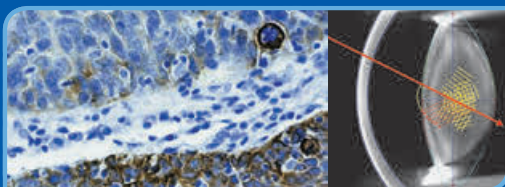


SPITZENFORSCHUNG IN DER OPHTHALMOLOGIE

111. DOG-Kongress
19.–22. September 2013, Berlin

EXZELLENT SEHEN – EXZELLENZ FÖRDERN

WISSEN
Lebendige
SCHAFT



DOG
Deutsche Ophthalmologische
Gesellschaft

Gesellschaft für Augenheilkunde



taflotan[®] sine

Wirkstoff: Tafluprost

Das erste* Prostaglandin ohne Konservierungsmittel



- Effektive IOD-Senkung
- Keine Nebenwirkungen durch Konservierungsmittel
- Speziell für Glaukompatienten mit trockenen oder empfindlichen Augen

*Seit Juni 2008 auf dem Markt



taflotan[®] sine

Taflotan[®] sine 15 Mikrogramm/ml Augentropfen im Einzeldosisbehältnis. Wirkstoff: Tafluprost. **Zusammensetzung:** ein Einzeldosisbehältnis (0,3 ml) Augentropfen enthält als arzneilich wirksamen Bestandteil 4,5 Mikrogramm Tafluprost. Sonstige Bestandteile: Glycerol, Natriumdihydrogenphosphat-Dihydrat, Natriumedetat, Polysorbat 80, Salzsäure und/oder Natriumhydroxid zur pH-Einstellung, Wasser für Injektionszwecke. **Anwendungsgebiete:** zur Senkung des erhöhten Augeninnendrucks bei Offenwinkelglaukom und okulärer Hypertension; als Monotherapie bei Patienten, für die Augentropfen ohne Konservierungsmittel besser geeignet sind oder die nur unzureichend auf die Therapie erster Wahl ansprechen oder die die Therapie erster Wahl nicht vertragen oder Kontraindikationen dafür aufweisen; als Zusatzmedikation zu Betablockern. **Gegenanzeigen:** Überempfindlichkeit gegen Tafluprost oder einen der sonstigen Bestandteile. Hinweis: Taflotan[®] sine sollte während der Schwangerschaft nicht angewendet werden. Taflotan[®] sine darf nicht während der Stillzeit verwendet werden. **Nebenwirkungen:** Häufig ($\geq 1/100$, $< 1/10$): Augenjucken, Augenreizung, Augenschmerzen, konjunktivale/okuläre Hyperämie, Veränderungen der Wimpern (Zunahme von Länge, Dicke und Anzahl der Wimpern), trockenes Auge, Fremdkörpergefühl im Auge, Verfärbung der Augenwimpern, Augenliderythem, Keratitis punctata superficialis (KPS), Photophobie, verstärkter Tränenfluss, verschwommenes Sehen, Verminderung der Sehschärfe, verstärkte Irispigmentierung, Kopfschmerzen. Gelegentlich ($\geq 1/1.000$, $< 1/100$): Lidpigmentierung, Augenlidödem, Asthenopie, konjunktivales Ödem, Ausfluss aus dem Auge, Blepharitis, Zellen in der Vorderkammer, okuläre Beschwerden, Tyndall in der Vorderkammer, konjunktivale Pigmentierung, konjunktivale Follikel, allergische Konjunktivitis, Missempfindungen im Auge, Hypertrichose des Augenlids. **Dosierung:** 1x täglich abends einen Tropfen in den Bindehautsack des/der betroffenen Auges/Augen. **Packungsgrößen:** 30 x 0,3 ml N1 (PZN 6707031), 90 x 0,3 ml N3 (PZN 6707048). Bitte beachten Sie außerdem die Fachinformation. **Verschreibungspflichtig.** **Stand:** November 2012. Santen Oy, Tampere, Finnland. Örtlicher Vertreter: Santen GmbH, 80636 München.

Santen
www.santen.de

HYLO® EYE CARE

Augenbefeuchtung und Pflege. Mit System.



NEU!



Ihr Therapiesystem für alle Formen des trockenen Auges

- Intensive und langanhaltende Augenbefeuchtung durch spezielle Hyaluronsäure
- Leichte Handhabung und mit 300 Tropfen hochergiebig – garantiert niedrige Therapiekosten
- Ohne Konservierungsmittel und mit Kontaktlinsen verträglich

Spitzen- forschung in der Ophthal- mologie

DEUTSCHE
OPHTHALMOLOGISCHE
GESELLSCHAFT

2013

IMPRESSUM

**Lebendige Wissenschaft
Spitzenforschung in der Ophthalmologie**
Grußwort:

- Prof. Dr. med. Berthold Seitz, ML, FEBO,
Präsident der Deutschen Ophthalmologischen Gesellschaft DOG

Verlag / Gesamtherstellung:

ALPHA Informationsgesellschaft mbH, Finkenstraße 10, 68623 Lampertheim
Tel. 06206 / 939-0, Fax 06206 / 939-243
E-Mail: info@alphapublic.de



in Zusammenarbeit mit dem Institut für Wissenschaftliche Veröffentlichungen
Prof. Dr. Klaus Palme

Redaktionsleitung und Koordinierung der Beiträge:

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

Verkaufsleitung: Peter Asel, Tel. 06206 / 939-0, E-Mail: peter.asel@alphapublic.de

Layout: Maria Adler, Christian Seipp

Projektleitung: Arjeta Krasnici

Umschlagsgestaltung:

Das Hintergrundbild wurde freundlicher Weise von Dr. S. Koinzer, Dr. M. Saeger, K. Schlott, A. Baade, Dr. R. Brinkmann, Prof. Dr. J. Roider (Copyright) zur Verfügung gestellt (s. hierzu auch ihren Beitrag auf S. 146 ff., hier Abbildung 1: Farbfundusbild einer Patientennetzhaut nach konventioneller Photokoagulationstherapie.). Die **Abbildung unten links** wurde freundlicher Weise von Dipl. Biol. Henning Thomasen, Priv.-Doz. Dr. Henrike Westekemper, D. Dekowski, M. Hanet, Prof. Dr. Klaus-Peter Steuhl und Prof. Dr. Daniel Meller (Copyright) zur Verfügung gestellt, (s. hierzu auch ihren Beitrag auf S. 220 ff., hier Abbildung 2: Expression der Marker SOX2 und p63, und K19 in einem aggressiver wachsenden Plattenepithelkarzinom der Bindehaut. Positive Zellen sind an der bräunlichen Färbung sichtbar.). Die **Abbildung daneben** wurde freundlicher Weise von Dr. rer. nat. Stephan Reiß, Prof. Dr. rer. nat. Heinrich Stolz, Prof. Dr. rer. nat. Oliver Stachs und Prof. Dr. Rudolf F. Guthoff zur Verfügung gestellt, siehe auch ihren Beitrag auf S. 188 ff., hier Abbildung 1: Schematische Darstellung der Brillouin-Streuung. Die **Abbildung in der Mitte** wurde freundlicher Weise von Prof. Dr. med. Berthold Seitz persönlich zur Verfügung gestellt.

Ihnen allen sei an dieser Stelle recht herzlichst gedankt.

ISSN: 1861-4620 / Ausgabe 2013

Projektnummer: 96-334

Copyright ©: ALPHA Informations-GmbH/Lampertheim

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

Dieses Werk und die einzelnen Beiträge sind urheberrechtlich geschützt. Die dadurch begründeten Rechte, insbesondere des Nachdrucks, des Vortrags, der Mikroverfilmung oder der Vervielfältigung auf anderen Wegen und der Verwendung in elektronischen Systemen, bleiben bei auch nur auszugsweiser Verwendung vorbehalten. Eine Vervielfältigung des Werkes und 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. Zuwiderhandlungen unterliegen den Strafbestimmungen des Urheberrechts.

Grußwort

LIEBE KOLLEGINNEN UND KOLLEGEN!

Die Augenheilkunde befindet sich heute mehr denn je im Wettbewerb mit allen anderen medizinischen Disziplinen. Neben der Fachgesellschaft sind hier besonders die Universitätskliniken gefordert. Es gilt, »die besten Köpfe« für die Augenheilkunde zu gewinnen – und sie dort zu halten. Bereits eine empathische Lehre der Studierenden ist wichtig für die Begeisterung von Studenten, Doktoranden und zukünftiger Assistenzärztinnen und -ärzten (»Kein Effekt ohne Affekt«). Für die Assistenzärzte in Weiterbildung ist ein ausgefeiltes und verlässliches Curriculum unabdingbar. Besonders wichtig sind aber auch Perspektiven in Klinik und Forschung. Nur wenn der Nachwuchs davon überzeugt werden kann, dass das »Angebot Augenheilkunde« eine langfristig tragfähige und erfolgversprechende Wahl ist, wird er sich für unser schönes Fach entscheiden und ihm lebenslang treu bleiben.



Familie – Symposium der AG Nachwuchs« will Lösungsmöglichkeiten im Sinne einer ausgewogenen Work-Life-Balance aufzeigen; Kurse zum »Skill Building« und »Team Establishment« vermitteln Schlüsselfertigkeiten im Bereich des wissenschaftlichen Arbeitens. Das bei einem DOG-Kongress erstmalig angebotene Symposium »Excellence needs Education and Examination« weist auf die verschiedenen nationalen und internationalen Ausbildungs- und Examinierungs-Modelle

hin (z. B. Deutsches Facharztexamen, FEBO, ICO-Examina, etc.).

In diesem Jahr wurde beim DOG-Kongress ein Grundlagenforschungs-Symposium inauguriert, bei dem insbesondere die Verzahnung von Kompetenzen des Kliniklers und des Theoretikers Fuß fassen und Frucht bringen soll. Es sollte heute Einigkeit darin bestehen, dass nur die Symbiose von Arzt und Grundlagenforscher translational relevante Ergebnisse generieren kann. In diesem Sinne sollte es Ziel jeder Universitäts-Augenklinik sein, einen Lehrstuhl für Experimentelle Ophthalmologie auf Augenhöhe mit dem Klinikler einzurichten, um einen möglichst ersprießlichen und nachhaltigen wissenschaftlichen Dialog zu generieren, der sich nicht zuletzt auch in der leistungsorientierten Mittelvergabe der Fakultäten abbilden wird.

Erstmalig in der Geschichte der DOG wird das Buch »Spitzenforschung in der Ophthalmologie« zum diesjährigen Kongress aufgelegt und – dank großzügigen Industrie-Sponsorings – jedem Teilnehmer kostenlos zur Verfügung gestellt. Es liefert einen Einblick in die wissenschaftlichen Schwerpunkte der universitären Augenheilkunde in Deutschland. Während sich die Task Force Forschung der DOG seit einigen Jahren systematisch den Möglichkeiten und Limitationen der ophthal-

DEUTSCHE
OPHTHALMOLOGISCHE
GESELLSCHAFT
DOG

In Zeiten der zunehmenden Arbeitsverdichtung ist es häufig die Forschung, die am Ende zu kurz kommt. Dieser Trend ist für eine wissenschaftliche Fachgesellschaft alarmierend. Die DOG hat sich daher bereits seit einigen Jahren intensiv mit der Förderung des wissenschaftlichen Nachwuchses beschäftigt. Mit zahlreichen Preisen und Stipendien unterstützt und motiviert die DOG junge Wissenschaftlicher, Forschungsprojekte zu beantragen und zu realisieren. Neben strukturellen und finanziellen Angeboten haben wir in diesem Jahr bei unserem DOG-Kongress 2013 eine besonderen Schwerpunkt auch auf inhaltliche Angebote für den Nachwuchs im Rahmen des Kongresses gelegt: Das Symposium »Young Investigator Network« wendet sich unter jährlich wechselnden wissenschaftlichen Fragestellungen speziell an interessierte Nachwuchsforscher; das Symposium »Vereinbarkeit von Wissenschaft, Klinik und



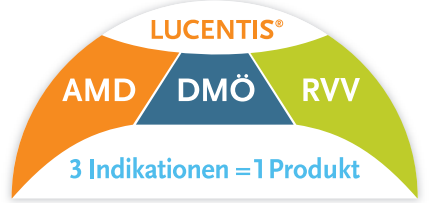
DOG
Deutsche Ophthalmologische
Gesellschaft
Gesellschaft für Augenheilkunde

mologischen Forschungslandschaft in Deutschland zu nähern versucht, spannt dieses Büchlein mit 46 Beiträgen einen bunten Regenbogen über Themen, die für den jeweiligen Standort exemplarisch am wichtigsten und aktuell am attraktivsten zu sein scheinen. Interessanterweise wurden binnen kurzer Frist von fast allen ophthalmologischen Lehrstühlen in Deutschland hochattraktive Beiträge eingebracht, die inhaltlich von der Pathophysiologie, über spezifische Diagnostikverfahren bis hin zu innovativen medikamentösen und ausgefeilten mikrochirurgischen Therapieverfahren reichen. Nicht nur für Wissenschaftler ist es sehr interessant zu erkennen, welche thematische Vielfalt an Spitzenforschung deutsche Universitäts-Augenkliniken – neben dem ökonomisch notwendigen »daily bread and butter« an Katarakt-Operationen und IVOMs – belebt und zukunftsfähig macht. Wenn ich dieses Buch lese, wird mir um unser schönes Fach Augenheilkunde in Deutschland nicht bange.

Persönlich wünsche ich allen Kolleginnen und Kollegen im Namen des Geschäftsführenden Präsidiums und der DOG-Geschäftsstelle beim Lesen dieses Büchleins mindestens so viel Vergnügen wie wir bei der Zusammenstellung der Beiträge hatten.

The image shows a handwritten signature in blue ink on a light-colored background. The signature consists of two lines: the first line is a stylized monogram 'Jh' and the second line is the full name 'B. Seitz'.

Prof. Dr. med. Berthold Seitz, ML, FEBO
Präsident der Deutschen Ophthalmologischen Gesellschaft DOG
Direktor der Klinik für Augenheilkunde
Universitätsklinikum des Saarlandes UKS



BIOLOGIELEHRER

HANDY-EXPERTE

LILIENMAMA

GENIESSERIN

FORELLENFISCHER

Jeder Patient ist anders – Flexible* Therapie mit LUCENTIS®

DIE WELT IST WUNDERSCHÖN > ANZUSEHEN



*Dauer der Initialbehandlung und der Wiederbehandlung (jeweils bis zum maximalen Visus) können bei Patienten verschieden sein. Eine Wiederbehandlung erfolgt erst, wenn bei den Kontrollen eine Visusverschlechterung festgestellt wurde. Siehe Fachinformation.

Lucentis® 10 mg/ml Injektionslösung. Wirkstoff: Ranibizumab. **Zusammensetzung:** Jede Durchstechflasche zum einmaligen Gebrauch enthält 2,3 mg Ranibizumab in 0,23 ml Lösung. Sonstige Bestandteile: α,α-Trehalose-Dihydrat, Histidinhydrochlorid-Monohydrat, Histidin, Polysorbat 20, Wasser für Injektionszwecke. **Anwendungsgebiete:** Behandlung der neovaskulären (feuchten) altersabhängigen Makuladegeneration (AMD) bei Erwachsenen. Behandlung einer Visusbeeinträchtigung infolge eines diabetischen Makulödems (DMÖ) bei Erwachsenen. Behandlung einer Visusbeeinträchtigung infolge eines Makulödems aufgrund eines retinalen Venenverschlusses oder Zentralvenenverschlusses bei Erwachsenen. Behandlung einer Visusbeeinträchtigung infolge einer chorioidalen Neovaskularisation (CNV) aufgrund einer pathologischen Myopie (PM). **Gegenanzeigen:** Überempfindlichkeit gegen den Wirkstoff oder einen der sonstigen Bestandteile. Patienten mit einer bestehenden okularen oder periokularen Infektion bzw. dem Verdacht darauf. Patienten mit einer bestehenden schweren intraokularen Entzündung. **Nebenwirkungen:** Schwerwiegende unerwünschte Ereignisse, die im Zusammenhang mit dem Injektionsvorgang standen, waren Endophthalmitis, rhegmatogene Netzhautablösung, Einriss der Retina und iatrogene traumatische Katarakt. Andere schwerwiegende okuläre Ereignisse waren intraokuläre Entzündung und erhöhter Augeninnendruck. Folgende unerwünschte Wirkungen traten in kontrollierten Studien häufiger bei mit Lucentis behandelten Patienten auf als in der Kontrollgruppe: *Sehr häufig:* Erhöhung des Augeninnendrucks, Kopfschmerzen, Vitritis, Glaskörperabhebung, Einblutungen in die Retina, Beeinträchtigung der Sehfähigkeit, Augenschmerzen, „fliegende Mücken“ (Mouches volantes), Bindehautblutung, Augenirritation, Fremdkörpergefühl im Auge, verstärkter Tränenfluss, Blepharitis, trockenes Auge, okuläre Hyperämie, Pruritus des Auges, Arthralgie, Nasopharyngitis. *Häufig:* Harnwegsinfektionen (nur bei DMÖ-Patienten), Anämie, Netzhautdegeneration, Funktionsstörungen der Retina, Netzhautablösung, Netzhauteinriss, Abhebung des retinalen Pigmentepithels, Einriss des retinalen Pigmentepithels, Visusverschlechterung, Glaskörperblutung, Funktionsstörungen des Glaskörpers, Uveitis, Iritis, Iridozyklitis, Katarakt, subkapsuläre Katarakt, Trübung der hinteren Linsenkapsel, Keratitis punctata, Abrasio corneae, Reizzustand der Vorderkammer, Verschwommensehen, Blutungen an der Injektionsstelle, Einblutungen ins Auge, Konjunktivitis, allergische Konjunktivitis, Augentränen, Photopsie, Photophobie, Augenbeschwerden, Augenlidödem, Augenschmerzen, Hyperämie der Konjunktiva, Husten, Übelkeit, allergische Reaktion (Hautausschlag, Urticaria, Pruritus, Erythem), Hypersensitivitätsreaktionen, Angstzustände. *G gelegentlich:* Erblindung, Endophthalmitis, Hypopyon, Vorderkammerblutung, Keratopathie, Irisadhäsion, Ablagerungen auf der Kornea, Ödeme der Kornea, Striae der Kornea, Schmerzen an der Injektionsstelle, Reizungen an der Injektionsstelle, abnormes Gefühl im Auge, Reizungen des Augenlids. In Phase-III-Studien zur feuchten AMD bei Ranibizumab-behandelten Pat. leicht erhöhte Gesamthäufigk. d. Auftretens von Blutungen außerhalb d. Auges (keine einheitl. Verteilung d. versch. Blutungstypen). Es besteht ein theoretisches Risiko für arterielle thromboembolische Ereignisse, einschließlich Schlaganfall und Herzinfarkt, nach der intravitrealen Anwendung von VEGF-Inhibitoren. In klinischen Studien mit Lucentis an Patienten mit AMD, DMÖ, RVV und PM wurde eine geringe Inzidenzrate für arterielle thromboembolische Vorkommnisse beobachtet. Es gab keine größeren Unterschiede zwischen den verschiedenen Behandlungsgruppen. **Warnhinw.:** Die Filterkanüle ist nicht für die Injektion zu verwenden. **Verschreibungspflichtig. Weitere Angaben:** Siehe Fachinformation. Stand: Juli 2013 (MS 07/13.12). **Novartis Pharma GmbH, Roonstr. 25, 90429 Nürnberg.** Tel.: (09 11) 273-0, Fax: (09 11) 273-12 653. www.novartis.de Info-Service: (0 18 02) 23 23 00 (0,06 € pro Anruf aus dem deutschen Festnetz; max. 0,42 € pro Minute aus dem deutschen Mobilfunknetz)

Mitvertreiber:
 Novartis Pharma Vertriebs GmbH, 90327 Nürnberg
 Novartis Pharma Marketing GmbH, 90327 Nürnberg
 Novartis Pharma Distributions GmbH, 90327 Nürnberg
 Novartis Pharma Arzneimittel GmbH, 90327 Nürnberg



PupilX



*Entwickelt in Zusammenarbeit mit dem
Stiftungslabor für Grundlagenforschung
der Universitäts-Augenklinik Tübingen.*

Die neue Generation der binokularen Pupillometrie

Hauptmerkmale des PupilX-Systems:

Hochauflösendes optisches System

Simultane separate Messung beider Augen

30 Frames pro Sekunde, bis zu 30 Sekunden

Beleuchtung von 0 - 1000 Lux

Optionale Softwaremodule als Anwendungserweiterung
z.B. Messung des Relativen Afferenten Pupillendefekts (RAPD)

Programmierbarer Stimulus



Das patientenfreundliche Pupillometer wurde in Zusammenarbeit mit MATEST Systemtechnik GmbH D-72116 Moessingen exklusiv für MEDIOL entwickelt.



