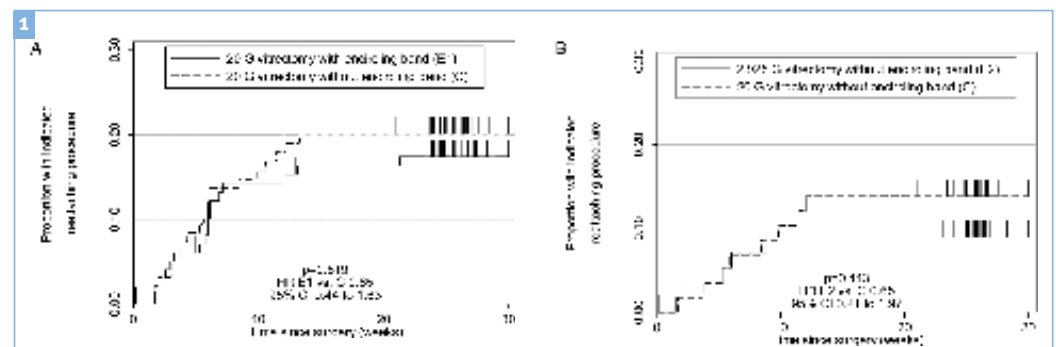
ring, die Datenbank, Auswertung, etc. Zwar fördern grundsätzlich die DFG und das BMBF klinische Studien, jedoch ist das Verfahren extrem kompetitiv und oft langwierig. In den USA wurde mit dem DRCR.net eine sehr erfolgreiche und professionelle Struktur entwickelt, die klinische Studien vor allem zum Thema diabetische Retinopathie organisiert und durchführt.

In Deutschland wurde auf Anregung von Prof. Jousen (Berlin) und Prof. Bornfeld (Essen) eine Arbeitsgruppe initiiert, die eine Organisation entwickeln sollte, um klinische Studien vor allem im Bereich chirurgischer Verfahren in der Retinologie effizient und mit hoher Qualität zu ermöglichen und zu vereinfachen. Damit war retina.net geboren. Die Initiative erhielt die Unterstützung der Retinologischen (RG) sowie der Deutschen Ophthalmologischen Gesellschaft (DOG). Mit einer Anschubfinanzierung durch die Jackstädt Stiftung und durch entsprechende Mittel der RG und der DOG wurde eine Koordinierungsstelle für das retina.net am Zentrum für klinische Studien der Universität zu Köln eingerichtet. Primäre Aufgabe dieser Koordinierungsstelle war die Übernahme der administrativen und organisatorischen Aufgaben innerhalb klinischer Studien und das Etablieren von modularen Eingabemasken (CRFs), die einmal eingerichtet, für künftige Studien zur Verfügung stehen.

Als Modellprojekt einigte man sich auf die Durchführung der VIPER Studie, mit der exemplarisch gezeigt werden sollte, dass retina.net auf hohem Qualitätsniveau funktioniert. Ziel der VIPER Studie

Abbildung 1

■ **VIPER Studie. Primäre Endpunkte. Vergleich der Behandlungsgruppen. Auftreten von Misserfolgen nach der ersten Intervention (Notwendigkeit einer zweiten netzhautanlegenden Operation) innerhalb von 6 Monaten nach dem Erstingriff. A. 20 G Vitrektomie mit Cerclage vs. 20 G Vitrektomie ohne Cerclage. B. 20 G Vitrektomie vs. 23/25 G Vitrektomie jeweils ohne Cerclage. In beiden Vergleichen ist der Unterschied statistisch nicht signifikant.**



war es nachzuweisen, ob eine Cerclage bei der primären Vitrektomie der Pseudophakieablatio einen Vorteil gegenüber der cerclagelosen Vitrektomie bringt. Die VIPER Studie wurde zuvor mehrfach von der DFG abgelehnt, nicht wegen qualitativer Mängel oder Irrelevanz der Fragestellung, sondern wegen der zu hohen Kosten für Biometrie, Monitoring und Auswertung. Durch die Inanspruchnahme der retina.net Infrastruktur konnte diese Studie sehr erfolgreich durchgeführt werden. Inzwischen sind drei Publikationen zu dieser Studie in international renommierten Journalen erschienen. Es konnte überzeugend nachgewiesen werden, dass eine Cerclage bei der Behandlung der Pseudophakieamotio als Ergänzung zur primären Vitrektomie nicht erforderlich ist [5–7].