ALBOMED®

ALBOMED® GmbH
Bergweg 8
D-59427 Unna
Tel. +49 - 23 03 - 8 12 76
Fax +49 - 23 03 - 8 18 61
www.albomed.de · info@albomed.de

Spitzenforschung in der Ophthalmologie

INHALTSÜBERSICHT

- Prof. Dr. Berthold Seitz, ML, FEBO
Grußwort 3

- Prof. Dr. Dr. Franz H. Grus
Prof. Dr. Thomas Reinhard
Task Force Forschung der Deutschen Ophthalmologischen Gesellschaft 14

- Dr. Katharina Bell
Dr. Oliver W. Gramlich
Dr. Nadine von Thun und Hohenstein-Blaul
Sabine Beck
Prof. Dr. Norbert Pfeiffer
Prof. Dr. Dr. Franz H. Grus
Glaukom und Autoimmunität 19

- Priv.-Doz. Dr. rer. nat. Utta Berchner-Pfannschmidt
Prof. Dr. Joachim Esser
Prof. Dr. Anja Eckstein
Endokrine Orbitopathie – neues aus Labor und OP Saal 24

- Dr. Thomas Bertelmann
Die Bestimmung der intraokulären Fibrinolyse und deren mögliche therapeutische Bedeutung in Augen mit Störung der Blut-Retina-Schranke 30

- Dr. Eva Biewald
Dr. rer. medic. Harald Stephan
Prof. Dr. Norbert Bornfeld
Neue experimentelle Behandlungsansätze zur Therapie des Retinoblastoms 34

- Dr. Heidrun Deissler
Prof. Dr. Gerhard K. Lang
Prof. Dr. Gabriele E. Lang
Studien zur Schrankenstörung retinaler mikrovaskulärer Endothelzellen 38



- Priv.-Doz. Dr. Tina Dietrich-Ntoukas
Dr. Christiane Blecha
Priv.-Doz. Dr. Henrike Westekemper
Dr. Philipp Eberwein
Priv.-Doz. Dr. Philipp Steven
Prof. Dr. Daniel Wolff
»Okuläre Graft-versus-Host Disease (GVHD) nach allogener hämatopoetischer Stammzelltransplantation« 44

- Prof. Dr. Sascha Fauser
Genetik der altersabhängigen Makuladegeneration 48

- Kai Flachsbarth
Wanda Jankowiak
Dr. Gila Jung
Katharina Kruszewski
Claudia Schob
Prof. Dr. Gisbert Richard
Prof. Dr. Udo Bartsch
Zellbasierte Therapieansätze in Mausmodellen für degenerative retinale Erkrankungen 50

- Priv.-Doz. Dr. Thomas A. Fuchsluger, FEBO MSc.
Dr. Kristina Spaniol
Prof. Dr. Gerd Geerling, FEBO
Optimierung der lamellären und perforierenden Hornhauttransplantation durch Gen- und Serumtherapie..... 55

- Prof. Dr. Florian Gekeler
Dr. Gabriel Willmann
Prof. Dr. Karl Ulrich Bartz-Schmidt
Höhen-Ophthalmologie – ein Randgebiet der Augenheilkunde von beträchtlicher Bedeutung für die Höhenphysiologie 60

- Theodora Gkika
Prof. Dr. phil. nat. George E. Iliakis
Priv.-Doz. Dr. Gerassimos Anastassiou
Dr. rer. nat. Michael Zeschnigk
Prof. Dr. Norbert Bornfeld
Korrelation von molekulargenetischem Risikoprofil und Radiosensitivität von Aderhautmelanom Zelllinien 64

- Prof. Dr. Tim Gollisch
Prof. Dr. Hans Hoerauf
Funktionelle Analyse der neuronalen Signalverarbeitung in der Retina 68

- Prof. Dr. Dr. h.c. Franz Grehn
**Paradigmenwechsel in der Glaukomchirurgie?
Überlegungen zur Wirkungsweise von konventionellen und neuen Glaukomoperationen 74**

- Prof. Dr. Salvatore Grisanti
Priv.-Doz. Dr. Julia Lücke
Dr. Aysegül Tura
Zirkulierende Melanomzellen: Neu in der Diagnostik und Prognosebeurteilung, zukünftig in der Therapieüberwachung 80

- Prof. Dr. Christos Haritoglou
Prof. Dr. Anselm Kampik
Pharmaka und Adjuvantien in der Augenchirurgie86

- Dr. rer. nat. Wolf Harmening
Adaptive Optiken – Scanning Laser Ophthalmoskopie, AOSLO 92

- Priv.-Doz. Dr. rer. nat. Peter Heiduschka
Dr. Anne Alex
Dr. Christoph Clemens
Dr. Florian Alten
Prof. Dr. Nicole Eter
**Pathogenese und zukünftige therapeutische Ansätze
bei der altersabhängigen Makuladegeneration94**

- Prof. Dr. rer. nat. Michael Hoffmann
Interaktion von Pathophysiologie und Plastizität im menschlichen Sehsystem 100

- Dr. Deniz Hos
Priv.-Doz. Dr. Ludwig M. Heindl
Priv.-Doz. Dr. Philipp Steven
Dr. Konrad R. Koch
Dr. rer.-nat. Birgit Regenfuss
Dr. Franziska Bucher
Dr. Simona L. Schlereth
Dr. rer.-nat. Felix Bock
Prof. Dr. Claus Cursiefen
**Anti(lymph)angiogenese als neues Therapiekonzept bei Erkrankungen der Hornhaut
und der Augenoberfläche 106**

- Susanne Jentsch
Sven Peters
Dr. Kai Wildner
Priv.-Doz. Dr. Regine Augsten
Priv.-Doz. Dr. rer. nat. Dietrich Schweitzer
Dr. rer. nat. Martin Hammer
**Fluoreszenzlebensdauer-Ophthalmoskopie (FLIO)
zur molekularen Bildgebung am Augenhintergrund 112**

- Dr. Stephanie C. Joachim
Sandra Kuehn
Sabrina Reinehr
Prof. Dr. H. Burkhard Dick
Immunologische Veränderungen im Glaukom Modell 116

- Dr. rer. nat. Sandra Johnen
Prof. Dr. Gabriele Thumann
Prof. Dr. Peter Walter
Gentherapie bei AMD und bidirektionale Elektrostimulation der Netzhaut 120

- Prof. Dr. Jost B. Jonas
**Forschung im Lehrstuhl Ophthalmologie der Medizinischen Fakultät Mannheim
der Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg 126**

- Prof. Dr. Antonia M. Jousen
Dr. Anna-Karina B. Maier
Dr. Aline I. Riechardt
Dr. Claudia Brockmann
Dr. Florian Heussen
Dr. Argyrios Chronopoulos
Dr. Ira Seibel
Dr. Sergej Skosirsky
Dr. Norbert Kociok
Prof. Dr. Olaf Strauß
**Angiogeneseforschung als Schlüssel zur Pathophysiologie
vaskulärer Erkrankungen des Auges130**

- Dr. rer. nat. Marcus Karlstetter
Univ.-Prof. Dr. rer. nat. Thomas Langmann
Die Rolle von Mikrogliazellen bei degenerativen Erkrankungen der Netzhaut 138

- Prof. Dr. Thomas Kohnen
Priv.-Doz. Dr. Martin Baumeister
Christine Titke
Priv.-Doz. Dr. Jens Bühren
Oliver K. Klaproth
**Standardisierte Ermittlung der Nahsehfähigkeit bei Anwendung moderner Verfahren
der chirurgischen Presbyopiekorrektur 142**

- Dr. S. Koinzer
Dr. M. Saeger
K. Schlott
A. Baade
Dr. R. Brinkmann
Prof. Dr. J. Roider
Automatische Effektsteuerung für minimal-invasive retinale Photokoagulation 146

- Prof. Dr. Alexa Klettner
Prof. Dr. Johann Roider
Zelluläre Regulation des Vascular Endothelial Growth Factor153

- Prof. Dr. Achim Langenbucher
Dr. Timo Eppig
Prof. Dr. Berthold Seitz
Marc Kannengiesser
Dr. Edgar Janunts
Die individuelle Intraokularlinse – das Linsenimplantat der Zukunft? 158

- Dr. Endrik Limburg
retina.net – ein klinisches Kompetenznetzwerk für GCP-konforme Studien 164

- Priv.-Doz. Dr. S. J. Linke
Dr. T. Katz
Dr. J. Steinberg
Dr. A. Frings
Prof. Dr. G. Richard
Die Hamburger Refraktive Datenbank 166

- Priv.-Doz. Dr. Philip Maier
Prof. Dr. Daniel Böhringer
Prof. Dr. Thomas Reinhard
Selektiver Hornhautendothelzellersatz170

- Prof. Dr. Daniel Meller
Dipl.-Biol. Henning Thomasen
Simone Scholz
Khaleda Amir
Prof. Dr. Klaus-Peter Steuhl
**Biotechnologische Therapieansätze zur Behandlung chronischer Erkrankungen
der Augenoberfläche176**

- Priv.-Doz. Dr. Alireza Mirshahi, FEBO
Dr. René Höhn, FEBO
Prof. Dr. Norbert Pfeiffer
**Epidemiologie und Augenheilkunde:
Erste Ergebnisse der Gutenberg-Gesundheitsstudie 180**

- Priv.-Doz. Dr. habil Matus Rehak
Retinaler Venenverschluss – Pathogenese und aktuelle Therapie 185

- Dr. rer. nat. Stephan Reiß
Prof. Dr. rer. nat. Heinrich Stolz
Prof. Dr. rer. nat. Oliver Stachs
Prof. Dr. Rudolf F. Guthoff
Brillouin-Spektroskopie in der Augenheilkunde 188

- Priv.-Doz. Dr. Steffen Schmitz-Valckenberg
Prof. Dr. Frank G. Holz
**Analyse der Progression atrophischer Makuladegeneration
mittels cSLO-basierter Detektion und Quantifizierung
funktionsrelevanter Atrophie-Flächen 194**

- Priv.-Doz. Dr. Dr. Knut Stieger
Prof. Dr. Birgit Lorenz
**Morphologische und funktionelle Zielparameter bei experimentellen Therapien
erblicher Netzhauterkrankungen 198**

- Dr. Katarina Stingl
Prof. Dr. Dr. h.c. mult. Eberhart Zrenner
Subretinale elektronische Implantate in der klinischen Anwendung 202

- Prof. Dr. Olaf Strauß
Sergej Skosyrski
Magdalena Markowski
Susanne Keckeis
Dr. Nadine Reichhart
Prof. Dr. Antonia M. Jousseaume
Das retinale Pigmentepithel und Erkrankungen des Auges 206

- Priv.-Doz. Dr. Nóra Szentmáry
Tanja Stachon
Jiong Wang
Dr. Timo Eppig
Prof. Dr. Achim Langenbacher
Dr. Susanne Goebels
Prof. Dr. Berthold Seitz
Photodynamische Therapie (PDT) der Hornhaut213

- Dipl. Biol. Henning Thomasen
Priv.-Doz. Dr. Henrike Westekemper
D. Dekowski
M. Hanet
Prof. Dr. Klaus-Peter Steuhl
Prof. Dr. Daniel Meller
**Expression von Stammzell-/Pluripotenzmarkern in epithelialen Tumoren
der Augenoberfläche 220**

- Prof. Dr. Frank Tost
Dipl. Phys. Rico Großjohann
Dr. Clemens Jürgens
Versorgungsforschung in der Ophthalmologie 224

- Prof. Dr. rer. nat. Marius Ueffing
Yves Texier
Dr. rer. nat. Andreas Vogt
Sylvia Bolz
Nicola Horn
Yasmin Wissinger
Dr. rer. nat. Matthias Gerberding
Prof. Dr. Karl Ulrich Bartz-Schmidt
Dr. rer. nat. Karsten Boldt
Systembiologie als Ansatz zur Erforschung und Therapie von Ciliopathien228

- Dr. Yanors Yandiev
Prof. Dr. rer. nat. habil. Andreas Bringmann
Rolle der glialen Wasser- und Kaliumkanäle bei der Bildung des Netzhautödems 232

- **Autorenverzeichnis 236**

Bezeichnung des Arzneimittels: Eylea 40 mg/ml Injektionslösung. (Vor Verschreibung bitte die Fachinformation beachten.) **Zusammensetzung:** **Wirkstoff:** Jede Durchstechflasche enthält 100 µl, entsprechend 4 mg Aflibercept. **Sonstige Bestandteile:** Polysorbat 20, Natriumdihydrogenphosphat 1 H₂O, Dinatriumhydrogenphosphat 7 H₂O, Natriumchlorid, Saccharose, Wasser für Injektionszwecke. **Anwendungsgebiet:** Eylea wird angewendet bei Erwachsenen zur Behandlung neovaskulärer (feuchter) altersabhängiger Makuladegeneration (AMD). **Dosierung und Art der Anwendung:** Nur zur intravitrealen Injektion. Applikation nur von einem qualifizierten Arzt mit Erfahrung in der Durchführung intravitrealer Injektionen. Empfohlene Dosis: 2 mg Aflibercept (0,05 ml). Initialbehandlung: 3 Injektionen im monatlichen Abstand, gefolgt von 1 Injektion alle 2 Monate. Eine Kontrolle zwischen den Injektionen ist nicht notwendig. Nach den ersten 12 Monaten der Behandlung kann das Behandlungsintervall basierend auf dem funktionellen und morphologischen Verlauf verlängert werden. In diesem Fall sollte das Kontrollintervall durch den behandelnden Arzt festgelegt werden, dieses kann häufiger sein, als das Injektionsintervall. **Gegenanzeigen:** Überempfindlichkeit gegen Aflibercept oder einen der sonstigen Bestandteile. Bestehende oder vermutete okuläre oder periokuläre Infektion. Bestehende schwere intraokuläre Entzündung.

Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen: Intravitrealen Injektionen können zu einer Endophthalmitis führen. Wenden Sie immer angemessene aseptische Injektionsmethoden an. Instruieren Sie Patienten, unverzüglich alle Symptome zu melden, die auf eine Endophthalmitis hinweisen. Behandeln Sie diese angemessen. Anstiege des Augeninnendrucks (IOP) wurden innerhalb von 60 Min. nach intravitrealen Injektionen beobachtet. Besondere Vorsicht ist bei schlecht eingestelltem Glaukom geboten (keine Injektion solange IOP ≥ 30 mmHg). In allen Fällen müssen sowohl IOP als auch Perfusion des Sehnervenkopfes überwacht und angemessen behandelt werden. Möglichkeit der Immunogenität. Instruieren Sie Patienten, alle Anzeichen oder Symptome einer intraokulären Entzündung, z. B. Schmerzen, Photophobie oder Rötung, zu berichten, da diese klinische Anzeichen einer Überempfindlichkeit sein könnten. Berichte systemischer Nebenwirkungen inklusive nicht-okularer Hämorrhagien und arterieller thromboembolischer Ereignisse nach intravitrealer Injektion von VEGF-Hemmern. Potenzielles Risiko für einen Zusammenhang mit der VEGF-Hemmung. Sicherheit und Wirksamkeit gleichzeitiger Behandlung beider Augen wurde nicht systematisch untersucht. Zu den Risikofaktoren, die nach einer anti-VEGF Therapie bei feuchter AMD zur Entwicklung eines retinalen Pigmentepithelinrisikos führen können, gehören großflächige und/oder hohe Abhebungen des retinalen Pigmentepithels. Zu Therapiebeginn Vorsicht bei Patienten mit diesen Risikofaktoren. Aussetzen der Behandlung bei Patienten mit rheumatogener Netzhautablösung oder Makulalöchern Grad 3 oder 4. Aussetzen der Behandlung bei Einriss der Retina bis der Riss adäquat verheilt ist. Aussetzen der Behandlung und nicht vor dem nächsten geplanten Termin fortsetzen bei Verminderung der bestmöglich korrigierten Sehschärfe von ≥ 30 Buchstaben im Vergleich zur letzten Messung; subretinaler Blutung, mit betroffenem Zentrum der Fovea oder bei Größe der Blutung ≥ 50 % der gesamten betroffenen Läsion. Aussetzen der Behandlung 28 Tage vor oder nach einem durchgeführten oder geplanten intraokulären Eingriff.

Nebenwirkungen: Injektionsbezogene schwerwiegende Nebenwirkungen: Endophthalmitis, traumatische Katarakt, vorübergehender IOP-Anstieg. Weitere: Sehr häufig: Bindehautblutung, Augenschmerzen; Häufig: Netzhautablösung, Einriss des retinalen Pigmentepithels, Netzhautdegeneration, Katarakt, Kernkatarakt, Subkapsulärer Katarakt, Hornhautabrasion, IOP-Anstieg, verschwommenes Sehen, Glaskörperschlieren, Hornhautödem, Glaskörperabhebung, Schmerzen an der Injektionsstelle, Fremdkörpergefühl im Auge, erhöhte Tränensekretion, Augenlidödem, Blutungen an der Injektionsstelle, Bindehauthyperämie, okuläre Hyperämie; Gelegentlich: Überempfindlichkeit, Endophthalmitis, Einriss der Retina, Glaskörperblutung, Rindenkatarakt, Linsentrübungen, Hornhautepitheldefekt, Hornhauterosion, Reizung an der Injektionsstelle, abnorme Empfindung im Auge, Reizung des Augenlids, Vitritis, Uveitis, Iritis, Iridocyclitis, Schwebeteilchen in der Vorderkammer; Selten: Hypopyon. Produktklasse bezogene Nebenwirkungen: erhöhte Inzidenz von Bindehautblutungen bei Patienten, die antithrombotische Arzneimittel erhielten. Theoretisches Risiko arterieller thromboembolischer Ereignisse nach intravitrealer Anwendung von VEGF-Hemmern. Immunogenitätspotenzial. **Verschreibungspflichtig. Pharmazeutischer Unternehmer:** Bayer Pharma AG, D-13342 Berlin, Deutschland. Stand: DE/1; August/2013. © Bayer Vital GmbH, 51366 Leverkusen



150 Years
Science For A
Better Life

VISUS- VERBESSERUNG¹

ist mehr als reiner
Buchstabengewinn.

VEGF Trap-Eye



Bei neovaskulärer AMD mit EYLEA® aktiv werden.

- ▷ **Definierte 2-monatige Injektionsintervalle***
- ▷ Hohe Behandlungsqualität bei guter Planbarkeit
- ▷ Schafft Freiräume für Arzt und Patient

* Nach initial 3 Injektionen im monatlichen Abstand. Nach den ersten 12 Monaten der Behandlung mit EYLEA® kann das Behandlungsintervall basierend auf dem funktionellen und morphologischen Verlauf verlängert werden.
1 Fachinformation EYLEA®, Stand November 2012. Visus-Verbesserung (Mittlere Veränderung der Sehschärfe): sekundärer Studienendpunkt, nach 52 Wochen +8,4 Buchstaben.



Task Force Forschung der Deutschen Ophthalmologischen Gesellschaft

PROF. DR. DR. FRANZ H. GRUS¹ UND PROF. DR. THOMAS REINHARD²

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

2 Ärztlicher Direktor
der Universitäts-Augenklinik Freiburg

Die experimentelle und klinische augenärztliche Forschung in Deutschland hat sich in den vergangenen Jahren im internationalen Vergleich sehr gut sichtbar positioniert. In nahezu allen Bereichen der Augenheilkunde konnten wesentliche experimentelle, aber auch klinische Erkenntnisse gerade an deutschen Standorten gewonnen werden. Dies gilt ganz besonders für Netzhauterkrankungen, Hornhauterkrankungen und das Glaukom. Widerspiegelt wird diese Tatsache darin, dass weltweit nach den USA die meisten augenärztlichen Veröffentlichungen aus Deutschland stammen. Eine Weiterentwicklung der experimentellen und klinischen augenärztlichen Forschung in Deutschland muss sich an nachfolgenden Fragen orientieren:

1. Sind die augenärztlichen Forschungsressourcen in Deutschland zu stark fragmentiert?

In Deutschland gibt es keine zentrale, nationale Institution der ophthalmologischen Forschung wie beispielsweise in den USA mit dem National Eye Institute (NEI). Die ophthalmologische Forschung in Deutschland ist in 37 Universitätsstandorten (in 35 Städten), einigen Instituten für Grundlagenforschung sowie Forschungseinrichtungen der pharmazeutischen und technischen Industrie fragmentiert. Um dieser Fragmentierung entgegen zu wirken, hat die Deutsche Ophthalmologische Gesellschaft in den vergangenen Jahren insgesamt 9 Sektionen gegründet, in denen Forscher mit ähnlichen oder identischen Forschungsschwerpunkten gemeinsam Projekte initiieren sollen. Zunächst müssen die wesentlichen Forschungsschwerpunkte der DOG-Sektionen identifiziert werden. In einem nächsten Schritt können dann ggf. in jeder Sektion – sofern dies nicht ohnehin schon der Fall ist – gemeinsame nationale experimentelle und klinische Forschungsprojekte koordiniert werden.

2. Müssen die Fördermittel für die ophthalmologische Forschung in Deutschland gesteigert werden?

Dem amerikanischen NEI standen alleine im Jahr 2012 841 Millionen US-Dollar für ophthalmologische Forschung zur Verfügung. Dies dürfte ein Vielfaches der Gesamtsumme sein, die in Deutschland für augenärztliche Forschung über die Deutsche Forschungsgemeinschaft (DFG), das Bundesministerium für Bildung und Forschung (BMBF), die Europäische Union (EU) oder pharmazeutische und technische Industrie rekrutiert wird. Die derzeit zur Verfügung stehenden Forschungsmittel sollen zunächst identifiziert werden. Im Hinblick auf die o. a. Schwerpunktthemensetzung sollte es dann in einem nächsten Schritt möglich sein, diese Mittel ggf. auch zu steigern.

3. Wie kann die Position der augenheilkundlichen Forschung in den medizinischen Fakultäten der Universitätsklinika verbessert werden?

In den allermeisten Universitätsklinika in Deutschland erfolgt die Zuweisung der Mittel für Forschung und Lehre für die jeweiligen Einrichtungen auf der Basis der sogenannten leistungsorientierten Mittelvergabe (LOM). Diese ist an der Drittmittelwerbung und am Publikationserfolg ausgerichtet. Derzeit wird weltweit darüber gestritten, ob diese Kriterien adäquate Messinstrumente für wissenschaftliche Leistung sind, bis hin zu der Frage, ob wissenschaftliche Leistung überhaupt messbar ist. Die augenheilkundliche Forschung belegt durchaus im Ranking einiger deutscher medizinischer Fakultäten gute Plätze, sowohl im Hinblick auf die Drittmittelwerbung, vor allem aber im Hinblick auf die Impact-Faktor-Summen. Dies ist umso erfreulicher, da die Augenheilkunde als »kleines Fach« naturgemäss beim Ranking durch Impact-Faktor-Sum-

men benachteiligt wird, da selbst die besten ophthalmologischen Journals nur vergleichsweise kleine Impact-Factoren besitzen. Gemeinsame »Leuchtturmprojekte« der DOG Sektionen können die Position der augenheilkundlichen Forschung in den medizinischen Fakultäten möglicherweise weiter stärken.

4. Wie soll sich die augenheilkundliche Forschung gegenüber den geforderten Schwerpunktbildungen innerhalb der medizinischen Fakultäten aufstellen?

Schwerpunktbildungen hat es in den vergangenen Jahren an nahezu allen deutschen medizinischen Fakultäten gegeben. Für die medizinischen Fakultäten ist dies im Sinne einer besseren nationalen/internationalen wissenschaftlichen Sichtbarkeit wichtig und nachvollziehbar. Diese Art der »Top-Down« Forschung birgt jedoch die große Gefahr, dass nur das erforscht wird, was im »Mainstream« liegt, gut gefördert wird und sich gerade gut publizieren lässt. Eine Beteiligung der Augenheilkunde an diesen Schwerpunkten ist im Regelfall nur möglich, wenn die originären augenheilkundlich orientierten Forschungsinhalte verlassen werden und den Anforderungen der Schwerpunktbildung angepasst werden. Um dem entgegenzuwirken ist die Deutsche Ophthalmologische Gesellschaft bereits in den vergangenen Jahren aktiv gewesen und hat gut fundierte wissenschaftliche Anträge unabhängig davon gefördert, ob sie in den »Mainstream« gehören oder eher als »Außenreiterthemen« anzusehen sind. Wichtige ophthalmologische Themen müssen national sichtbar werden, im Idealfalle bis hin zu einer (eigenen) Schwerpunktbildung innerhalb deutscher medizinischer Fakultäten.

5. Wie kann die Expansion der augenärztlichen Krankenversorgung künftig besser für die ophthalmologische Forschung genutzt werden?

Die demographische Entwicklung hat dazu geführt, dass heute viel mehr Patienten mit Augenkrankheiten behandelt werden müssen, als noch vor wenigen Jahren. Dieser Trend wird in den nächsten Jahren anhalten, zumindest weisen Berechnungen aus dem Bericht der Medizinstrukturkommission des Landes Baden-Württemberg¹ darauf hin. Danach wird bis zum Jahr 2050 der Anteil der über 60jährigen in Baden-Württemberg beinahe 40% betragen. Dies dürfte auf ganz Deutschland übertragbar sein und hat nachhaltige Konsequenzen für die verschiedenen Medizindisziplinen.

Kein anderes medizinisches Fach wird dabei so stark wachsen wie die Augenheilkunde. In der Augenheilkunde wird bereits bis zum Jahr 2030 mit einem Patientenzuwachs von nahezu 50% gerechnet. Noch gar nicht eingerechnet sind hier die technischen Neuerungen im Bereich der augenheilkundlichen Diagnostik und Therapie. Heute sind viele Augenerkrankungen (gut) behandelbar, von denen vor 25 Jahren nicht einmal die Pathogenese verstanden wurde.

Diese Mehrbelastung (auch) der ophthalmologischen Forschungsstandorte durch die Patienten sollte weniger als Bedrohung denn als große Chance angesehen werden. Der Patientenzuwachs ermöglicht nämlich in hervorragender Weise die Durchführung klinischer Studien. Prinzipiell sollte jedem Patienten an einem ophthalmologischen Forschungsstandort die Teilnahme an einer Studie angeboten werden. Hierzu sind allerdings 2 Voraussetzungen erforderlich: Zum einen werden professionelle Forschungsteams benötigt, die an manchen Forschungsstandorten bereits seit Jahren hervorragende Arbeit leisten und an zunehmend vielen anderen Standorten sich im Aufbau befinden. Zum anderen müssen wir nach außen deutlich machen, dass ein Patient in einer Studie keinesfalls ein »Versuchskaninchen« ist, sondern ihm in Hinblick auf die umfassende Betreuung und die vielfältigen Untersuchungen im Rahmen einer Studie eine Fürsorge zukommt, die im Rahmen der reinen Krankenversorgung schon lange nicht mehr leistbar ist. Darüber hinaus profitiert ein solcher Patient natürlich als einer der Ersten von Neuerungen.

Möglicherweise lässt sich eine direkte Korrelation von (quantitativ und qualitativ) erfolgreicher Krankenversorgung und erfolgreicher Forschung künftig nachweisen.

6. Kann es gelingen, künftig die besten Köpfe für die augenheilkundliche Forschung zu gewinnen?

Im Gegensatz zu einer ganzen Reihe medizinischer Fächer hat die Augenheilkunde an vielen deutschen Forschungsstandorten keine Nachwuchssorgen. Sicherlich ist ein Grund dafür, dass ophthalmologische Pathologie ebenso gut sichtbar ist, wie (chirurgischer) therapeutischer Erfolg. Mit entsprechenden Bildern können bereits in Pflichtvorlesungen zur Berufsfelderkundung des Medizinstudiums im ersten vorklinischen Semester Studierende beeindruckt und für die Augenheilkunde gewonnen werden. Weitere »Booster« stellen

dann Hauptvorlesungen, Seminare und Praktika im klinischen Abschnitt des Medizinstudiums dar. Auf diese Art und Weise können Doktoranden gewonnen werden, die meist auch das Augenheilkundetertial des Praktischen Jahres in der jeweiligen Einrichtung absolvieren. Somit steht kontinuierlich vielen augenheilkundlichen Abteilungen in den Universitätskliniken ein Reservoir zur Verfügung, aus dem ärztliche und wissenschaftliche Mitarbeiter gewonnen werden können.

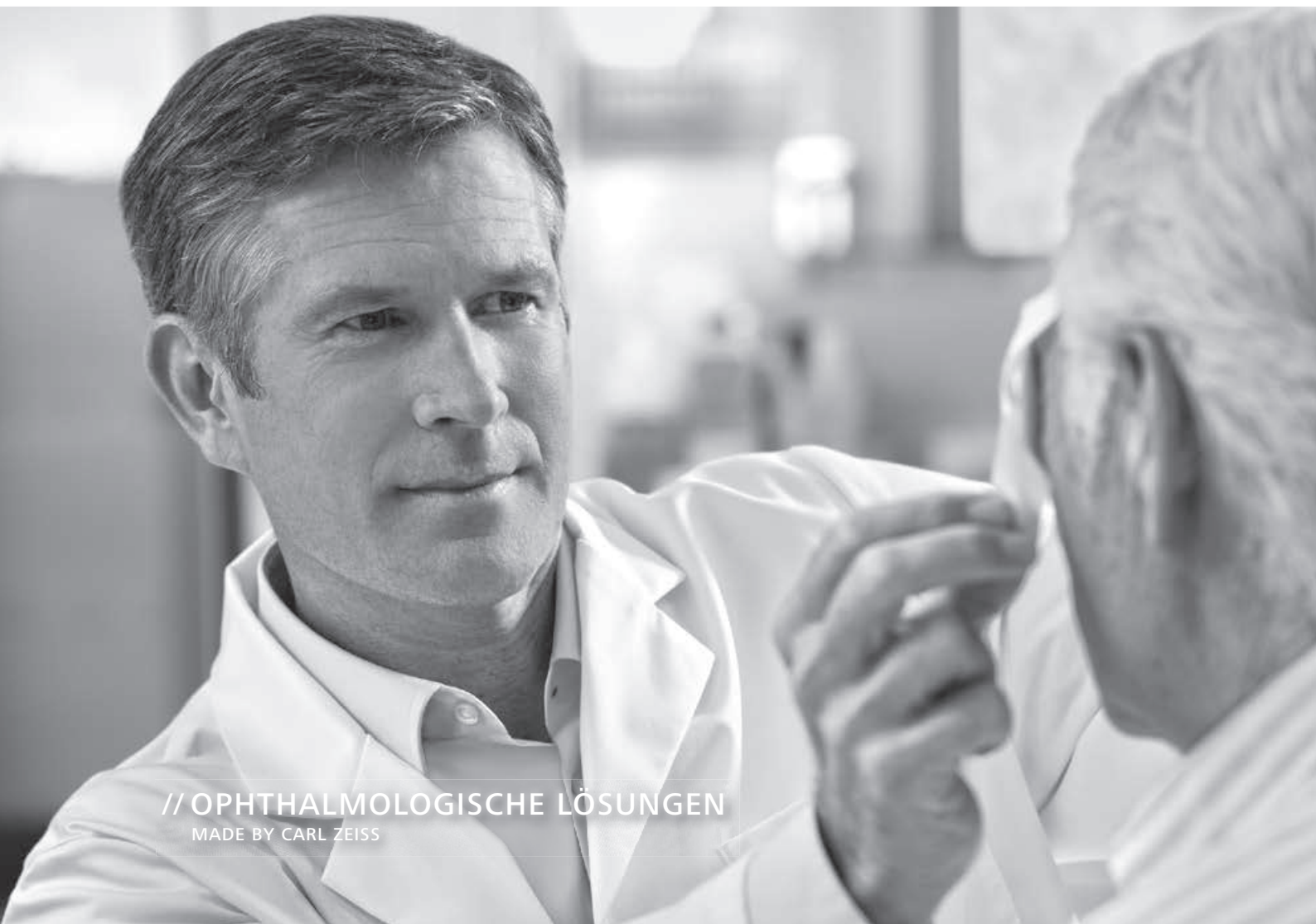
Jeder ärztliche Mitarbeiter einer Universitäts-Augenklinik sollte grundsätzlich auch wissenschaftlich tätig sein. Dies gilt mindestens für die Beteiligung an der Durchführung klinischer Studien. Hierfür sind allerdings die bereits oben erwähnten professionellen Strukturen im Bereich der klinischen Forschung erforderlich. Durch eine Verzahnung der klinischen Forschung mit der Grundlagenforschung kann es gelingen, angehende Augenärzte durchaus für eine (zeitweise) Tätigkeit im Labor zu gewinnen. Dies alles darf jedoch nicht wie in alten Zeiten »nebenbei« nach der klinischen Arbeit erfolgen. Entsprechende Freistellungen müssen möglich sein. Wichtig ist hier, dass über kurzfristige Freistellungen hinaus entsprechende langfristige Modelle entwickelt werden, die sowohl dem Arzt in der Facharzt-ausbildung, als auch für die weitere Berufslaufbahn Perspektiven bieten.

Die Task Force Research der Deutschen Ophthalmologischen Gesellschaft wurde vor etwa 3 Jahren gegründet. Sie soll bei der Beantwortung der o. a. Fragen hilfreich sein. Dazu hat sie sich folgende Aufgaben vorgenommen:

- Die Forschungsaktivitäten an den deutschen Universitätsaugenkliniken wurden sowohl im Hinblick auf Input (beispielsweise professionelle Teams für klinische Forschung, professionelle Teams für Grundlagenforschung, Laborressourcen), als auch im Hinblick auf Output (beispielsweise Drittmittelinwerbung, Publikationen, Impact-Faktor-Summen) erfasst. Darüber hinaus wurden für jeden ophthalmologischen Forschungsstandort jeweils die 3 wichtigsten Forschungsthemen der vergangenen Jahre als auch für die Zukunft erfragt.
- Aus diesen Daten wird derzeit eine Übersicht erstellt, die ophthalmologische Forschung in Deutschland in ihrem Gesamtbild erstmals national (und auch international) sichtbar machen soll.
- In den 9 Sektionen der Deutschen Ophthalmologischen Gesellschaft sollen diese Daten und vor allem die jeweilig genannten Schwerpunktthemen diskutiert werden. Im Idealfall sollte jede Sektion der Deutschen Ophthalmologischen Gesellschaft in der Lage sein, einen Katalog der wichtigsten Themen sowohl im Bereich der klinischen Forschung als auch im Bereich der Grundlagenforschung zu definieren. Vor allem soll dabei festgelegt werden, welche Projekte gemeinsam bearbeitet werden können, um Synergien zu nutzen.
- In einem weiteren Schritt sollen dann die Leiter der DOG-Sektionen in Zusammenarbeit mit dem Gesamtpräsidium und der Task Force Forschung eine Kondensierung dieser Themen so vornehmen, dass sich alle Sektionen möglichst gut abgebildet finden.
- Diese Themen können dann zu »Leuchtturmprojekten« ausgearbeitet werden. Hierzu sollen durch die Task Force auch Veranstaltungen durchgeführt werden, die die interessierten, aktiven Arbeitsgruppen zusammenbringen sollen, um neue ortsübergreifende Initiativen für die Bearbeitung wissenschaftlicher ophthalmologischer Fragestellungen etablieren zu helfen. Dieses wiederum kann eine ganz ausgezeichnete Basis sein, einer Fragmentierung der augenärztlichen Forschung entgegen zu wirken, Drittmittel in erheblichem Umfang einzuwerben, in den medizinischen Fakultäten für eine bessere Sichtbarkeit zu sorgen, bis hin zu einer eigenen Schwerpunktbildung, aber auch Krankenversorgung, klinische Forschung und Grundlagenforschung noch besser miteinander zu verzahnen. Schließlich führt eine derartige bessere Sichtbarkeit auch dazu, dass wissenschaftlicher Nachwuchs noch besser rekrutiert werden kann.
- Letztendlich muss auch die DOG politisch präsenter werden, um stärker auch auf die »Roadmaps« der Förderthemen, die durch die Politik vorgegeben werden, auch als DOG Einfluss zu nehmen, damit augenheilkundliche Themen, die in der Vergangenheit in den »Roadmaps« weitestgehend fehlten, dort in Zukunft deutlich mehr Berücksichtigung finden und eine stärkere Förderung originärer ophthalmologischer Themen und entsprechende Schwerpunktbildungen erreicht werden können.

Der Moment in dem Innovationskraft und Leidenschaft
Ihrem Patienten zu besserem Sehen verhelfen.

Für diesen Moment arbeiten wir.



// OPHTHALMOLOGISCHE LÖSUNGEN
MADE BY CARL ZEISS

www.meditec.zeiss.de



We make it visible.

SCHWARZ/WEISS WAR GESTERN, HEUTE IST TOPOGRAPHIE BUNT!

Der OCULUS Keratograph 5M
zeigt in brillanten Farben:

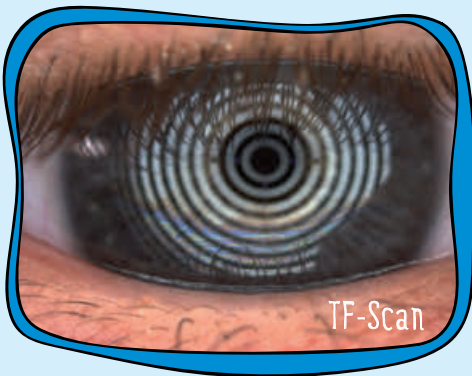
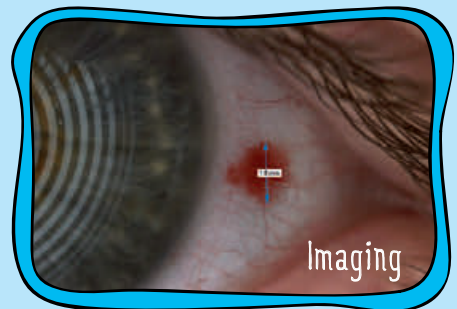
- ▶ Bilddokumentation
- ▶ Tränenfilmanalyse
- ▶ R-Scan

Erleben Sie die Macht der Farben!

Besuchen Sie uns auf der DOG 2013, Stand A29

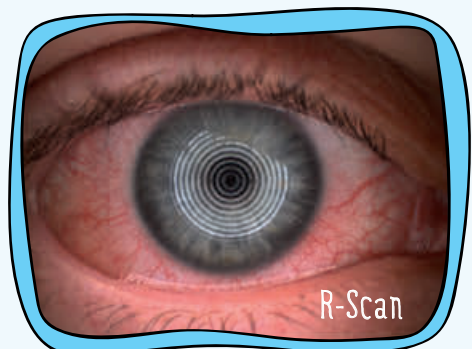
Bilddokumentation

Mit der hochauflösenden Farbkamera und dem integrierten Messtool liefert Ihnen der Keratograph 5M bestechende Bilder für eine lückenlose Dokumentation.



Tränenfilm-Beurteilung

Mit nur einem Gerät beurteilen Sie schnell und ohne zusätzliche Hilfsmittel die Tränenfilmaufrisszeit, den Tränenmeniskus und die Qualität der Lipidschicht.



Objektive Klassifikation

Mit nur einem Mausklick erhalten Sie eine fundierte und objektive Klassifikation der bulbären Rötung.



OCULUS[®]

www.oculus.de

Glaukom und Autoimmunität

DR. KATHARINA BELL¹, DR. OLIVER W. GRAMLICH¹,
DR. NADINE VON THUN UND HOHENSTEIN-BLAUL¹, SABINE BECK¹,
PROF. DR. NORBERT PFEIFFER², PROF. DR. DR. FRANZ H. GRUS¹

Die Glaukomerkrankungen, welche eine der häufigsten Erblindungsursachen weltweit darstellen [1], zeichnen sich durch einen langsamen, progressiven Verlust retinaler Ganglienzellen mit irreversibler Schädigung des Sehnervs aus, was zu Gesichtsfeldausfällen bis hin zur völligen Erblindung führt. Die häufigste Form des Glaukoms in westlichen Ländern ist das primäre Offenwinkelglaukom (POWG) mit einer geschätzten Prävalenz von 1,1% bis 2% [2–5]. Das POWG ist durch einen offenen Kammerwinkel und erhöhtem Augeninnendruck (IOD) charakterisiert [6], allerdings weisen ca. 30% der Glaukopatienten trotz charakteristischer glaukomatöser Schädigungen keinen erhöhten IOD auf [7], was als Normaldruckglaukom (NTG) bezeichnet wird [6]. Heutzutage wird ein erhöhter IOD als ein Haupt-Risikofaktor für das Glaukom angesehen [6], der genaue Mechanismus mit dem es zu einer Schädigung des Sehnervs kommt ist noch unklar, denn ebenso scheinen weitere pathogenetische Faktoren, wie z.B. oxidativer Stress [8] oder vaskuläre Faktoren [9], aber auch eine autoimmunologische Komponente [10, 11] bei der Krankheitsentstehung eine wichtige Rolle zu spielen.

In diesem Zusammenhang konnte unsere Arbeitsgruppe veränderte Autoantikörperreaktionen, welche gegen verschiedene retinale und allgemein okuläre Proteine gerichtet sind, im Serum, Kammerwasser und Tränenflüssigkeit von Glaukopatienten nachweisen [12–17] (**Abbildung 1**). Autoantikörper reagieren mit körpereigenen Strukturen, es gibt jedoch auch natürlich vorkommende Autoantikörper, welche Bestandteil des angeborenen Immunsystems sind und als regulatorische Faktoren betrachtet werden können [18], die höchstwahrscheinlich die Aktivität ihrer Zielmoleküle und deren physiologischer Funktion beeinflussen können [19]. Es scheint möglich zu sein, dass Veränderungen der natürlichen Autoimmunität in die Homöostase der körpereigenen Strukturen des Auges eingreifen können und so langfristig zu einer Vulnerabilität der retinalen Ganglienzellen und des Sehnervs führen können. Beim Glaukom wurden krankheits-spezifische Veränderungen in den komplexen Mustern

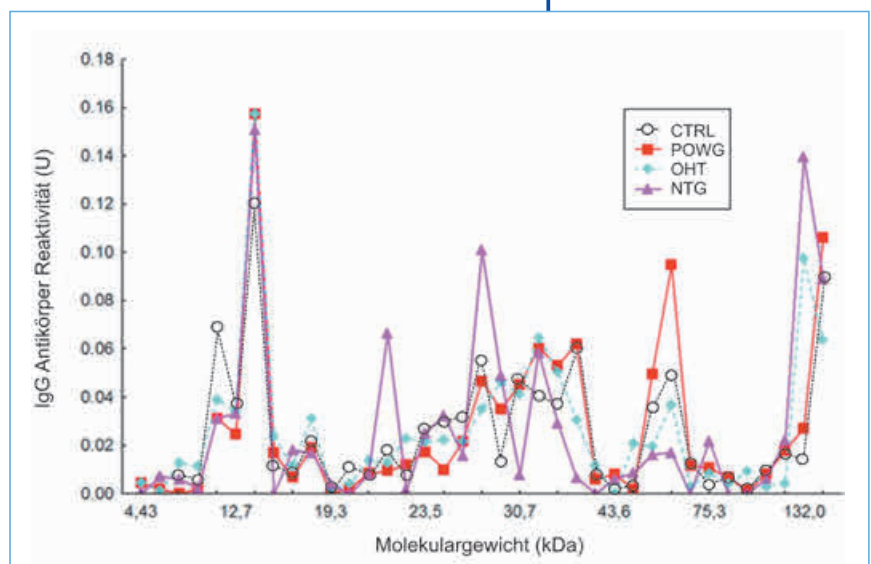
der natürlichen Autoantikörper im Serum von Patienten detektiert [12–16], die eine hohe Konsistenz auch in unterschiedlichen Studienpopulationen aufweisen [17]. Interessanterweise gibt es auch Unterschiede in den Autoantikörpermustern zwischen verschiedenen Glaukomgruppen (POWG und NTG) (**Abbildung 1**). Bisher wurden zahlreiche veränderte Autoantikörper, z.B. HSP60 [20], HSP27 [12], HSP70 [21], Kristalline [21, 22], α -Fodrin [17], Vimentin [21] oder Myelin basisches Protein (MBP) [15] identifiziert. Unklar ist bisher, ob diese immunologischen Veränderungen ursächlich an der Entstehung des Glaukoms beteiligt sind (kausal) oder vielmehr als Folge der Erkrankung (epiphänomenal) gebildet werden.