Neben der VIPER Studie wurde eine Studie zur Wirksamkeit von Ranibizumab bei der Strahlenretinopathie durchgeführt und es wurde die PRIVENT Studie initiiert [8], die darauf abzielt bei Risikoaugen mittels 5 FU und Heparin eine PVR-Reaktion und damit eine Re-Amotio zu verhindern (<https://gepris.dfg.de/gepris/projekt/264589742>).

Neben den interventionellen Studien ermöglicht retina.net auch die Durchführung von Registerstudien. Ein gutes Beispiel hierfür ist das von der Universitäts-Augenklinik Freiburg aus initiierte und nun von Greifswald aus koordinierte Retina.net ROP Register, zu dem ebenfalls bereits zwei Publikationen vorliegen [9, 10]. Die ausgewerteten Registerdaten erlauben erstmals eine Auswertung der ROP-Behandlungsmuster in Deutschland über die letzten Jahre (**Abb. 2**).

In der Zwischenzeit hat sich aus der Arbeitsgruppe retina.net ein eingetragener Verein entwickelt, der als unabhängiger Vertragspartner für verschiedene Interessenten auftreten kann. Forschungsinteressierte aus augenärztlichen Einrichtungen können Mitglied des retina.net e.V. werden und dieses mitgestalten. Der Verein kann eigenständig Drittmittel und Spenden einwerben und wird außerdem von der Retinologischen Gesellschaft durch einen Teil ihrer Mitgliedsbeiträge finanziell unterstützt.

Für Vereinsmitglieder prüft retina.net auf Antrag die Durchführbarkeit klinischer Studien in der Retinologie, sie berät Antragsteller hinsichtlich des Prüfplans, der Biometrie und administrativer Schritte. Retina.net berät und unterstützt außerdem Antragsteller bei der Einwerbung der notwendigen Drittmittel für die Durchführung einer Studie, stellt eine Kommunikationsplattform zur Verfügung und vermittelt aus den retina.net Studienzentren mögliche Partner für die Rekrutierung der Patienten. Die Mitgliedschaft im retina.net e.V. ist Voraussetzung für die Nutzung der retina.net Infrastruktur.

VORSTAND VON RETINA.NET E.V.

- Prof. Walter (1. Vorsitzender)
- Prof. Agostini (2. Vorsitzender)
- Prof. Bornfeld (Kassenwart)
- Prof. Jousen
- Prof. Roeder
- Prof. Stahl
- Prof. Helbig (Abgeordneter der Retinologischen Gesellschaft)
- Prof. Wilhelm (Abgeordnete der DOG)

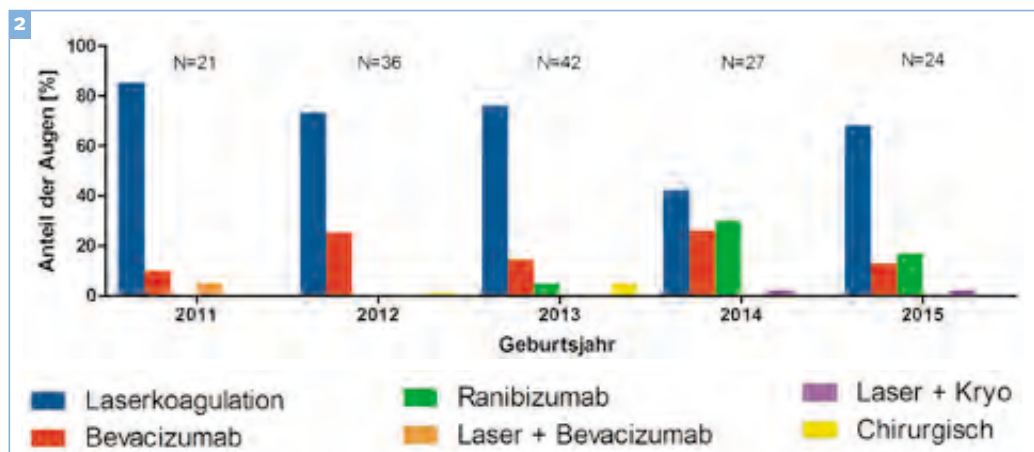


Abbildung 2

■ Veränderung der Behandlungsmuster über die Zeit bei der Therapie der Frühgeborenenretinopathie. Daten aus dem retina.net ROP Register, publiziert in *Der Ophthalmologe* 2018 Jun; 115 (6): 476–488.