Unsere Studien waren kürzlich in der Lage Ablagerungen von Antikörpern (IgG), sowie eine Aktivierung von immunkompetenten Zellen in den Retinae von Glaukopatienten zu detektieren [23]. Proteomische Analysen zeigten eine Heraufregulierung zahlreicher pro-inflammatorischer Zytokine in glaukomatösen Retinae, welches darauf hinweist, dass die IgG Antikörperablagerungen in der Retina in einer pro-inflammatorischen Umgebung vorliegen [23]. Ähnliche Beobachtun-

- 1 Experimentelle und Translationale Ophthalmologie, Augenklinik der Universitätsmedizin an der Johannes Gutenberg Universität Mainz
- 2 Augenklinik der Universitätsmedizin an der Johannes Gutenberg Universität Mainz

Abbildung 1

■ Antikörperprofile gegen Antigene aus dem optischen Nerv in POWG und NTG im Vergleich zu Gesunden (CTRL) und Patienten mit OHT. Die Antikörperprofile der Glaukomgruppen unterscheiden sich signifikant von Gesunden. [12]



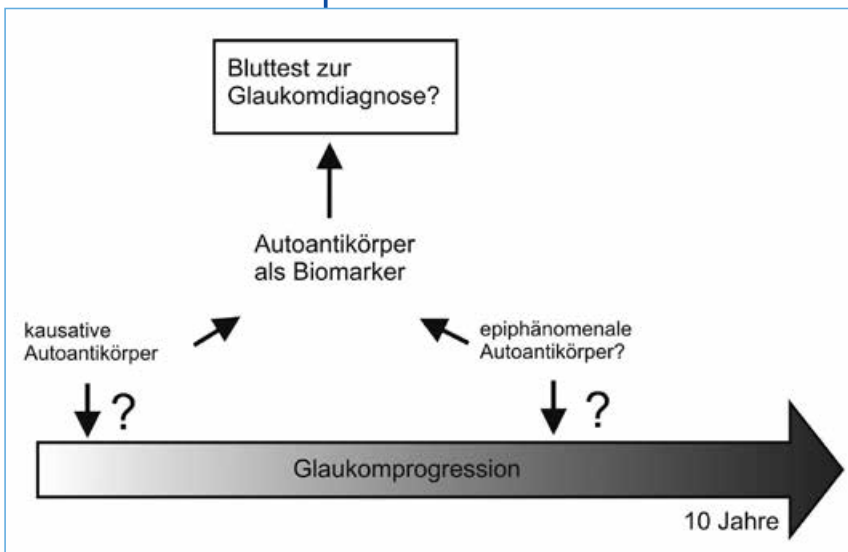


Abbildung 2

■ In Glaukompatienten wurden spezifische Veränderungen der Autoantikörperprofile gefunden, anhand derer es möglich war das Serum von Gesunden zu unterscheiden.

gen zeigten auch Ergebnisse im experimentellen Glaukom-Tiermodell (experimental autoimmune glaucoma EAG), wobei hier neben Antikörperablagerungen in der Retina auch zur vermehrten Aktivierung von Mikroglia detektiert wurden, sowie auch ein Verlust an retinalen Ganglienzellen [24]. In klinischen Studien wurden komplexe Autoantikörperveränderungen bei Glaukompatienten gefunden, wobei sowohl erhöhte (z. B. gegen MBP) als auch erniedrigte Antikörperreaktivitäten (z. B. gegen GFAP) im Vergleich zu Kontrollpatienten festgestellt werden konnten [12]. Die Ursache bzw. die Funktion dieser Veränderungen sind noch unklar. Möglicherweise werden durch hochregulierte Autoantikörper potenziell autoaggressiven Mechanismen, wie wir durch verschiedene Immunisierungsstudien im Tiermodell zeigen konnten [24–26], provoziert. Die Herunterregulierung verschiedener Autoantikörper scheint eine Rolle in Zusammenhang mit veränderten Funktionen der natürlichen Autoimmunität, welche an regulatorischen Prozessen beteiligt ist, zu spielen, wobei es zu einer erniedrigten Protektion und veränderten regulatorischen Bedingungen in Glaukompatienten kommt (zusammengefasst in [10]). Um die Bedeutung einer Herabregulierung besser zu verstehen, muss man bedenken, dass Antikörper nicht nur destruktiv sind, sondern ebenso regulatorische Faktoren sein können, welche an einer Vielzahl physiologischer Aktivitäten beteiligt sein können, von Immunregulation und Homöostase, bis zur Resistenz gegen Infektionen, Transport und funktionelle Modulation biologischer aktiver Moleküle [18, 19]. Eine Herabregulierung könnte bei Glaukompatienten auf gestörte protektive autoimmune Prozesse hinweisen. Diese These wird mittlerweile von zahlreichen Forschungsgruppen, auch bei anderen neurodegenerativen Erkrankungen, vertreten, und vermutet ein Ungleichgewicht im physiologischen Gleichgewicht der Autoantikörper. So konnten wir nachweisen, dass das Serum und die verändert vorkommen-

den Autoantikörper von Glaukompatienten *in vitro* Einfluss auf zellregulatorische Proteine nehmen [27]. Entgegengesetzt scheinen einige der beim Glaukom erniedrigt vorkommenden Autoantikörper (z. B. gegen 14-3-3) protektiv auf neuroretinale Zellen zu wirken und deren Toleranz gegenüber Stressfaktoren zu erhöhen [28]. Es wäre denkbar, dass diese beim Glaukom herunter regulierten Antikörper langfristig zu einer Abschwächung der natürlichen protektiven Autoimmunität führen und dadurch zu einer erhöhten Vulnerabilität der Zielzellen der Erkrankung gegen weitere Stressfaktoren (zusammengefasst in [10, 11]).

Von erheblicher Bedeutung ist die Tatsache, dass es uns in einer kürzlich veröffentlichten Studie möglich war, das Serum von Glaukompatienten mittels spezifischer Autoantikörperprofile zu identifizieren [29]. Hierzu wurde ein Protein-Mikroarray-Ansatz verwendet, um Veränderungen der Antikörperreaktivitäten (z. B. Antikörper gegen HSP27, MBP, GFAP oder β -L-Krystallin, etc.) im Kammerwasser und der korrespondierenden Serumproben von POWG Patienten zu Gesunden zu vergleichen. Der intraindividuelle Vergleich von Kammerwasser und Serum ergab eine hohe Korrelation der Antikörperreaktivitäten in beiden Körperflüssigkeiten, wobei die Analyse des Serums einen entscheidenden Vorteil hat, denn eine Blutentnahme kann routinemäßige, einfach und schnell durchgeführt werden und ergibt zudem größere Mengen an Probenmaterial. Das Ergebnis verdeutlicht, dass sich die Antikörper-basierenden immunologischen Prozesse einer okularen Flüssigkeit, wie dem Kammerwasser, welche in Kontakt mit der Retina – dem Ort der Glaukompathogenese – steht, nur geringfügig von systemischen Immunreaktivitäten im Serum unterscheiden. Mittels der spezifischen Autoantikörpermuster war es uns möglich das Serum von Glaukompatienten mit einer Spezifität und Sensitivität von annähernd 93% zu detektieren [29]. Die Sensitivität zeigt den Anteil an tatsächlich Kranken, bei denen das Glaukom anhand der spezifischen Autoantikörpermuster erkannt wurde. Die hohe Spezifität bedeutet, dass nur eine sehr geringe Zahl falsch-positiver Ergebnisse erwartet wird, d. h. dass ein auf Autoantikörpern aufbauender Test einen sehr hohen positiven prädiktiven Wert hat und ein positives Testergebnis mit hoher Wahrscheinlichkeit anzeigt, dass der Patient ein Glaukom hat und einer medizinischen Versorgung bedarf.

Ogleich die veränderten Autoantikörper ursächlich sind, oder epiphänomenal in Folge der Glaukomerkrankung gebildet werden, könnten die individuellen Antikörperprofile so künftig als hoch spezifische und sensitive Biomarker zur Diagnostik zum Einsatz kommen (**Abbildung 2**).

LITERATUR

1. Quigley H.A., Broman A.T.: The number of people with glaucoma worldwide in 2010 and 2020. *Br J Ophthalmol* 2006, 90: 262–267.
2. Dielemans I., Vingerling J.R., Wolfs R.C., Hofman A., Grobbee D.E., de Jong P.T.: The prevalence of primary open-angle glaucoma in a population-based study in The Netherlands. The Rotterdam Study. *Ophthalmology* 1994, 101: 1851–1855.
3. Klein B.E., Klein R., Sponsel W.E., Franke T., Cantor L.B., Martone J., Menage M.J.: Prevalence of glaucoma. The Beaver Dam Eye Study. *Ophthalmology* 1992, 99: 1499–1504.
4. Tielsch J.M., Sommer A., Katz J., Royall R.M., Quigley H.A., Javitt J.: Racial variations in the prevalence of primary open-angle glaucoma. The Baltimore Eye Survey. *Jama* 1991, 266: 369–374.
5. Rudnicka A.R., Mi-Isa S., Owen C.G., Cook D.G., Ashby D.: Variations in primary open-angle glaucoma prevalence by age, gender, and race: a Bayesian meta-analysis. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2006, 47: 4254–4261.
6. EGS: Terminology and guidelines for glaucoma. www.eugs.org 2006, 11nd edition.
7. Kass M.A., Heuer D.K., Higginbotham E.J., Johnson C.A., Keltner J.L., Miller J.P., Parrish R.K., 2nd, Wilson M.R., Gordon M.O.: The Ocular Hypertension Treatment Study: a randomized trial determines that topical ocular hypotensive medication delays or prevents the onset of primary open-angle glaucoma. *Arch Ophthalmol* 2002, 120: 701–713; discussion 829–730.
8. Tezel G., Yang X., Luo C., Kain A.D., Powell D.W., Kuehn M.H., Kaplan H.J.: Oxidative stress and the regulation of complement activation in human glaucoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2010, 51: 5071–5082.
9. Yanagi M., Kawasaki R., Wang J.J., Wong T.Y., Crowston J., Kiuchi Y.: Vascular risk factors in glaucoma: a review. *Clin Experiment Ophthalmol* 2011, 39: 252–258.
10. Bell K., Gramlich O.W., Von Thun Und Hohenstein-Blaul N., Beck S., Funke S., Wilding C., Pfeiffer N., Grus F.H.: Does autoimmunity play a part in the pathogenesis of glaucoma? *Prog Retin Eye Res* 2013.
11. Gramlich O.W., Bell K., von Thun Und Hohenstein-Blaul N., Wilding C., Beck S., Pfeiffer N., Grus F.H.: Autoimmune biomarkers in glaucoma patients. *Curr Opin Pharmacol* 2013, 13: 90–97.
12. Grus F.H., Joachim S.C., Hoffmann E.M., Pfeiffer N.: Complex autoantibody repertoires in patients with glaucoma. *Mol Vis* 2004, 10: 132–137.
13. Joachim S.C., Grus F.H., Pfeiffer N.: Analysis of autoantibody repertoires in sera of patients with glaucoma. *Eur J Ophthalmol* 2003, 13: 752–758.
14. Joachim S.C., Pfeiffer N., Grus F.H.: Autoantibodies in patients with glaucoma: a comparison of IgG serum antibodies against retinal, optic nerve, and optic nerve head antigens. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2005, 243: 817–823.
15. Joachim S.C., Reichelt J., Berneiser S., Pfeiffer N., Grus F.H.: Sera of glaucoma patients show autoantibodies against myelin basic protein and complex autoantibody profiles against human optic nerve antigens. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2008, 246: 573–580.
16. Joachim S.C., Wuenschig D., Pfeiffer N., Grus F.H.: IgG antibody patterns in aqueous humor of patients with primary open angle glaucoma and pseudoexfoliation glaucoma. *Mol Vis* 2007, 13: 1573–1579.
17. Grus F.H., Joachim S.C., Bruns K., Lackner K.J., Pfeiffer N., Wax M.B.: Serum autoantibodies to alpha-fodrin are present in glaucoma patients from Germany and the United States. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2006, 47: 968–976.
18. Poletaev A., Osipenko L.: General network of natural autoantibodies as immunological homunculus (Immunoculus). *Autoimmun Rev* 2003, 2: 264–271.
19. Coutinho A., Kazatchkine M.D., Avrameas S.: Natural autoantibodies. *Curr Opin Immunol* 1995, 7: 812–818.
20. Wax M.B., Barrett D.A., Pestronk A.: Increased incidence of paraproteinemia and autoantibodies in patients with normal-pressure glaucoma. *Am J Ophthalmol* 1994, 117: 561–568.
21. Joachim S.C., Bruns K., Lackner K.J., Pfeiffer N., Grus F.H.: Antibodies to alpha B-Crystallin, Vimentin, and Heat Shock Protein 70 in Aqueous Humor of Patients with Normal Tension Glaucoma and IgG Antibody Patterns Against Retinal Antigen in Aqueous Humor. *Curr Eye Res* 2007, 32: 501–509.
22. Tezel G., Seigel G.M., Wax M.B.: Autoantibodies to small heat shock proteins in glaucoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1998, 39: 2277–2287.
23. Gramlich O.W., Beck S., von Thun Und Hohenstein-Blaul N., Boehm N., Ziegler A., Vetter J.M., Pfeiffer N., Grus F.H.: Enhanced insight into the autoimmune component of glaucoma: IgG autoantibody accumulation and pro-inflammatory conditions in human glaucomatous retina. *PLoS One* 2013, 8: e57557.
24. Joachim S.C., Gramlich O.W., Laspas P., Schmid H., Beck S., von Pein H.D., Dick H.B., Pfeiffer N., Grus F.H.: Retinal ganglion cell loss is accompanied by antibody depositions and increased levels of microglia after immunization with retinal antigens. *PLoS One* 2012, 7: e40616.
25. Laspas P., Gramlich O.W., Muller H.D., Cuny C.S., Gottschling P.F., Pfeiffer N., Dick H.B., Joachim S.C., Grus F.H.: Autoreactive antibodies and loss of retinal ganglion cells in rats induced by immunization with ocular antigens. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2011, 52: 8835–8848.
26. Joachim S.C., Wax M.B., Seidel P., Pfeiffer N., Grus F.H.: Enhanced characterization of serum autoantibody reactivity following HSP 60 immunization in a rat model of experimental autoimmune glaucoma. *Curr Eye Res* 2010, 35: 900–908.
27. Bell K., Funke S., Pfeiffer N., Grus F.H.: Serum and antibodies of glaucoma patients lead to changes in the proteome, especially cell regulatory proteins, in retinal cells. *PLoS One* 2012, 7: e46910.
28. Bell K., Wilding C., Pfeiffer N., Grus F.H.: Down Regulation Of 14-3-3 Ab In Glaucoma Patients Could Lead To Loss Of Protective Effects. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 2012, 53: 6592.
29. Boehm N., Wolters D., Thiel U., Lossbrand U., Wiegand N., Pfeiffer N., Grus F.H.: New insights into autoantibody profiles from immune privileged sites in the eye: A glaucoma study. *Brain Behav Immun* 2012, 26: 96–102.



Prof. Dr. Dr. Franz H. Grus ist Leiter der »Experimentellen und Translationalen Ophthalmologie« an der Augenlinik der Universitätsmedizin der Johannes Gutenberg Universität Mainz (Direktor: Prof. Dr. Norbert Pfeiffer). Er studierte Biologie und Humanmedizin an der RWTH Aachen und promovierte dort zum Dr. rer. nat. und zum Dr. med. Anschließend übte Herr Prof. Dr. Dr. Grus eine Tätigkeit als wissenschaftlicher Mitarbeiter an der Augenlinik der Universität Bonn und an der Augenlinik in Mainz aus. Dort wurde er habilitiert und erhielt die *venia legendi* in »Experimenteller Ophthalmologie«. Seitdem leitet er die Experimentelle und Translationale Ophthalmologie an der Universitäts-Augenklinik Mainz. Seine Forschungsschwerpunkte liegen in der Analyse von Tränenflüssigkeit, Kammerwasser und Serum mittels modernster proteomischer Methoden zwecks Biomarker-Detektion bei verschiedenen okulären Erkrankungen wie z.B. dem Glaukom, AMD oder dem Trockenen Augen. Zudem wird die Grundlagenforschung mittels verschiedener Tiermodelle und Zellkulturexperimenten vertieft.

FÖRDERUNGEN UND AUSZEICHNUNGEN

Prof. Dr. Dr. Grus wurde 2002 durch eine Forschungsförderung der AG »Trockenes Auge« der DOG unterstützt. Die Ergebnisse seiner wissenschaftlichen Arbeit wurden 2005 mit einem Forschungspreis der DOG für herausragende Leistungen in der Augenheilkunde gestiftet von der Kröner Stiftung prämiert. Im Jahre 2008 erhielt Prof. Dr. Dr. Grus eine Forschungsförderung der DOG für innovative wissenschaftliche Projekte in der Augenheilkunde. Weiterhin werden und wurden seine Projekte von der Deutschen Forschungsgemeinschaft, der Landesstiftung Rheinland-Pfalz für Innovation, der Europäischen Kommission, dem Mainzer Forschungsförderungsprogramm MAIFOR, dem Forschungsschwerpunkt Translationale Neurowissenschaften (FTN), der inneruniversitären Forschungsförderung der Universität Mainz, der Boehringer Ingelheim Stiftung und der Glaucoma Foundation unterstützt.

Herr Prof. Dr. Dr. Grus ist Gutachter zahlreicher internationaler wissenschaftlicher Zeitschriften und Mitglied zahlreicher wissenschaftlicher Gesellschaften.

KONTAKT



Prof. Dr. Dr. Franz H. Grus

Leiter der Experimentellen
und Translationalen Ophthalmologie
Augenklinik der Universitätsmedizin Mainz
Langenbeckstraße 1
55131 Mainz
Telefon: 06131 173328
Telefax: 06131 175566
E-Mail: grus@eye-research.org

Monofokal
Bifokal
Trifokal

Q progressiv



Rüdiger Dworschak
Geschäftsführender
Gesellschafter
1stQ Deutschland

Optimales
Natürliches
Sehen

in die Ferne

∞

Intermediär

60 cm

in der Nähe

30 cm



Endokrine Orbitopathie – neues aus Labor und OP Saal

PRIV.-DOZ. DR. RER. NAT. UTTA BERCHNER-PFANNSCHMIDT¹,
PROF. DR. MED. JOACHIM ESSER² UND PROF. DR. MED. ANJA ECKSTEIN²

1 Labor für Molekulare Ophthalmologie
Universitätsklinikum
Essen

2 Zentrum für Augenheilkunde
Universitätsklinikum
Essen

Endokrine Orbitopathie (EO) ist eine entzündliche Orbitaerkrankung, die meist zusammen mit einer Autoimmunthyreopathie vom Typ Basedow auftritt und charakterisiert ist durch Entzündung, Umbau und Ausdehnung des retrokularen Binde- und Muskelgewebes. Aufgrund des limitierten Volumens der knöchernen Orbita können diese Veränderungen neben der Entzündung zu Proptosis, Fehlfunktion der extraokularen Muskeln, und in schweren Fällen zur Kompression des Sehnerv führen. Da Prävalenz, Schweregrad und Verlauf einer EO mit den TRAK (TSH-Rezeptor-Antikörper) Titer im Serum der Patienten korrelieren [Khoo, Ho et al. 1999; Schott, Morgenthaler et al. 2004; Eckstein, Plicht et al. 2006], liegt es nahe, dass die Autoimmunreaktion gegen den TSH-Rezeptor (TSHR) auch eine Rolle für die Pathogenese der EO spielt. Dies ist wahrscheinlich dadurch bedingt, dass TRAK einen stimulatorischen Effekt auf orbitale Fibroblasten (OFs) haben. Stimulation der OFs mit IgG der Patienten oder monoklonalen TRAK regt OFs zu verstärkter Proliferation, Hyaluronsäurebildung (HAS), Adipogenese und Bildung von Entzündungsmediatoren an [Smith and Hoa 2004; Holmes, Hatt et al. 2012]. Nach neueren Erkenntnissen könnten auch IGF-1 Rezeptor Antikörper bzw. der IGF-1 Rezeptor eine

Rolle spielen, denn die Adipogenese der OFs ist auch mit IGF-1 stimulierbar [Eckstein and Esser 2011; Holmes, Hatt et al. 2012]. Des Weiteren spielt die Interaktion der OFs mit Immunzellen eine wichtige Rolle. Interaktion mit T-Lymphozyten via CD40 Rezeptor kann OFs sowohl zu einer verstärkten Bildung von Entzündungsmediatoren und HAS als auch zu Adipogenese anregen [Feldon, Park et al. 2005; Feldon, O'Loughlin C. et al. 2006]. Außerdem wird das orbitale Gewebe von Patienten verstärkt von Monocyten infiltriert, die als Gewebemakrophagen Zytokine produzieren, die in jedem Stadium der Erkrankung zum Entzündungsgeschehen beitragen [Kumar and Bahn 2003; Hwang, Afifiyan et al. 2009].

Da im Frühstadium einer EO kein Orbitagewebe zur Verfügung steht, werden Tiermodelle eingesetzt um die komplexe Pathogenese einer EO zu untersuchen. Im Mausmodell können nach adenoviraler Immunisierung mit TSHR oder mittels TSHR kodierendem Plasmid eine Schilddrüsen-autoimmunreaktion erzeugt werden (teilweise auch eine Hyperthyreose) und TRAK nachgewiesen werden [Nakahara et al., 2012, Johnson et al., 2013]. Das Vollbild einer EO konnte nun erstmals auch induziert werden [Moshkelgosha et al. 2013].

Entzündung im retrobulbären Fettgewebe im Mausmodell

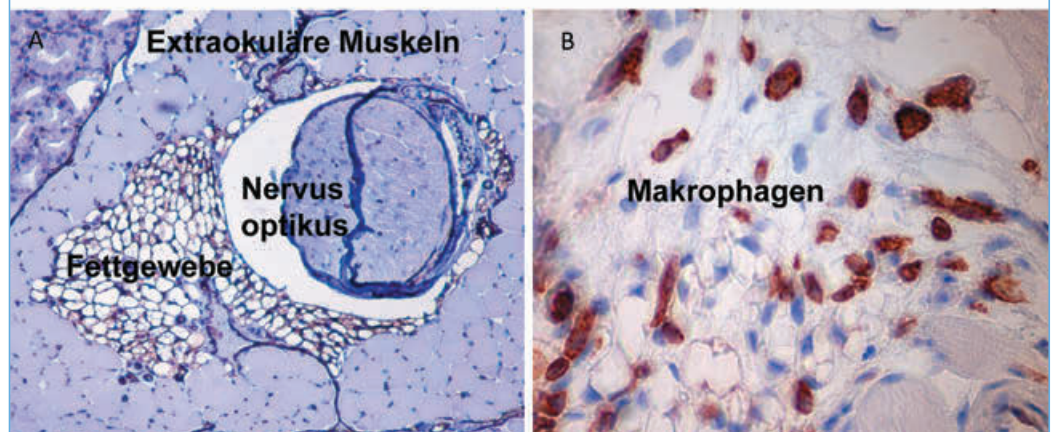
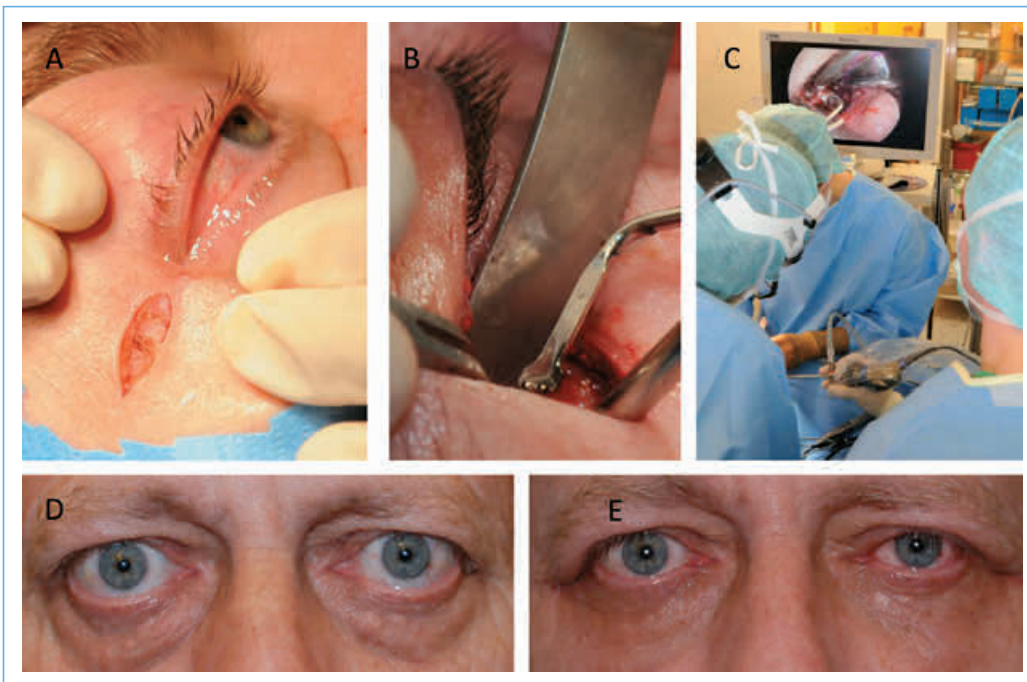


Abbildung 1
■ Mikroskopische Aufnahme eines Querschnitts der Mausorbita (A) und eines entzündlichen Infiltrates von Makrophagen (braune Anfärbung) im orbitalen Fettgewebe (B).

**Abbildung 2**

■ Orbitadekompression – balanciert, minimal invasiv:
 A) kleiner Zugang in einer Hautfalte.
 B) atraumatische Abtragung des Knochens unter Nutzung der Piezo Surgery.
 C) Nutzung der endoskopischen Technik zum besseren Einblick auf das OP Feld auch lateral.
 D) Patientenbeispiel präoperativ.
 E) Patientenbeispiel postoperativ.

Histologisch nachweisbar waren bisher lediglich Infiltrate von Makrophagen in den Orbitae einiger Mäuse [Nakahara, Johnson et al. 2012]. Diese befinden sich bei der Maus im retrobulbären Fettgewebe (**Abbildung 1**), welches neben weißem auch kleinvakuoläres, braunes TSHR positives Fettgewebe aufweist [Johnson, Wiesweg et al. 2013; Wiesweg, Johnson et al. 2013].

Es bleibt weiterhin unklar, wie es zu der außerordentlich heterogenen klinischen Ausprägung einer EO kommt, insbesondere warum einige EO-Patienten eher eine Muskelfibrose andere jedoch eine Fettvolumenvergrößerung oder mehr Entzündungszeichen zeigen. Neuere Untersuchungen belegen, dass eine individuelle Heterogenität der OFs in der Orbita mitverantwortlich für die jeweilige Ausprägung des klinischen Phänotyps sein könnte. Während gesunde Personen fast nur CD34- OF in orbitalem Bindegewebe haben, enthält das Bindegewebe von EO Patienten neben CD34- auch reichlich CD34+ OFs. Da im Blut von EO Patienten neben CD34- Fibrocyten auch vermehrt CD34+ Fibrocyten nachgewiesen wurden, wird vermutet, dass es sich bei den CD34+ Fibrocyten um aus dem Knochenmark stammenden Vorläuferzellen der CD34+ OF handelt [Douglas, Affifyan et al. 2010; Gillespie, Papageorgiou et al. 2012]. Weiterhin konnte gezeigt werden, dass sich OF von EO Patienten in zwei unterschiedliche mesenchymale Abstammungslinien differenzieren können [Smith 2002]. Dabei zeigt sich, dass ein Teil der OFs von EO Patienten CD90- sind und sich bei Stimulation mit PPAR γ Agonisten zu Adipocyten differenzieren und zur Produktion von Zytokin IL-8 anregen lassen, welches das Einwandern von Immunzellen in die Orbita fördert. Dieser

Subtyp scheint somit vorrangig für die gesteigerte Adipogenese und für die Entzündungsbereitschaft der OF von EO Patienten im Frühstadium verantwortlich zu sein. Hingegen lassen sich CD90+ OFs durch Stimulation mit TGF- β (Transforming Growth Factor-1) leicht zu Myofibroblasten differenzieren, die verstärkt HAS produzieren, und somit zur Muskelfibrose beitragen. Außerdem lassen sich CD90+ OFs zur Produktion von Prostaglandin PGE $_2$ anregen, das zu den Entzündungsprozessen im Spätstadium (TH $_2$ /Typ $_2$ der Immunantwort) der Erkrankung beitragen könnte [Smith 2002]. Zudem konnte gezeigt werden, dass sich die OFs von Patienten von den OF gesunder Kontrollpersonen im nicht stimulierten Zustand auch im Hinblick auf ihren Stoffwechsel deutlich unterscheiden. Die EO-OFs proliferieren stärker, produzieren mehr HA und setzen mehr reaktive Sauerstoffspezies (ROS) frei. Als Ursache für diese konstitutiven Unterschiede konnte eine verstärkte Phosphorylierung des Clathrins identifiziert werden [Meyer zu Horste, Stroher et al. 2011]. Diese könnte eine gesteigerte Clathrin vermittelte Internalisierung von Rezeptoren bewirken und somit Signalketten initiieren oder verstärken, die letztlich zu der gesteigerten Stoffwechselaktivität führen. Hinzu kommt, dass die Aktivierung des TSHR Rezeptors durch TSH oder verschiedene TSHR-Antikörper Subtypen (stimulierend, blockierend oder neutral) eine Aktivierung verschiedener Signalketten zur Folge haben kann [Morshed, Latif et al. 2009], die entweder zu einer gesteigerten Proliferation, HAS Bildung oder Adipogenese der OF führen könnten (Holmes, Hatt et al. 2012; Kumar, Iyer et al. 2012). Bei der komplexen Pathogenese einer EO können also vielschichtige Mechanismen involviert sein.

Abbildung 3

■ Große Muskelrücklagerungen unter Erhaltung der Abrollstrecke durch Nutzung von Implantaten:
 A) Fixation eines Tutopatch® Interponates am Ansatz Musculus rectus inferior.
 B) Insertion des Implantates an der Sklera.
 C) Patientenbeispiel vor Schiel und Orbitadekompression.
 D) gleiche Patientin nach Orbitadekompression und anschließender M. rectus inferior Sehnenverlängerung 13 mm.



Neben der Heterogenität der OFs können sowohl Antikörper-Subtypen als auch Aktivierung verschiedener Rezeptoren und Signalketten eine wichtige Rolle bei der klinischen Ausprägung einer EO spielen.

Für die klinische Beurteilung und Therapieentscheidungen spielen die Anti-TSHR-Antikörper eine ebenso entscheidende Rolle. Eine Prognoseabschätzung der Hyperthyreose im Verlauf der thyreostatischen Therapie ist anhand der TRAK Spiegel (frühestens nach 6 Monaten) möglich, so dass eine Operation bzw. Radiojodtherapie bei einem Teil der Patienten ohne Auslassversuch empfohlen werden kann. Mittels der TRAK-Bestimmung auf der Basis eines Assays mindestens der zweiten Generation kann auch der Verlauf der EO abgeschätzt werden, wodurch Dosis und Dauer der antientzündlichen Therapie beeinflusst werden (Eckstein, Mann et al. 2009).

Ungeachtet aller grundlagenwissenschaftlichen Erkenntnisse liegen die wesentlichen Maßnahmen für Patienten, die an einer EO erkrankt sind, auf chirurgischem Gebiet, weil man durch eine antientzündliche Therapie zwar eine Inaktivierung aber keine anatomische und funktionelle Heilung erreichen kann [Eckstein, Schittkowski et al. 2012]. Vernarbung der Muskeln (Doppelbilder) und

vorgetretene Augen bleiben. Die chirurgischen Techniken haben sich signifikant weiterentwickelt. Orbitadekompression können in den allermeisten Fällen minimal invasiv durchgeführt werden und auch für die Dekompression der lateralen Wand wird inzwischen die endoskopische Technik eingesetzt (**Abbildung 2**) [Mattheis, Eckstein et al. 2013]. Während früher die Orbitadekompression im Wesentlichen bei Patienten mit Optikuskompression indiziert wurde, steht heute als Indikation der störende Exophthalmus im Vordergrund. Dadurch ist die Anzahl der Eingriffe deutlich gestiegen. Bei Schieloperationen kann durch die Nutzung von Implantaten die Einmuskelschirurgie auch für große Schielwinkel angewendet werden (**Abbildung 3**) [Esser and Eckstein 2011]. Daraus resultiert eine bessere Augenbeweglichkeit durch Erhalt der Abrollstrecke der Muskeln und die Korrektur von horizontalen und vertikalen Abweichungen an einem Auge. Bei kleinen Schielwinkeln wurde das Prinzip der Gegenparese auch für Patienten mit einer EO eingeführt [Eckstein and Esser 2013]. Die neuen operativen Konzepte führten zu einer signifikanten Steigerung der Lebensqualität der Patienten.

LITERATUR

1. Douglas, R.S., N.F. Afifiyan, et al. (2010). »Increased generation of fibrocytes in thyroid-associated ophthalmopathy.« *J Clin Endocrinol Metab* 95 (1): 430–438.
2. Eckstein, A. and J. Esser (2013). »Inferior Oblique Recession in Grave's Orbitopathy.« Singapore National Eye Centre (SNEC) and AAPOS Joint Meeting.
3. Eckstein, A., K. Mann, et al. (2009). »[Role of TSH receptor autoantibodies for the diagnosis of Graves' disease and for the prediction of the course of hyperthyroidism and ophthalmopathy. Recommendations of the Thyroid Section of the German Society of Endocrinology].« *Med Klin (Munich)* 104 (5): 343–348.
4. Eckstein, A., M. Schittkowski, et al. (2012). »Surgical treatment of Graves' ophthalmopathy.« *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 26 (3): 339–358.
5. Eckstein, A.K., M. Plicht, et al. (2006). »Thyrotropin receptor autoantibodies are independent risk factors for Graves' ophthalmopathy and help to predict severity and outcome of the disease.« *J Clin Endocrinol Metab* 91 (9): 3464–3470.
6. Esser, J. and A. Eckstein (2011). »Inferior rectus muscle tendon elongation for the correction of large convergent squint in patients with Graves Orbitopathy.« *Klin Monatsbl Augenheilkd* 228: 880–886.
7. Feldon, S.E., W. O'Loughlin C, et al. (2006). »Activated human T lymphocytes express cyclooxygenase-2 and produce proadipogenic prostaglandins that drive human orbital fibroblast differentiation to adipocytes.« *Am J Pathol* 169 (4): 1183–1193.
8. Feldon, S.E., D.J. Park, et al. (2005). »Autologous T-lymphocytes stimulate proliferation of orbital fibroblasts derived from patients with Graves' ophthalmopathy.« *Invest Ophthalmol Vis Sci* 46(11): 3913-3921.
9. Gillespie, E. F., K. I. Papageorgiou, et al. (2012). »Increased expression of TSH receptor by fibrocytes in thyroid-associated ophthalmopathy leads to chemokine production.« *J Clin Endocrinol Metab* 97 (5): E740–746.
10. Holmes, J.M., S.R. Hatt, et al. (2012). »Identifying masked superior oblique involvement in thyroid eye disease to avoid postoperative A-pattern exotropia and intorsion.« *Journal of AAPOS : the official publication of the American Association for Pediatric Ophthalmology and Strabismus / American Association for Pediatric Ophthalmology and Strabismus* 16 (3): 280–285.
11. Hwang, C.J., N. Afifiyan, et al. (2009). »Orbital fibroblasts from patients with thyroid-associated ophthalmopathy overexpress CD40: CD154 hyperinduces IL-6, IL-8, and MCP-1.« *Invest Ophthalmol Vis Sci* 50 (5): 2262–2268.
12. Johnson, K.T., B. Wiesweg, et al. (2013). »Examination of Orbital Tissues in Murine Models of Graves' Disease Reveals Expression of UCP-1 and the TSHR in Retrobulbar Adipose Tissues.« *Horm Metab Res* 45 (6): 401–407.
13. Khoo, D.H., S.C. Ho, et al. (1999). »The combination of absent thyroid peroxidase antibodies and high thyroid-stimulating immunoglobulin levels in Graves' disease identifies a group at markedly increased risk of ophthalmopathy.« *Thyroid* 9 (12): 1175–1180.
14. Kumar, S. and R.S. Bahn (2003). »Relative overexpression of macrophage-derived cytokines in orbital adipose tissue from patients with graves' ophthalmopathy.« *J Clin Endocrinol Metab* 88 (9): 4246–4250.
15. Kumar, S., S. Iyer, et al. (2012). »A stimulatory thyrotropin receptor antibody enhances hyaluronic acid synthesis in graves' orbital fibroblasts: inhibition by an IGF-I receptor blocking antibody.« *J Clin Endocrinol Metab* 97 (5): 1681–1687.
16. Mattheis, S., A. Eckstein, et al. (2013). »The endoscopic balanced orbital decompression.« 2nd Meeting of European Academy of ORL-HNS and CE ORL-HNS.
17. Meyer zu Horste, M., E. Stroher, et al. (2011). »A novel mechanism involved in the pathogenesis of Graves ophthalmopathy (GO): clathrin is a possible targeting molecule for inhibiting local immune response in the orbit.« *The Journal of clinical endocrinology and metabolism* 96 (11): E1727–1736.
18. Moshkelgosha S., So P.W., Deasy N., Diaz-Cano S., Banga J.P., »Cutting Edge: Retrobulbar Inflammation, Adipogenesis, and Acute Orbital Congestion in a Preclinical Female Mouse Model of Graves' Orbitopathy Induced by Thyrotropin Receptor Plasmid-in Vivo Electroporation.« *Endocrinology*, 2013 Jul 30. (Epub ahead of print).
19. Morshed, S.A., R. Latif, et al. (2009). »Characterization of thyrotropin receptor antibody-induced signaling cascades.« *Endocrinology* 150 (1): 519–529.
20. Nakahara, M., K.T.M. Johnson, et al. (2012). »Adoptive Transfer of Anti-Thyrotropin Receptor (TSHR) Autoimmunity from TSHR Knockout Mice to Athymic Nude Mice.« *Endocrinology* accepted.
21. Schott, M., N.G. Morgenthaler, et al. (2004). »Levels of autoantibodies against human TSH receptor predict relapse of hyperthyroidism in Graves' disease.« *Horm Metab Res* 36 (2): 92–96.
22. Smith, T.J. (2002). »Orbital fibroblasts exhibit a novel pattern of responses to proinflammatory cytokines: potential basis for the pathogenesis of thyroid-associated ophthalmopathy.« *Thyroid* 12 (3): 197–203.
23. Smith, T.J. and N. Hoa (2004). »Immunoglobulins from patients with Graves' disease induce hyaluronan synthesis in their orbital fibroblasts through the self-antigen, insulin-like growth factor-I receptor.« *J Clin Endocrinol Metab* 89 (10): 5076–5080.
24. Wiesweg, B., K.T. Johnson, et al. (2013). »Current insights into animal models of graves' disease and orbitopathy.« *Horm Metab Res* 45 (8): 549–555.



Priv.-Doz. Dr. rer. nat. Utta Berchner-Pfannschmidt ist Leiterin des Labors für Molekulare Ophthalmologie des Zentrums für Augenheilkunde/Vorderer Augenabschnitt des Universitätsklinikums Essen (Direktor: Prof. Dr. med. Klaus-Peter Steuhl). Nach der Schulausbildung am Carl-Duisberg-Gymnasium Wuppertal studierte sie Biologie an der Ruhr-Universität Bochum und promovierte dort 1999. Anschließend arbeitete sie als Wissenschaftlerin am Max-Planck Institut für Molekulare Physiologie in Dortmund und am Institut für Physiologie des Universitätsklinikums Essen. Dort

wurde sie 2010 habilitiert und erhielt die *venia legendi* für das Fach Physiologie. Seit 2010 leitet sie am Universitätsklinikum Essen das grundlagenwissenschaftliche Labor der Augenklinik mit Fokus auf die Erforschung der molekularen Ursachen der Endokrinen Orbitopathie.

FÖRDERUNGEN UND AUSZEICHNUNGEN

Dr. Berchner-Pfannschmidt erhielt ein Promotionsstipendium aus der Wilhelm und Günther Esser-Stiftung der Ruhr-Universität Bochum. Für ihre Arbeiten am Max-Planck-Institut Dortmund und Universitätsklinikum Essens erhielt sie 2004 den Wyeth Förderpreis in der Biomedizin. Ihre Arbeiten wurden durch die Interne Forschungsförderung der Universität Duisburg-Essen (IFORES) gefördert und ein Austauschprogramm NRWs mit Schweden in der Biomedizin ermöglichte ihr 2005 einen mehrmonatigen Forschungsaufenthalt am Karolinska Institut in Stockholm. Ihre Projekte werden seit 2006 von der Deutschen Forschungsgemeinschaft gefördert. 2013 erhielt sie eine Anschubfinanzierung von der Deutschen Gesellschaft für Ophthalmologie.