LITERATUR

1. Wiedemann P., Hilgers R.D., Bauer P., Heimann K. Ad-junctive daunorubicin in the treatment of proliferative vitreoretinopathy: results of a multicenter clinical trial. Daunomycin Study Group. Am J Ophthalmol. 1998; 126 (4): 550–9.
2. Heimann H., Bartz-Schmidt K.U., Bornfeld N., Weiss C., Hilgers R.D., Foerster M.H.; SPR Study Group. Scleral buckling versus primary vitrectomy in rhegmatogenous retinal detachment: a prospective randomized multicenter clinical study. Ophthalmology. 2007; 114 (12): 2142–54.
3. Jousseaume A.M., Wong D., Walter P., Kirchhof B., Dreyhaupt J., Bauer C., Munzinger J., Unnebrink K., Freiburger A., Seibert-Grafe M., Victor N.; MARAN study group. Surgical management of subfoveal choroidal neovascular membranes in age-related macular degeneration by macular relocation: experiences of an early-stopped randomised clinical trial (MARAN Study). Eye (Lond). 2010; 24 (2): 284–9.
4. Jousseaume A.M., Rizzo S., Kirchhof B., Schrage N., Li X., Lente C., Hilgers R.D.; HSO-Study Group. Heavy silicone oil versus standard silicone oil in as vitreous tamponade in inferior PVR (HSO Study): interim analysis. Acta Ophthalmol. 2011; 89 (6): e483–9.
5. Mazinani B., Baumgarten S., Schiller P., Agostini H., Helbig H., Limburg E., et al. Vitrectomy with or without encircling band for pseudophakic retinal detachment: a multi-centre, three-arm, randomised clinical trial. VIPER Study Report No. 1-design and enrolment. Brit J Ophthalmol. 2016; 100 (3): 405–10.
6. Walter P., Hellmich M., Baumgarten S., Schiller P., Limburg E., Agostini H., et al. Vitrectomy with and without encircling band for pseudophakic retinal detachment: VIPER Study Report No 2-main results. Brit J Ophthalmol. 2017; 101 (6): 712–8.
7. Baumgarten S., Schiller P., Hellmich M., Walter P., Agostini H., Junker B., et al. Vitrectomy with and without encircling band for pseudophakic retinal detachment with inferior breaks: VIPER Study Report No. 3. Graef Arch Clin Exp. 2018; 256 (11): 2069–73.
8. Schaub F., Hörster R., Schiller P., Felsch M., Kraus D., Zarrouk M., Kirchhof B., Fauser S. Prophylactic intravitreal 5-fluorouracil and heparin to prevent proliferative vitreoretinopathy in high-risk patients with retinal detachment: study protocol for a randomized controlled trial. Trials 2018; 19: 384.
9. Walz J.M., Bemme S., Reichl S., Akman S., Breuss H., Susskind D., et al. [Treated cases of retinopathy of prematurity in Germany: 5-year data from the Retina.net ROP registry]. Ophthalmologe. 2018; 115 (6): 476–88.
10. Walz J.M., Bemme S., Pielen A., Aisenbrey S., Breuß H., Alex A.F., Wagenfeld L., Schiedel S., Krohne T.U., Stahl A.; Retina.net ROP Registry. The German ROP Registry: data from 90 infants treated for retinopathy of prematurity. Acta Ophthalmol. 2016; 94 (8): e744–e752.



Prof. Dr. Peter Walter hat in Köln Medizin studiert und 1989 am Institut für Physiologie der Kölner Universität mit einer Arbeit zu elektrischer Aktivität und oxidativen Stoffwechselprozessen in der Retina promoviert. Nach einer AiP-Phase in der gynäkologisch-geburtshilflichen Abtei-

lung des Evangelischen Krankenhauses Köln-Kalk begann er 1991 die Weiterbildung zum Augenarzt an der Kölner Universitäts-Augenklinik. Nach der Facharztprüfung 1995 war er Oberarzt an dieser Klinik und 1999 erhielt er die *venia legendi* für Augenheilkunde. Von 1999 bis 2000 leitete er die Kölner Klinik für Netzhaut- und Glaskörperchirurgie kommissarisch. Seit 2003 ist er Direktor der Klinik für Augenheilkunde der Uniklinik RWTH Aachen. Er beschäftigt sich seit 1995 mit dem Test und der Entwicklung implantierbarer Sehprothesen. Seine Gruppe hat weltweit den ersten vollständig intraokularen telemetrischen Retina Stimulator bei blinden RP Patienten implantiert. Prof. Walter war zwischen 2006 und 2009 Prodekan der Medizinischen Fakultät der RWTH Aachen und ist seit 2009 Sprecher des Interdisziplinären Zentrums für klinische Forschung IZKF Aachen.