KONTAKT



Priv.-Doz. Dr. rer. nat. Utta Berchner-Pfannschmidt

Leiterin des
Labor für Molekulare Ophthalmologie
Universitätsklinikum Essen
Hufelandstraße 55
45122 Essen
Telefon: 0201 7236028
Telefax: 0201 7236990
E-Mail:
utta.berchner-pfannschmidt@uk-essen.de



Prof. Dr. med. Anja Eckstein ist Oberärztin am Zentrum für Augenheilkunde Universität Duisburg Essen, Klinik für Erkrankungen des vorderen Augenabschnittes (Direktor: Prof. Dr. med. Klaus-Peter Steuhl) mit Spezialisierung auf dem Gebiet: Strabologie, Neuroophthalmologie und Okuloplastik. Ihr Medizinstudium absolvierte Sie an der Universität Leipzig und an der Ludwig Maximilians Universität München. Die Facharzt Ausbildung absolvierte Sie am Moorfields Eye Hospital in London und an der Universitäts-Augenklinik in Tübingen und promovierte dort 1993. Im letzten Jahr der Facharzt Ausbildung wechselte Sie an die Universitäts Augenklinik nach Essen. Die Facharztprüfung erfolgte 1996, die Habilitation

2005 und seit 2009 ist sie APL Professorin an der Klinik. Das wissenschaftliche Arbeitsgebiet ist die Untersuchung der entzündlichen Signaltransduktion im Bindegewebe der Orbita bei der Endokrinen Orbitopathie und klinisch liegt das Spezialgebiet auf der Wiederherstellungschirurgie bei Patienten mit dieser Erkrankung.

FÖRDERUNGEN UND AUSZEICHNUNGEN

Die Facharzt Ausbildung am Moorfields Eye Institut wurde mit einem Stipendium des DAAD gefördert. Die langjährige Forschung auf dem Gebiet der Biomarker für die Endokrinen Orbitopathie erfolgte im Rahmen einer Industriekooperation (Bioassays, BRAHMS GmbH). Die interne Forschungsförderung der Universität Duisburg-Essen (IFORES) förderte den Aufbau des grundlagenwissenschaftlichen Labors mit Orbitafibroblastenzellkultur. Arbeiten zum Zusammenhang zwischen Entzündung und Tumorgenese bei MALT Lymphomen der Orbita werden aktuell von der Jackstädt-Stiftung gefördert. 2009 erhielt sie den Wissenschaftspreis der Bielschowsky Gesellschaft

KONTAKT



Prof. Dr. med. Anja Eckstein

Zentrum für Augenheilkunde
Universitätsklinikum Essen
45122 Essen
Telefon: 0201 7232907
Telefax: 0201 7235641
E-Mail: anja.eckstein@uk-essen.de

Wer fördert was?



FÖRDERINSTITUTIONEN UND
-PROGRAMME, FORSCHUNGSSTIPENDIEN
UND WISSENSCHAFTSPREISE

560 Seiten · A5
19,90 EUR
ISBN 978-3-9815271-0-0

Konzeption, Redaktion, Texte:
Dr. Dieter Herrmann und
Dr. K. P. Christian Spath

Geleitwort:
Prof. Dr. Andreas Schlüter
Generalsekretär des Stifterverbands
für die Deutsche Wissenschaft

Handbuch Drittmittelförderung 2013-2014

Drittmittel spielen in Wissenschaft und Forschung eine zentrale Rolle. Die ALPHA Informationsgesellschaft hat auf 560 Seiten die aktualisierte Dokumentation aller Fördermöglichkeiten für Wissenschaft und Forschung für 2013-2014 herausgegeben. Experten mit jahrzehntelanger Erfahrung in der staatlichen und außeruniversitären Forschungsverwaltung haben ein umfassendes Nachschlagewerk erstellt, das alle Förderquellen aufzeigt und für jede Art von Antragsstellung und Bewerbung wichtige Ratschläge gibt.

Es gibt in Deutschland eine Vielzahl von Förderprogrammen, die sich an den wissenschaftlichen Nachwuchs (Promotions-, Postdoc- und Habilitationsstipendien), an Frauen in der Wissenschaft (z.B. Wiedereinstiegsstipendien), an etablierte Wissenschaftler/innen (z.B. Forschungsaufenthalte im Ausland) oder an wissenschaftliche Institutionen (z.B. Stiftungsprofessuren) wenden. Die Spannbreite reicht von europäischen Förderprogrammen und nationalen Förderinstitutionen bis hin zu vielen privaten Stiftungen. Darüber hinaus gibt es mehrere hundert staatliche und private Förderer, die Mittel bereitstellen für ein geplantes Forschungsprojekt oder für die Zusatzausstattung eines bereits laufenden Vorhabens, für Fachkongresse, Symposien und Workshops, den Aufbau einer Forschergruppe oder einer internationalen Forschungs-kooperation, für Druckkosten oder digitale Publikation, für Gastprofessuren oder die Einladung eines ausländischen Kollegen.

Alle Fördermöglichkeiten zu kennen ist das eine, sie auch erfolgreich zu nutzen das andere. Deshalb enthält der Ratgeber zahlreiche Kapitel über die optimale Antragsgestaltung, Musterverträge für die Wissenschaft und über Besonderheiten bei der Antragsstellung für europäische Förderprogramme, aber auch über die Möglichkeiten des Sponsorings, über Patente und Lizenzverwertung. Zur wissenschaftlichen Karriere gehören auch Wissenschaftspreise und Forschungsstipendien. Auch hier beschränkt sich das Buch nicht auf die Auflistung der wichtigsten Forschungsstipendien und Wissenschaftspreise, sondern gibt umfassende Hinweise für eine Selbstbewerbung oder eine Nominierung durch Dritte.

Die Recherche für Fördermöglichkeiten wird durch ein Institutionen- und Schlagwortregister erleichtert.

Das Geleitwort hat der Stifterverband für die Deutsche Wissenschaft übernommen.

Der Ratgeber kann zum Preis von 19,90 EUR unter der ISBN-Nummer 978-3-9815271-0-0 über den Buchhandel bezogen werden – oder direkt vom Verlag:

ALPHA Informationsgesellschaft mbH
Susanna Paulin
Finkenstraße 10 · 68623 Lampertheim
Telefon: (0 62 06) 939-210
Telefax: (0 62 06) 939-243
E-Mail: paulin@alphapublic.de

Die Bestimmung der intraokulären Fibrinolyse und deren mögliche therapeutische Bedeutung in Augen mit Störung der Blut-Retina-Schranke

DR. MED. THOMAS BERTELMANN*

* Für die »Intraocular fibrinolysis study group«

Die vitreomakuläre Adhärenz (VMA) und die vitreomakuläre Traktion (VMT) spielen beim Auftreten und der Progressionsgeschwindigkeit verschiedenster vitreoretinaler Erkrankungen eine wichtige Rolle. Die Induktion einer hinteren Glaskörperabhebung (PVD) hingegen kann die pathophysiologischen Vorgänge im vitreoretinalen Interface (VRI) bei einigen dieser Erkrankungen unmittelbar stoppen (Makulaforamen (MH) mit VMT, VMT) [1] bzw. das Auftreten und die Progression deutlich reduzieren (diabetisches Makulaödem (DMÖ) [2, 3], exsudative altersbedingte Makuladegeneration (eAMD) [4, 5], zystoides Makulaödem (ZMÖ) nach retinalem Venenverschluss (RVO) [6, 7].

Stand bisher zur Induktion einer PVD lediglich die Durchführung einer Vitrektomie (ppV) zur Verfügung, haben wir seit Anfang 2013 die Möglichkeit, durch eine einmalige intravitreale Injektionsbehandlung bei Patienten mit MH mit VMT und VMT die hintere Glaskörpergrenzmembran (PVC) von der Lamina limitans interna (ILM) der neurosensorischen Netzhaut enzymatisch abzuheben (Jetrea®, Alcon Pharma) [1]. Im Rahmen der enzymatischen Vitreolyse bewirkt die in den Glaskörperraum injizierte Protease Ocriplasmin®, ein rekombinantes Produkt der katalytischen Domäne des humanen Plasmins, eine Degradation der vitreoretinalen Adhäsionsmoleküle (Proteoglyka-

ne), darunter besonders Laminin und Fibronectin, und führt somit zur kompletten Abhebung der PVC [8] (**Abbildung 1**). Die Vorteile gegenüber einer ppV liegen in der kürzeren Operationsdauer und den geringeren Komplikationsmöglichkeiten (wie z. B. Amotio retinae, Endophthalmitis, intraokuläre Blutungen, Kataraktformation, Narkoserisiko) einerseits aber auch in der Art der PVD bedingt. Während nach der Durchführung einer ppV Reste der PVC auf der ILM verbleiben und konsekutiv zu einer erhöhten VMT führen können, kommt es durch die enzymatisch vermittelte Abhebung zu einer glatten und PVC-freien ILM, wie elektronenmikroskopische und konfokal-mikroskopische Untersuchungen eindrucksvoll zeigen konnten [9].

Auch bei Patienten mit diabetischen Augenveränderungen [2, 3], einer eAMD [4, 5] und einem zystoiden Makulaödem nach RVO [6, 7] spielt der Anheftungsstatus des PVC eine entscheidende Rolle. Diesen vitreoretinalen Erkrankungen ist ein Zusammenbruch der inneren Blut-Retina-Schranke (BRS) gemeinsam, was uns wiederum therapeutische Interventionsoptionen eröffnet [10]. Durch den Zusammenbruch der BRS gelangen verschiedene Proteine und Enzyme aus dem Blutkreislauf nach intraokulär [11] (**Abbildung 2**), hierunter vermuteten wir auch die verschiedenen Komponenten des Fibrinolyse-Systems.

Abbildung 1

■ Spaltung des VRI durch Proteolyse von Laminin und Fibronectin durch Plasmin und Induktion einer kompletten PVD (enzymatische Vitreolyse).

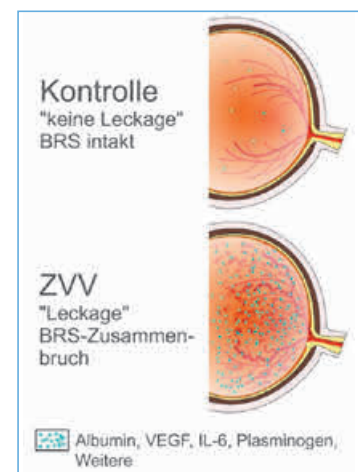
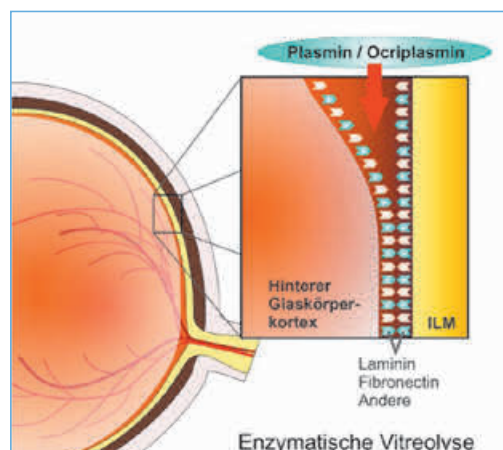
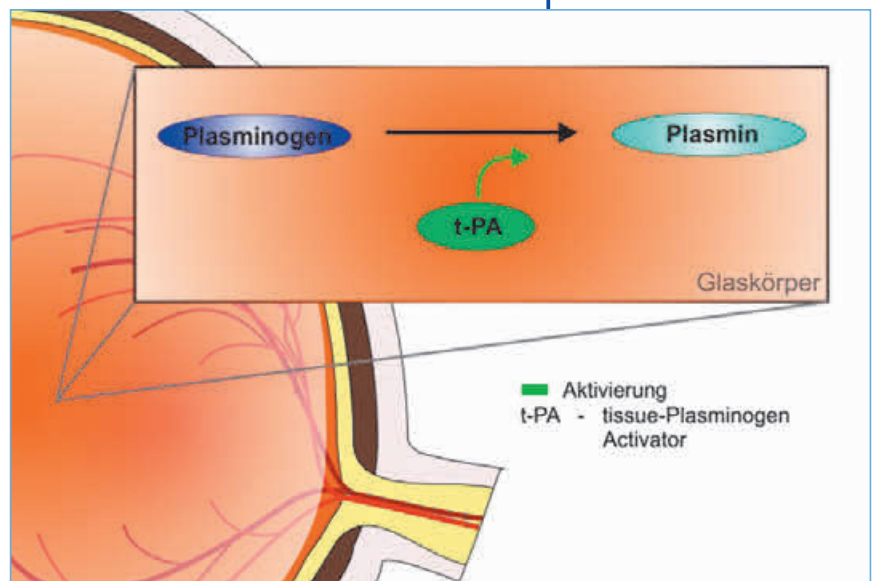


Abbildung 2

■ Zusammenbruch der inneren BRS und Übertritt diverser Enzyme und Chemokine, hierunter auch die Faktoren der Fibrinolyse

In zahlreichen Untersuchungen hat sich unsere Arbeitsgruppe mit der Bestimmung der intraokulären Fibrinolyse in gesunden Augen ohne und in erkrankten Augen mit BRS-Störung beschäftigt. Erstmals wurde ein Teil der entnommenen Proben direkt nach der Probenentnahme vor dem Einfrieren mit einem neuartigen Stabilisierungsverfahren versehen, um ein Fortschreiten der Fibrinolyse ultimativ zu stoppen [12] und somit Konzentrationen und Aktivitäten der verschiedenen Komponenten des Fibrinolyseystems bestimmen zu können, die nahe an der echten physiologischen intravitrealen Aktivität/Konzentration liegen. Da die Konzentrationen und Aktivitäten der basalen intraokulären Fibrinolyse sehr niedrig sind, wurde eine innovative chromogene Analyseverfahren eingesetzt, um die niedrigen Werte der intravitrealen Plasminogenaktivität detektieren zu können [12–14]. Wir konnten durch den Nachweis von Plasminogen zeigen, dass in Augen ohne BRS-Störung eine basale intraokuläre Fibrinolyse existiert [12]. Plasminogen ist das Schlüsselenzym der Fibrinolyse und wir konnten dieses in Vorderkammer- und Glaskörperflüssigkeit von gesunden Augen und in Vorderkammerflüssigkeit von Augen mit altersbedingter Makuladegeneration nachweisen [12, 15]. In einem weiteren Projekt konnten wir nachweisen, dass bei Patienten mit Zentralvenen- und Venenastverschlüssen die intravitreale Plasminogenaktivität im Vergleich zu gesunden Kontrollaugen signifikant erhöht ist [13, 14]. Durch den Nachweis der erhöhten Plasminogenaktivitäten ergibt sich für Patienten eine neue therapeutische Option. Durch eine einmalige intravitreale t-PA Applikation (rekombinanter Gewebsplasminogenaktivator, Actilyse®) kann aus dem intravitreal vorhandenen Plasminogen Plasmin generiert werden [16] (**Abbildung 3**). Intravitreales Plasmin, eine Serinprotease, wirkt wie Ocriplasmin® auf die Adhäsionsmoleküle des vitreoretinalen Interfaces (s. o.) und kann zur Induktion einer PVD herangezogen werden [16,17]. Retrospektive Datenauswertungen haben gezeigt, dass bei Patienten mit Zentralvenenverschluss in 76% der behandelten Fälle durch eine einmalige intravitreale t-PA Injektion eine komplette PVD zu erzielen war [7]. Hierdurch konnte ein signifikanter Visusanstieg erzielt werden, die Visusentwicklung war sogar nur mit der Induktion einer PVD korreliert [7]. Ein (besonders chronisches) Makulaödem in Augen mit einem RVO kann zu einer permanenten Visusverschlechterung führen. Immerhin zeigen 93% der RVO-Augen mit einem Makulaödem eine der ILM anliegenden PVC, während nur 41% der Augen mit einer PVD ein Makulaödem aufwiesen [18]. Zusätzlich schützt ein abgehobener hinterer Glaskörper vor einer möglichen Chronifizierung des ZMÖs [19]. Für das Auge potenziell gefährliche Komplikationen, wie Neovaskularisationen in verschiedenen Kompartimenten des Auges, werden in Augen mit PVD signifikant seltener beobachtet [20]. Retro-



spektive Daten zeigen also das mögliche Potential von intravitreal appliziertem t-PA für Augen mit einem RVO und konsekutiver Störung der BRS; unsere Arbeitsgruppe konnte den Nachweis einer signifikant erhöhten Plasminogenaktivität in betroffenen Augen nachweisen, so dass nun in einer prospektiven Studie die Wirkung von intravitreal appliziertem t-PA bei Patienten mit RVO untersucht werden sollte. Sollten sich die retrospektiv erhobenen Ergebnisse in einer prospektiven, placebo-kontrollierten Studie bestätigen, so würde sich eine neue Therapieoption für Patienten mit RVO und anliegendem PVC ergeben. Zur Zeit werden die Analysen zur Bestimmung der intraokulären Fibrinolyseparameter in Augen mit DMÖ und eAMD durchgeführt, um auch hier eine erhöhte intravitreale Fibrinolyseaktivität detektieren und somit die Rationale für den intravitrealen t-PA Einsatz darstellen zu können.

Für Augen ohne Störung der Blut-Retina-Schranke dürften die basalen intraokulären Plasminogenaktivitäten zu niedrig sein, um eine PVD zu induzieren. An humanen Augen gibt es diesbezüglich keine Studien, Untersuchungen mit Kaninchenaugen lassen dies aber vermuten [16]. Somit ist Ocriplasmin® (Jetrea®) für die Abhebung der PVC in Augen mit MH mit VMT und in Augen mit VMT, also in Augen ohne BRS-Störung, eine Revolution. Für Patienten mit BRS-Störung (DMÖ, eAMD und ZMÖ bei RVO) muss sich in weiteren Studien (head-to-head-Studien) zeigen, welche der beiden Proteasen bzw. Proteasenfragmente, potenter ist, die Adhäsionsmoleküle des VMI zu spalten. In vitro-Versuche konnten kürzlich einen vergleichbaren proteolytischen Effekt von Plasmin und Ocriplasmin auf Laminin und Fibronectin zeigen [21]. Die ersten Ergebnisse zum Potenzial von Ocriplasmin zur PVD-Induktion bei Patienten mit DMÖ und VMT (MV-002-Studie) sowie bei eAMD mit VMT (MV-005-Studie) bleiben abzuwarten.

Abbildung 3

■ Aktivierung von Plasminogen zur aktiven Serinprotease Plasmin durch rekombinanten Plasminogenaktivator (t-PA, Actilyse®).

Durch den Nachweis der basalen intraokulären Fibrinolyse bei Patienten ohne BRS-Störung [12] wäre auch eine kompensatorische intraokuläre Gerinnungskaskade denkbar, um ein physiologisches Gleichgewicht beider Systeme zu gewährleisten. Hier konnte unsere Arbeitsgruppe erstmals Thrombin als neuen Marker in der Augenheilkunde in Augen ohne BRS-Störung nachweisen [22]. Daher zeigen unsere Ergebnisse erstmals den Nachweis einer physiologischen, basalen intravitrealen Fibrinolyse- sowie Gerinnungsaktivität. Interessant wird nun die Thrombinmessung in Augen mit BRS-Störung, um zu erforschen, ob nicht nur die Fibrinolysefaktoren sondern auch das zentrale Enzym der Gerinnungskaskade, Thrombin, in diesen Augen erhöht ist. Erste Ergebnisse weisen darauf hin, dass auch Thrombin in Augen mit einem RVO erhöht ist (unpublizierte Daten). Der Stellenwert von intraokulärem Thrombin ist bisher unbekannt, es könnte allerdings eine entscheidende Rolle in der Abdichtung der BRS haben. Weitere Studien müssen nun den therapeutischen Stellenwert dieser Entdeckung eruieren (wie z.B. den Einfluss der neuen direkten oralen Thrombininhibitoren auf die intraokulären Vorgänge [23]).