KONTAKT



Prof. Dr. Peter Walter
Klinik für Augenheilkunde
Uniklinik RWTH Aachen
Pauwelsstr. 30
52074 Aachen
Tel. 0241 / 8088191
Fax 0241 / 8082408
E-Mail: pwalter@ukaachen.de
www.augenklinik-aachen.de

Prof. Dr. med. Andreas Stahl, Jahrgang 1977, ist seit Januar 2019 Direktor der Klinik und Poliklinik für Augenheilkunde der Universitätsmedizin Greifswald. Während des Studiums der Humanmedizin in Freiburg im Breisgau verbrachte er ein Jahr am Imperial College in London, im Rahmen dessen auch der erste Kontakt mit dem Fach Augenheilkunde erfolgte. Die experimentelle Doktorarbeit erfolgte im Bereich Angiogenese in Freiburg mit sechsmonatigem Forschungsaufenthalt an der Harvard Medical School in der Arbeitsgruppe von Prof. Michael Klagsbrun. Nach der Promotion 2005 absolvierte er die Facharztweiterbildung an der Universitäts-Augenklinik Freiburg, unterbrochen von einem zweijährigen DFG-geförderten Forschungsaufenthalt an der Harvard Medical School in der Arbeitsgruppe von Prof. Lois Smith. Die Habilitation erfolgte 2013 zum Thema »Pathogenese und Therapie angioproliferativer Netzhauterkrankungen«. Die weitere klinische Ausbildung bis zum Geschäftsführenden Oberarzt erfolgte ebenfalls an der Univer-

sitäts-Augenklinik Freiburg. Wichtige wissenschaftliche Projekte liegen im Bereich der Semaphorine (DFG-gefördert), der künstlichen Intelligenz (BMBF-gefördert) und der Frühgeborenenretinopathie (Investigator-Initiated Trial und Registerprojekt). Sein klinischer Schwerpunkt liegt auf der Netzhautchirurgie, sowie der Diagnostik und Therapie von Makulaerkrankungen, diabetischer Retinopathie und Frühgeborenenretinopathie.

Prof. Dr. med. Andreas Stahl

Klinik und Poliklinik für Augenheilkunde
Universitätsmedizin Greifswald
Ferdinand Sauerbruch Straße
17475 Greifswald
Tel. 03834 / 86-5900
Fax 03834 / 86-5902
E-Mail: andreas.stahl@uni-greifswald.de
[http://www2.medizin.uni-greifswald.de/](http://www2.medizin.uni-greifswald.de/augen/)
augen/



KONTAKT



Claudia Michalik M.A. hat Kommunikationswissenschaft in Essen studiert mit dem Untersuchungsgegenstand Medizin sowie Epidemiologie. Seit 2005 ist sie Projektmanagerin am Zentrum für Klinische Studien (ZKS) der Universität zu Köln. Dort war sie zuständig für das Kompetenznetz HIV/AIDS (BMBF-gefördert) mit einer deutschlandweiten Patientenkohorte, einer angegliederten Biomaterialbank, Subkohorten (HIV Schwangere, HIV exponierte und infizierte Kinder) sowie internationalen Projekten. Von 2012 bis 2018 betreute sie als Kohortenmanagerin die Projekte in der Geschäftsstelle der Ruhruniversität Bochum weiter. Für die TMF e.V. (Technologie- und Methodenplattform für die vernetzte medizinische Forschung) hat sie Methodenprojekte zur Erstellung von Patienteninformationen und einem Anforderungskatalog für Kohorten und Register geleitet. Aktuell ist sie Projektmanagerin für eine multizentrische kardiologische MPG Studie und

unterstützt seit 2016 den retina.net e.V., den Forschungsverbund in der Augenheilkunde, für den das ZKS Köln als Koordinierungszentrale fungiert.

Claudia Michalik M.A.

Projektmanagement ZKS Köln
Zentrum für Klinische Studien
Medizinische Fakultät der
Universität zu Köln
Gleueler Str. 269
50935 Köln
Tel.: 0221 / 478-88138
Fax 0221 / 478-88209
E-Mail: claudia.michalik@zks-koeln.de
Internet: www.zks-koeln.de



KONTAKT



Notizen

VIELEN DANK

für Ihr Interesse
an unserer Publikation
»Spitzenforschung
in der Ophthalmologie –
Innovationen
und Auszeichnungen«.

Jetzt empfehlen: Hochwertige Ophthalmika in Apothekenqualität –

erhältlich im Einzelhandel und auf www.eyemedica.de*

Ohne Konser-
vierungsmittel
und Phosphate



- ✓ Wissenschaftlich geprüfte Wirkkonzepte
- ✓ Höchste Qualitätsstandards
- ✓ Anwenderfreundliche Darreichungsformen

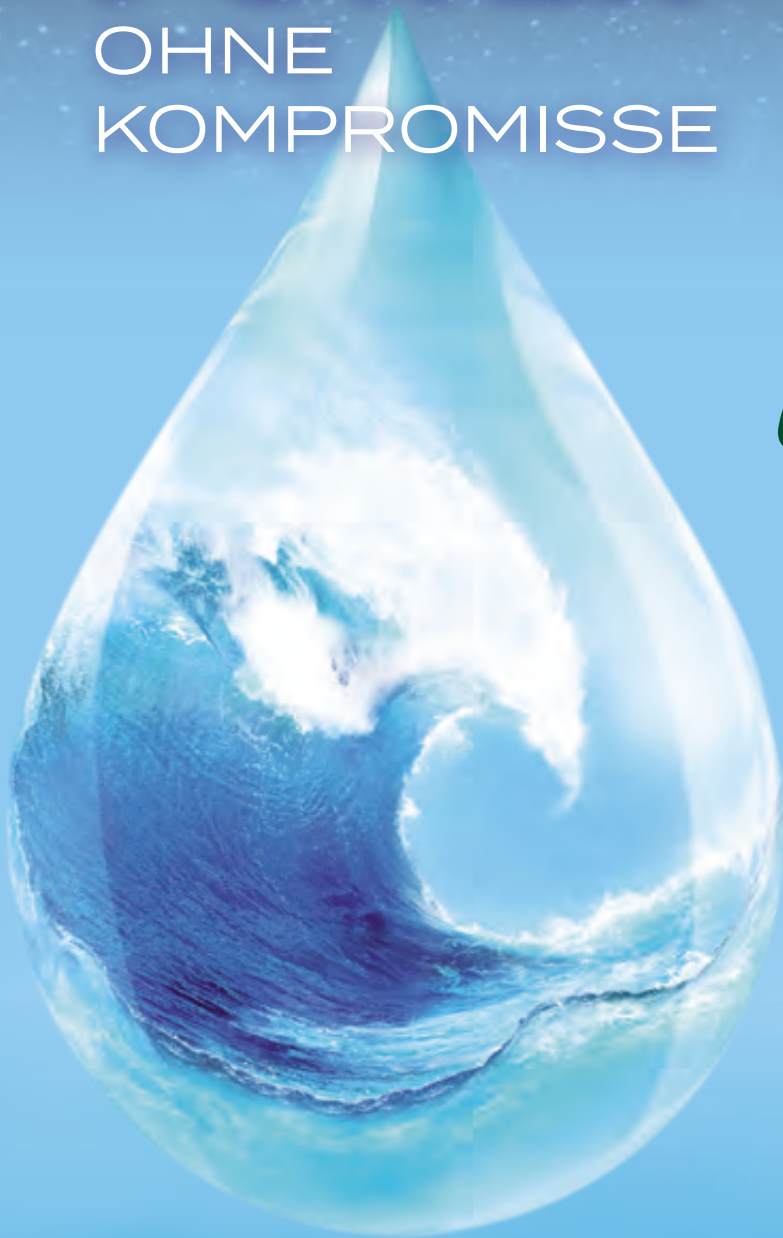


Weitere Informationen und Bestellung auf: www.eyemedica.de

* EyeMedica Produkte sind erhältlich im Einzelhandel bei: dm, Rossmann, Müller, Kaufland, Edeka, Budni (Abweichung in der Sortimentsauswahl möglich) und im Marken-Shop auf www.eyemedica.de

POWER

OHNE
KOMPROMISSE



***COMEBACK
DES JAHRES****

***- SEIEN SIE
GESPANNT!***

* **Demnächst** verfügbar
in allen therapeutisch
relevanten Packungsgrößen