LITERATUR:

- Stalmans P, Benz M.S., Gandorfer A., Kampik A., Girach A., Pakola S., Haller J.A. MIVI-TRUST Study Group. Enzymatic vitreolysis with ocriplasmin for vitreomacular traction and macular holes. *N Engl J Med.* 2012 Aug 16; 367 (7): 606–15.
- Hesse L., Kroll P. Enzymatically induced posterior vitreous detachment in proliferative diabetic vitreoretinopathy. *Klin Monbl Augenheilkd.* 1999 Feb; 214 (2): 84–9.
- Hoerle S., Poestgens H., Schmidt J., Kroll P. Effect of pars plana vitrectomy for proliferative diabetic vitreoretinopathy on preexisting diabetic maculopathy. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol.* 2002 Mar; 240 (3): 197–201.
- Schulze S., Hoerle S., Mennel S., Kroll P. Vitreomacular traction and exudative age-related macular degeneration. *Acta Ophthalmol.* 2008 Aug; 86 (5): 470–81.
- Mennel S., Meyer C.H., Schmidt J.C. The role of the vitreous in the pathogenesis of age-related macular degeneration. *Klin Monbl Augenheilkd.* 2011 May; 228 (5): 460–4.
- Bertelmann T., Kicová N., Messerschmidt-Roth A., Irle S., Sekundo W., Mennel S. The vitreomacular interface in retinal vein occlusion. *Acta Ophthalmol.* 2011 Jun; 89 (4): e327–31.
- Murakami T., Takagi H., Ohashi H., Kita M., Nishiwaki H., Miyamoto K., Watanabe D., Sakamoto A., Yamaike N., Yoshimura N. Role of posterior vitreous detachment induced by intravitreal tissue plasminogen activator in macular edema with central retinal vein occlusion. *Retina.* 2007 Oct; 27 (8): 1031–7.
- Gandorfer A. Pharmacologic vitreolysis. *Dev Ophthalmol.* 2007; 39: 149–56.
- Gandorfer A., Rohleder M., Sethi C., Eckle D., Welge-Lüssen U., Kampik A., Luthert P., Charteris D. Posterior vitreous detachment induced by microplasmin. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2004; Feb; 45 (2): 641–7.
- Cunha-Vaz J., Bernardes R., Lobo C. Blood-retinal barrier. *Eur J Ophthalmol* 2011; 21 Suppl 6: S3–9.
- Cachulo L., Silva R., Fonseca P., Pires I., Carvajal-Gonzalez S., Bernardes R., Cunha-Vaz J.G. Early markers of choroidal neovascularization in the fellow eye of patients with unilateral exudative age-related macular degeneration. *Ophthalmologica* 2011; 225: 144–149.
- Bertelmann T., Stief T., Bölöni R., Schulze S., Wenner Y., Sekundo W., Mennel S. Fibrinolysis in normal vitreous liquid. (in Begutachtung).
- Bertelmann T., Mennel S., Sekundo S., Strodthoff S., Witteborn M., Stief T., Nguyen N., Koss M. Intravitreal functional plasminogen is elevated in central retinal vein occlusion. *Ophthalmic Res* 2013; DOI: 10.1159/000351632.
- Bertelmann T., Sekundo W., Strodthoff S., Witteborn M.C.P., Stief T., Irle S., Nguyen N., Koss M., Mennel S. Intravitreal functional plasminogen is elevated in branch retinal vein occlusion. (in Begutachtung).
- Bertelmann T., Spychalska M., Kohlberger L., Strodthoff S., Witteborn M., Kicova N., Sachs U., Irle S., Mennel S. Intracamer concentrations of the fibrinolytic system components in patients with age-related macular degeneration. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol.* 2013; DOI: 10.1007/s00417-013-2374-8.
- Hesse L., Nebeling B., Schroeder B., Heller G., Kroll P. Induction of posterior vitreous detachment in rabbits by intravitreal injection of tissue plasminogen activator following cryopexy. *Exp Eye Res.* 2000 Jan; 70 (1): 31–9.
- Strodthoff S., Kicova N., Mennel S., Bertelmann T.: Funktioneller und morphologischer Verlauf nach intravitrealer rt-PA (Actilyse®) Injektion bei akutem Venenastverschluss. Poster 84. VRMA, 05.11.2011.
- Takahashi M.K., Hikichi T., Akiba J., Yoshida A., Trempe C.L. Role of the vitreous and macular edema in branch retinal vein occlusion. *Ophthalmic Surg Lasers* 1997; 28 (4): 294–299.
- Kado M., Jalkh A.E., Yoshida A., Takahashi M., Wazen N., Trempe C.L., Schepens C.L. Vitreous changes and macular edema in central retinal vein occlusion. *Ophthalmic Surg* 1990; 21 (8): 544–549.
- Akiba J., Kado M., Kakehashi A., Trempe C.L. Role of the vitreous in posterior segment neovascularization in central retinal vein occlusion. *Ophthalmic Surg* 1991; 22 (9): 498–502.
- Hermel M., Dailey W., Hartzler M.K. Efficacy of plasmin, microplasmin, and streptokinase-plasmin complex for the in vitro degradation of fibronectin and laminin-implications for vitreoretinal surgery. *Curr Eye Res* 2010; 35 (5), 419–24.
- Bertelmann T., Sekundo S., Stief T., Mennel S. Thrombin activity in normal vitreous liquid (in Begutachtung).
- Yeh C.H., Fredenburgh J.C., Weitz J.I. Oral direct factor Xa inhibitors. *Circ Res.* 2012 Sep 28; 111 (8): 1069–78.

Abbildungen adaptiert und übersetzt aus:

Bertelmann T., Mennel S., Sekundo S., Strodthoff S., Witteborn M., Stief T., Nguyen N., Koss M. Intravitreal functional plasminogen is elevated in central retinal vein occlusion. *Ophthalmic Res* 2013; DOI: 10.1159/000351632. Mit freundlicher Genehmigung durch S. Karger AG, Basel.

**Mitglieder der Studiengruppe
(alphabetisch):**

- *Dr. med. Thomas Bertelmann,
Philipps Universität Marburg,
Klinik für Augenheilkunde*
- *Dr. med. Nadia Kicova,
Augenklinik Aschaffenburg*
- *Laura Kohlberger,
Philipps Universität Marburg,
Klinik für Augenheilkunde*
- *PD Dr. med. Michael Koss,
Goethe Universität Frankfurt am Main,
Klinik für Augenheilkunde*
- *Prof. Dr. med. Stefan Mennel,
Landeskrankenhaus Feldkirch,
Klinik für Augenheilkunde*
- *Dr. med. Nauke Nguyen,
Goethe Universität Frankfurt am Main,
Klinik für Augenheilkunde*
- *Marta Spychalska,
Philipps Universität Marburg,
Klinik für Augenheilkunde*
- *PD Dr. med. Thomas Stief,
Philipps Universität Marburg,
Abteilung für Labormedizin,
Pathobiochemie und
molekulare Diagnostik*
- *Stefan Strodthoff,
Philipps Universität Marburg,
Klinik für Augenheilkunde*
- *Prof. Dr. med. Walter Sekundo,
Philipps Universität Marburg,
Klinik für Augenheilkunde*
- *Dr. med. Michael Witteborn
Zentrum Gesundheit Leer,
MVZ Augenheilkunde*

**Dr. med. Thomas Bertelmann**

Augenklinik
Philipps Universität Marburg
Baldingerstraße 3
35043 Marburg
Telefon: 06421 5861384
E-Mail:
thomas.bertelmann@staff.uni-marburg.de

KONTAKT

Neue experimentelle Behandlungsansätze zur Therapie des Retinoblastoms

DR. MED. EVA BIEWALD¹, DR. RER. MEDIC. HARALD STEPHAN²,
 PROF. DR. MED. NORBERT BORNFELD¹

1 Klinik für Erkrankungen des hinteren Augenabschnitts,
 Universitätsklinikum Essen

2 Klinik für Kinderheilkunde III,
 Universitätsklinikum Essen

Das Retinoblastom ist der häufigste maligne intraokulare Tumor weltweit und führt unbehandelt durch lokale und systemische Metastasierung zum Tod. Die Inzidenz liegt bei einer Neuerkrankung auf 20000 Lebendgeburten. Je nach vorliegendem Stadium der Erkrankung kommen unterschiedliche Therapieformen zum Einsatz. Etablierte Therapieformen sind die systemische Chemotherapie, die perkutane Radiatio, lokale Therapieformen wie die Laser- oder Cryokoagulation, die Brachytherapie mit ¹⁰⁶Ruthenium und als ultima ratio die Eukleation [2]. Allen genannten Verfahren ist gemein, dass sie bei einer hohen Überlebensrate von über 97% in westlichen Ländern oftmals mit einer hohen therapiebedingten Morbidität einhergehen [3]. Des Weiteren muss man bedenken, dass Patienten mit erblichem Retinoblastom nach Jahren häufig nicht-okulare Zweittumoren entwickeln, welche durch Strahlen- und Chemotherapie mit ausgelöst werden [9].

NICHT-SYSTEMISCHE CHEMOTHERAPIE

Daher wurden in letzter Zeit neue, nicht systemische Chemotherapieverfahren wie die intraarterielle Melphalangabe oder die intravitreale Applikation eines Chemotherapeutikums vorgestellt. Durch die lokale Applikation des Chemotherapeutikums erhofft man sich eine Vermeidung von systemischen Nebenwirkungen bei gleichzeitiger Tumorzerstörung.

Bei der intraarteriellen Chemotherapie wird die A. ophthalmica des betroffenen Auges gezielt katheterisiert und damit eine selektive Behandlung des betroffenen Organs ermöglicht. Erste Versuche gehen auf Reese 1957 zurück [11]. Seit

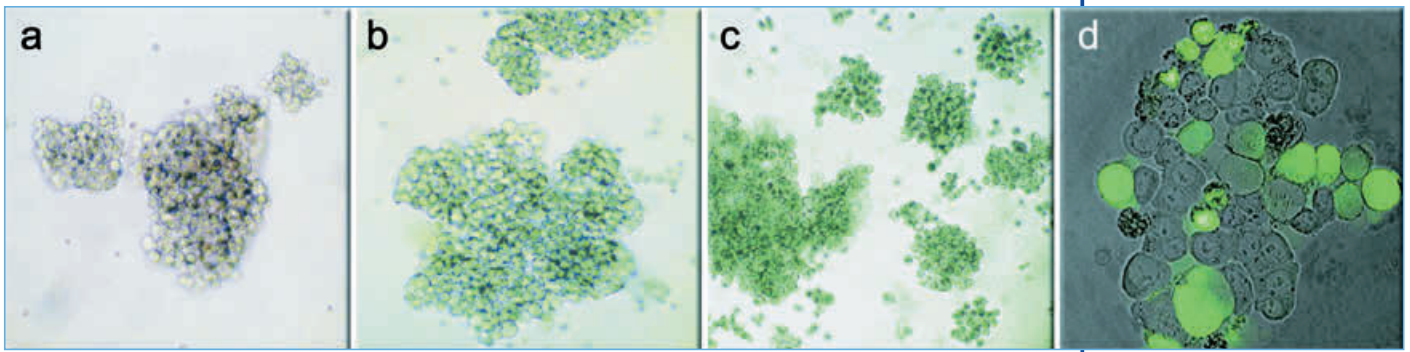
1990 wurde die intraarterielle Chemotherapie vor allem in Japan von der Arbeitsgruppe um Kaneko weiterentwickelt. Hierbei wurde eine selektive Applikation über die A. carotis interna mittels Ballonokklusion oberhalb des Abgangs der A. ophthalmica [14] durchgeführt, wobei bei jeder Intervention 5–40 mg Melphalan (einem Stickstoff-Lost-Derivat) pro Quadratmeter Körperoberfläche injiziert wurden. Die Technik der intraarteriellen Chemotherapie wurde seit 2006 von der Arbeitsgruppe in New York mit einer superselektiven Punktion der A. ophthalmica weiterentwickelt, dabei konnte eine Dosisreduktion auf 3–7,5 mg Melphalan pro Intervention erreicht werden [1]. Generell wird in der Literatur von einem guten Ansprechen auf fortgeschrittene Stadien der Retinoblastomerkrankung, wie beispielsweise das Vorliegen einer Glaskörperaussaat, berichtet. Als Nebenwirkungen der genannten Therapie wurden bislang konjunktivale und Lidödeme, sowie in seltenen Fällen retinale Ischämien und Aderhautatrophien beschrieben [1].

Eine andere Form der nicht systemischen Chemotherapie stellt die intravitreale Therapie dar, welche lange Zeit wegen des Risikos einer Tumorzellaussaat als obsolet galt. Eine erste Publikation zur intravitrealen Chemotherapie findet sich bereits 1961, wobei Thiopeta in den Glaskörperraum injiziert wurde [6]. Kiveala et al. berichteten 2011 von der intravitrealen Applikation von Methotrexat bei Rezidiven nach systemischer Chemotherapie [8]. Eine größere Fallserie zu intravitrealen Melphalan wurde 2012 von Munier et al. publiziert. Sie behandelten 23 Augen, wobei es sich um Therapieversager mit fortgeschrittenem Befund und Glaskörperaussaat nach bereits erfolgter systemischer Chemotherapie und perkutaner Radiatio handelte. Dabei wurde zunächst über eine Parazentese eine Bulbushypotonie erzeugt, dann 20 bis 30 µg Melphalan mittels einer 30 G Kanüle in den Glaskörperraum appliziert und die Injektionsstelle bei Entfernen der Kanüle kryokoaguliert. Das Follow up lag bei 50 Monaten, wobei in keinem Fall eine Tumorzellverschleppung beobachtet werden konnte [10]. Der intravitreale Ansatz scheint vielversprechend, wobei bislang

Abbildung 1

■ *LDL-Rezeptor-Expression in RB-Zelllinien. Western Blot mit monoklonalen Antikörpern.*





keine Einigkeit bezüglich der zu applizierenden Dosis und der Wahl des Chemotherapeutikum besteht.

IN VITRO ERGEBNISSE ZUR PHOTODYNAMISCHEN THERAPIE BEI RETINOBLASTOMZELLINIEN

Eine weitere neue und gut verträgliche Therapiemethode könnte die Photodynamische Therapie (PDT) darstellen, welche in unseren Versuchsreihen gute Ergebnisse bei etablierten Retinoblastomzelllinien zeigte. Bei der PDT wird ein primär nicht toxischer Photosensibilisator intravenös appliziert, welcher später über Lichtaktivierung selektiv im Tumorbereich aktiviert wird. In Deutschland ist Verteporfin (Visudyne®) zur Therapie der altersabhängigen Makuladegeneration zugelassen. Der liposomal verkapselte Stoff bindet im Plasma zu 90% an LDL und reichert sich durch die höhere metabolische Aktivität und verstärkte Gefäßpermeabilität insbesondere in schnell proliferierenden Zellen einschließlich Tumor- und Endothelzellen an [7]. Das LDL-gebundene Verteporfin wird über den LDL-Rezeptor via Endozytose in die Zelle aufgenommen. Im Anschluss wird durch Lichtaktivierung bei 689 nm über 83 Sekunden das in den Tumor- und Endothelzellen angesammelte Verteporfin aktiviert, wobei umliegende Strukturen weitgehend gesont werden können. Bei dieser Aktivierung wird Singulett-Sauerstoff gebildet, welcher zum einen direkt zytotoxisch wirkt und zum anderen zu einem umschriebenen Gefäßverschluss führt [5]. In dem ersten Schritt unserer Versuche konnten wir zeigen, dass etablierte Retinoblastomzelllinien (WERI-Rb1, Y-79, RB247C3, RB355, RB383) LDL-Rezeptoren exprimieren, und somit zur Aufnahme von Verteporfin befähigt sind, was als Grundvoraussetzung zur Durchführung einer PDT beim Retinoblastom angesehen werden muss. Der LDL-Rezeptor wurde von allen verwendeten Zelllinien, inklusive Wildtypen, exprimiert (Abb. 1). Durch die intensive grünliche Farbe des Verteporfins konnte die zelluläre Aufnahme mikroskopisch direkt visualisiert werden, wobei alle untersuchten Zelllinien eine intensive Färbung nach Zugabe von Verteporfin in das Kulturmedium

zeigten (Abb. 2). In einem nächsten Schritt testeten wir die optimale Verteporfin- und Laserdosis. Dabei wurden etablierte Zelllinien mit 0 bis 200 ng/ml Medium behandelt und anschließend unterschiedlichen Laserdosen ausgesetzt. Der Laser alleine zeigte dabei keinen Effekt, in Kombination mit Verteporfin zeigte sich allerdings bereits bei einer Dosis von 2 ng/ml Medium ein deutlicher Proliferationsrückgang. Umgekehrt zeigten Dosen von >100 ng/ml Medium bereits toxische Effekte ohne eine nachfolgende Laserbehandlung. Bezüglich der zu verwendenden Lichtdosis konnten wir zeigen, dass eine Lichtdosis von 100 J/cm² bei einer Verteporfinkonzentration von 50 ng/ml Medium in allen untersuchten Zelllinien zu einem deutlichen und irreversiblen Proliferationsrückgang führten (Abb. 3). Gleiches zeigte sich bei primären Tumorzellen und chemoresistenten Zelllinien [13].

IN VIVO VERSUCHE

Derzeit wird geprüft, ob die *in vitro* gewonnenen Ergebnisse auch *in vivo* Bestand haben, wobei wir uns einen zusätzlichen positiven Effekt durch die eintretenden Gefäßobliterationen erhoffen. Wir verwenden ein orthotopes Rattenmodell, wobei etablierte humane Retinoblastomzellen in

Abbildung 2

■ Hellfeldmikroskopiebilder zeigen repräsentative Resultate in RB247C3 Zellen (a) vor; (b) eine Minute nach, und (c) 15 Minuten nach Gabe von 2 µg Verteporfin/ml Zellmedium. d: Überlagerung von Phasenkontrast- und Laser-Scanning-Mikroskop-Bildern von WERI-Rb1 Zellen 5 Minuten nach Verteporfin-gabe.

Abbildung 3

■ Proliferationsrate etablierter RB-Zelllinien nach Inkubation mit 50 ng/ml Verteporfin, 72 Stunden nach erfolgter PDT. Eine Lichtdosis von 50 oder 100 J/cm² führte in allen Zelllinien zu einer signifikanten Proliferationsabnahme.

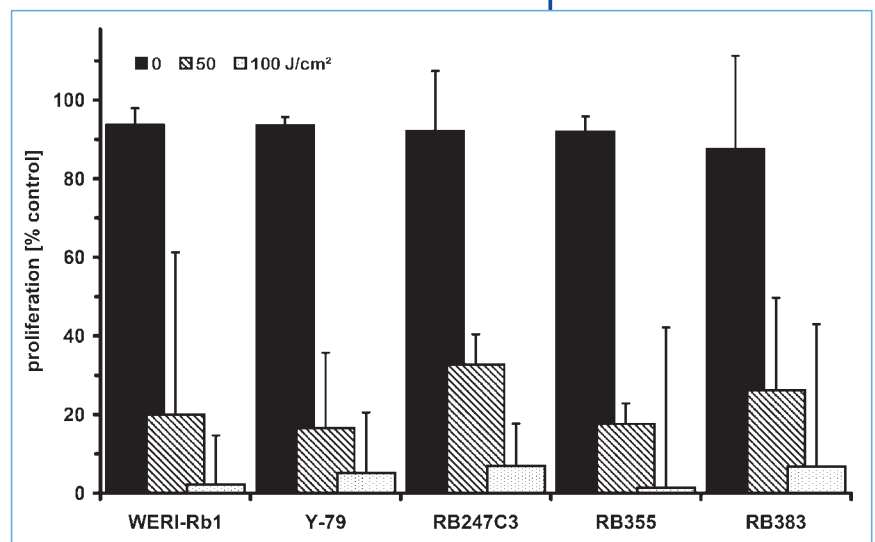
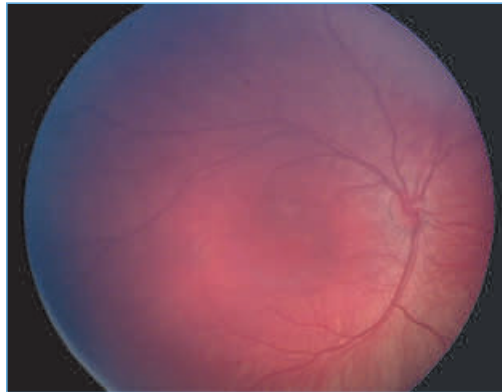


Abbildung 4

■ Juxtafoveoläres, solitäres Retinoblastom.



das Auge einer neugeborenen Ratte eingebracht werden. Bei neugeborenen Nagern ist innerhalb der ersten 48 Stunden keine Immunantwort gegen injizierte Zellen zu erwarten [12]. Systemische Nebenwirkungen einer Immunsuppression sowie deren Wechselwirkungen mit Verteporfin können somit ausgeschlossen werden. Die Tumorzellapplikation findet in Inhalationsnarkose mit Isofluran statt. Nach ausreichender Narkosetiefe werden ultraschallgesteuert Tumorzellen der etablierten Retinoblastomzelllinien WERI-Rb1 und Y-79 mit einer 30G Kanüle möglichst nah an die Retina eingebracht. Nach Voruntersuchungen von Harbour et al. [4] wird dabei eine Zellzahl von 107 Zellen zugrunde gelegt. Nach ca. 21 bis 40 Tagen ist mit einer ersten Tumorentwicklung zu rechnen. Sobald die Tumoren eine Größe von 2 mm erreicht haben, findet die PDT-Behandlung statt. Dabei werden 0,33 ml entsprechend einer Konzentration von 6,0 mg/m² Verteporfin intravenös verabreicht. Die PDT wird ca. 15 bis 20 Minuten später mit einem Diodenlaser bei einer Wellenlänge von 689 nm, einer Intensität von 600 mW/cm² und einer Dauer von 83 Sekunden durchgeführt. Die Tumoren werden engmaschig bezüglich ihres Wachstumsverhaltens kontrolliert und nach der Eukleation histopathologisch auf Tumorwachstum untersucht.

Aus der Klinik wissen wir, das Verteporfin ein Medikament mit einem sehr geringen Nebenwirkungsspektrum darstellt und die Anwendung der PDT am Auge sehr präzise unter Schonung der

umliegenden Gewebe durchgeführt werden kann. Bei einem positiven Ausgang der *in vivo* Versuche wäre die PDT dann ggf. insbesondere bei kleinen juxtafovealen, juxtapapillären (**Abb. 4**) oder chemoresistenter Tumoren als Behandlungsalternative zu sehen.

LITERATUR

1. Abramson D.H. et al: A Phase I/II Study of Direct Intra-arterial (Ophthalmic Artery) Chemotherapy with Melphalan for Intraocular Retinoblastoma. Initial Results. *Ophthalmol* 115: 1398–1404.
2. Bornfeld N. et al: Neue Entwicklungen zur Genetik und Therapie des Retinoblastoms. *Klin Monatsbl Augenheilkd* 2011; 228: 593–598.
3. Bornfeld N.: Retinoblastoma. *Klin Monbl Augenheilkd*. 1999; 214 (4): aA10-1.
4. del Cerro M. et al: Transplantation of Y79 cells into rat eyes: an in vivo model of human retinoblastomas. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 1993; 34 (12): 3336–46.
5. Dougherty T.J. et al: Photodynamic therapy. *J Natl. Cancer Inst.* 1998; 90 (12): 889–905.
6. Ericson L.A. et al: Present therapeutic resources in retinoblastoma. *Acta Ophthalmol* 1961; 39: 569–76.
7. Karaivanova M. et al: Studies on the photodynamic effect of haematoporphyrin derivate. *J Photochem Photobiol B*. 1990; 6 (3): 297–308.
8. Kivela T. et al: Intravitreal Methotrexate for retinoblastoma. *Ophthalmology* 2011; 118: 1689.
9. Lohmann D.: Retinoblastoma. *Adv Exp Med Biol*. 2010; 685: 220–7.
10. Munier F.L. et al: Intravitreal chemotherapy for vitreous disease in retinoblastoma revisited: from prohibition to conditional indications. *Br J Ophthalmol* 2012; 96: 1078e1083.
11. Reese A.B. et al: The treatment of retinoblastoma by radiation and triethylene melamine. *Am J Ophthalmol* 1957; 43: 865–872.
12. Sarzotti M.: Response: immunological tolerance. *Science* 1996; 272 (5267): 1408a.
13. Stephan H. et al: Photodynamic Therapy in Retinoblastoma: Effects of Verteporfin on Retinoblastoma Cell Lines. *IOVS* 2008; 49: 3158–316.
14. Yamane T. et al: The technique of ophthalmic arterial infusion therapy for patients with intraocular retinoblastoma. *Int J Clin Oncol* 2004; 9: 69–73.

KONTAKT**Dr. med. Eva Biewald**

Abteilung für Erkrankungen
des hinteren Augenabschnitts
Universitätsklinikum Essen
Hufelandstraße 55
45147 Essen
E-Mail: eva.biewald@uk-essen.de

Kostenreduzierte oder kostenfreie Publikationen helfen, den verfügbaren Rahmen zu entlasten und damit Gelder für andere Bereiche und Aktivitäten freizusetzen.

Wir bieten Ihnen die ganze hierzu notwendige Palette – vom Anzeigengeber über die Satztechnik bis hin zum fertigen Druckwerk: *alles aus einer Hand.*

Für viele Institutionen sind wir bereits eine feste Größe auf dem Verlagssektor.

Mit uns können Sie *rechnen.*

Veröffentlichungen zur Humanmedizin



Wählen Sie eine der folgenden Optionen:

- Krankenhausdokumentation erstellen
- Patientenführer erstellen
- Jahresbericht erstellen

Go ALPHA

Abbrechen

Hilfe

ALPHA

Informationsgesellschaft mbH
Finkenstraße 10
68623 Lampertheim
Telefon: 0 62 06 – 939-0
Telefax: 0 62 06 – 939-243
E-Mail: info@alphapublic.de
Internet: www.alphapublic.de

Studien zur Schrankenstörung retinaler mikrovaskulärer Endothelzellen

DR. HEIDRUN DEISSLER, PROF. DR. MED. GERHARD K. LANG,
PROF. DR. MED. GABRIELE E. LANG

Universitäts-
Augenklinik,
Universitätsklinikum
Ulm

Die diabetische Retinopathie ist eine der wichtigsten mikrovaskulären Folgeerkrankungen des Diabetes mellitus, die in Industrieländern die Hauptursache für Erblindung im erwerbsfähigen Alter darstellt. Ihre Entstehung ist von erhöhter Proliferation, Migration und Permeabilität retinaler mikrovaskulärer Endothelzellen geprägt. Verschiedene Wachstumsfaktoren wie z. B. »Vascular Endothelial Growth Factor-A« (VEGF), »basic Fibroblast Growth Factor« (bFGF), »Insulin-like Growth Factor 1« (IGF-1) sowie »Placental Growth Factor« (PlGF), deren Konzentration in der Glaskörperflüssigkeit Betroffener erhöht ist, spielen dabei eine maßgebliche Rolle [1–5]. Diese Faktoren stimulieren Proliferation und/oder Migration in verschiedenen Zelltypen, auch in retinalen Endothelzellen [6–10]. Die lange Isoform von VEGF,

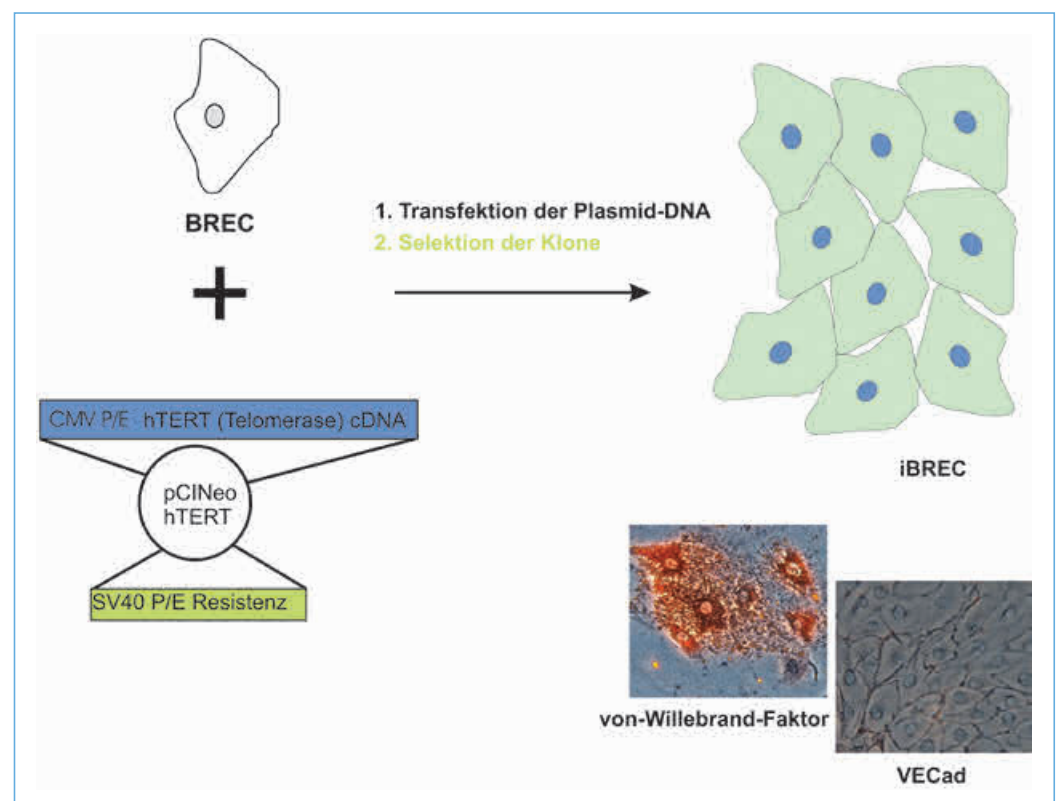
VEGF₁₆₅, kann die Permeabilität in verschiedenen Endothelzellen erhöhen, wobei dieser Prozess in mehreren Phasen abläuft. Die durch VEGF erhöhte Permeabilität der *retinalen* Endothelzellen ist unter anderem verantwortlich für die Entstehung des diabetischen Makulaödems (DMÖ) [5].

Zur Untersuchung der Blut-Retina-Schranke haben wir durch Einbringen der cDNA für die humane Telomerase Reverse Transkriptase (hTERT) aus primären retinalen Endothelzellen vom Rind (BREC) die Zelllinie iBREC etabliert [7] (Abb. 1). iBREC exprimieren typische Markerproteine und verhalten sich wie die entsprechenden primären Zellen, sind aber frei von kontaminierenden Zelltypen wie z. B. Perizyten [7]. In Ergänzung zu Tiermodellen aus Nagern erlaubt diese Zelllinie trotz

Abbildung 1

■ Etablierung immortalisierter mikrovaskulärer retinaler Endothelzellen vom Rind – iBREC

Das Plasmid pCINeo hTERT wurde in primäre retinale Endothelzellen vom Rind eingebracht und die erfolgreich transfizierten Zellen selektioniert. iBREC exprimieren für Endothelzellen spezifische Proteine wie z. B. von-Willebrand-Faktor oder »vascular endothelial cadherin« (VECad).



des ebenfalls tierischen Ursprungs genaue und detaillierte Studien mit möglicherweise höherer klinischer Relevanz, da die Homologie der zu untersuchenden Proteine zwischen Mensch und Rind höher ist.

In Kulturen von primären oder immortalisierten BREC kann man die durch VEGF induzierten Veränderungen mittels Messung des transendothelialen Widerstandes (TER) einer Einzelzellschicht verfolgen: Innerhalb weniger Minuten nach Zugabe von VEGF₁₆₅ sinkt vorübergehend der transendotheliale Widerstand ab, ein zweiter, mehrere Tage andauernder Peak setzt nach einigen Stunden ein [11–15]. Während der kurzzeitige Effekt von VEGF₁₆₅ durch Hemmung der Proteinkinase C blockiert werden kann, gilt dies für die langfristige Wirkung von VEGF₁₆₅ nicht [13, 16]. Infolge der VEGF-Stimulation kommt es in Endothelzellen u. a. zu einer veränderten Zusammensetzung der parazellulären Fluss regulierenden Tight-junctions, die aus verschiedenen Transmembranproteinen wie Occludin und Claudinen, sowie aus membranassoziierten Proteinen wie ZO-1 gebildet werden [17]. Während Modifikation, Lokalisation und Menge der Tight-junction-Proteine Claudin-3, Claudin-5 und ZO-1 nur vorübergehend verändert sind, ist nach länger andauernder VEGF-Exposition Claudin-1 nicht mehr nachweisbar, wobei die Ursache für den Verlust nicht geklärt ist [8, 13, 18] (**Abb. 2**).

Interessanterweise erniedrigt VEGF₁₆₅ erst oberhalb einer Schwellenkonzentration von 25 ng/ml den transendothelialen Widerstand von iBREC, während 10 ng/ml VEGF₁₆₅ die Schranke nur leicht beeinflusst [14] (**Abb. 2**). Die kürzere Isoform von VEGF, VEGF₁₂₁, erniedrigt den transendothelialen Widerstand auch bei höheren Konzentrationen (25 ng/ml und 50 ng/ml) nur vorübergehend und weitere Mitglieder der VEGF-Familie, PlGF-1 und PlGF-2, beeinflussen als einzelne Faktoren die iBREC-Schranke nicht; die Wirkung von VEGF₁₆₅ auf die Barriere der iBREC wird durch sie auch nicht moduliert (**Abb. 3**). Interessanterweise verstärken bzw. verlängern die beiden Wachstumsfaktoren bFGF und IGF-1 den Effekt von VEGF₁₆₅, obwohl auch diese allein die iBREC-Schranke nicht beeinflussen [14].

Da von den untersuchten Wachstumsfaktoren nur VEGF den transendothelialen Widerstand der iBREC erniedrigt, sollte es möglich sein durch Hemmung von VEGF diese Störung wieder aufzuheben. Tatsächlich macht das Fab-Fragment Ranibizumab [19], das alle Isoformen von VEGF bindet, die durch VEGF hervorgerufene Senkung des transendothelialen Widerstands und die reduzierte Expression von Claudin-1 komplett rückgängig, auch in Gegenwart der anderen Wachstumsfaktoren bFGF, IGF-1, PlGF-1 und PlGF-2 (**Abb. 2, 3**).

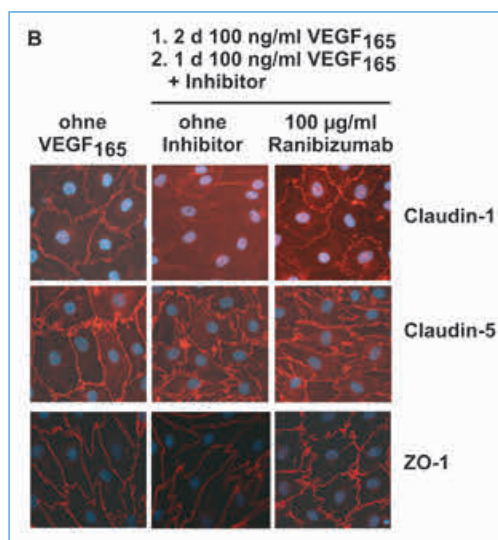
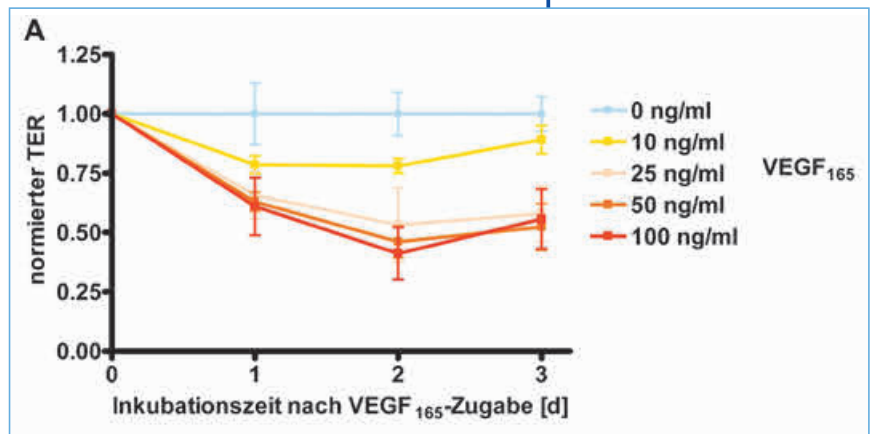


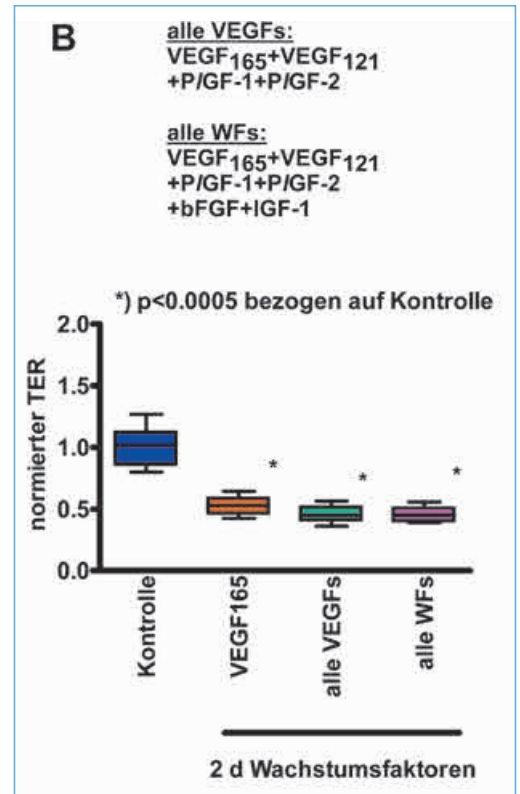
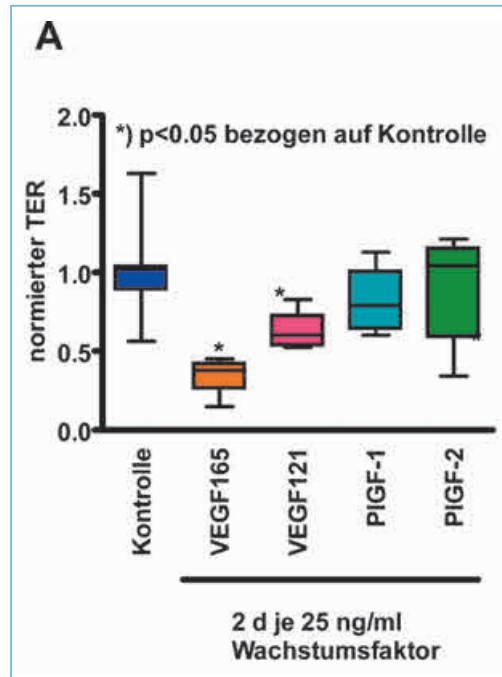
Abbildung 2

■ **Verlängerte Inkubation mit VEGF₁₆₅ senkt den transendothelialen Widerstand (TER) und führt zum Verlust von Claudin-1** iBREC wurden mit VEGF₁₆₅ über mehrere Tage inkubiert und der TER gemessen (A) bzw. die Lokalisation verschiedener Plasmamembran-Proteine verfolgt (B). Höhere Mengen VEGF₁₆₅ senken den TER und führen zum Verlust von Claudin-1. Ranibizumab macht den Verlust von Claudin-1 rückgängig.

Neben Ranibizumab, das für die Therapie des DMÖ zugelassen ist, wird auch der humanisierte VEGF-spezifische Antikörper Bevacizumab eingesetzt [19–21]. Dieser hebt auch in iBREC die durch VEGF induzierte Schrankenstörung auf, ist allerdings etwas weniger effizient als Ranibizumab: Bevacizumab macht die nach mehrtägiger Inkubation mit VEGF induzierte Reduktion des transendothelialen Widerstands innerhalb von 24 h nur teilweise rückgängig, Ranibizumab innerhalb dieser Zeitspanne dagegen komplett. Zudem wird durch Lagerung bei 4°C die Aktivität des Antikörpers stark herabgesetzt [22]. Interessanterweise wird Bevacizumab, aber nicht Ranibizumab, von retinalen Pigmentepithelzellen internalisiert und hemmt dabei die Phagozytose [23]. Außerdem wird die Permeabilität dieser Zellen in Gegenwart von Bevacizumab stabil aber leicht erhöht, während Ranibizumab nur einen vorübergehenden Einfluss hat [24]. Werden nun iBREC mit klinisch relevanten Mengen Bevacizumab oder Ranibizumab inkubiert, so werden beide VEGF-bindenden Proteine von den Zellen aufgenommen und zwar unabhängig von der Anwesenheit von VEGF (**Abb. 4**). Dabei reichert sich Bevacizumab, das unter diesen Umständen mit dem Zytoskelett as-

Abbildung 3

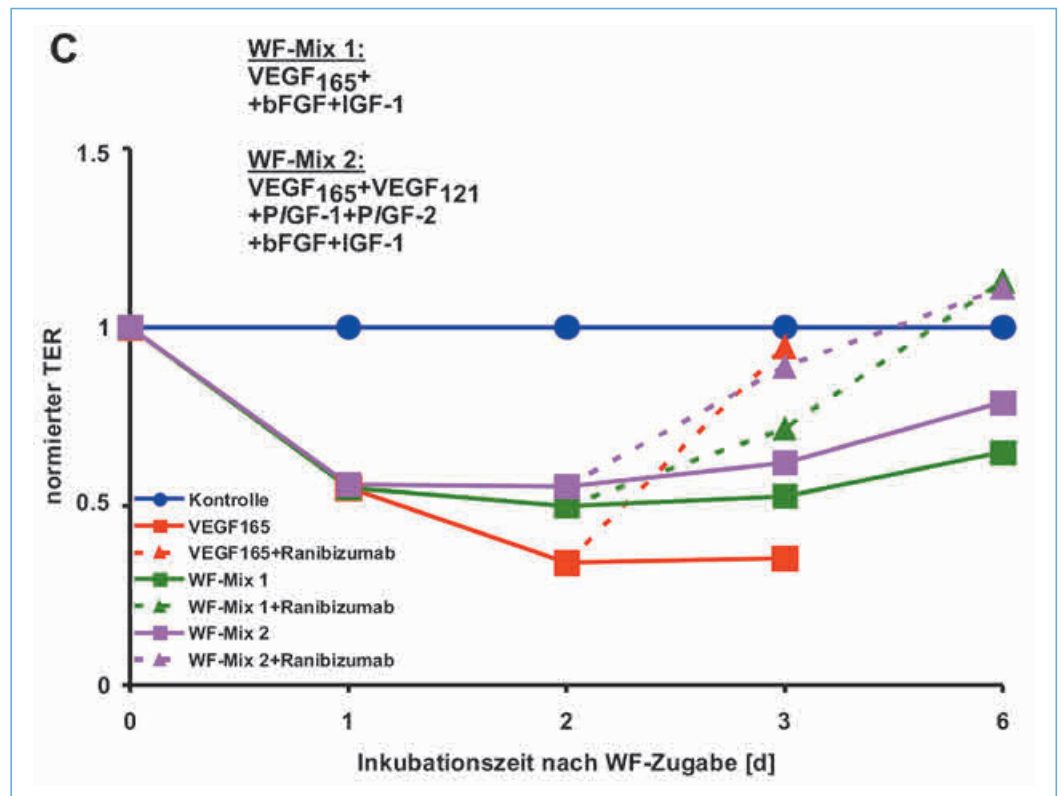
■ **Ranibizumab macht den durch VEGF₁₆₅ abgesenkten TER komplett rückgängig, auch in Gegenwart anderer Wachstumsfaktoren**
iBREC wurden mit VEGF₁₆₅ in An- oder Abwesenheit anderer Wachstumsfaktoren für 2 Tage inkubiert und der TER gemessen (A, B). Anschließend wurde Ranibizumab zugegeben, das die Schrankenstörung komplett wieder aufhebt (C).

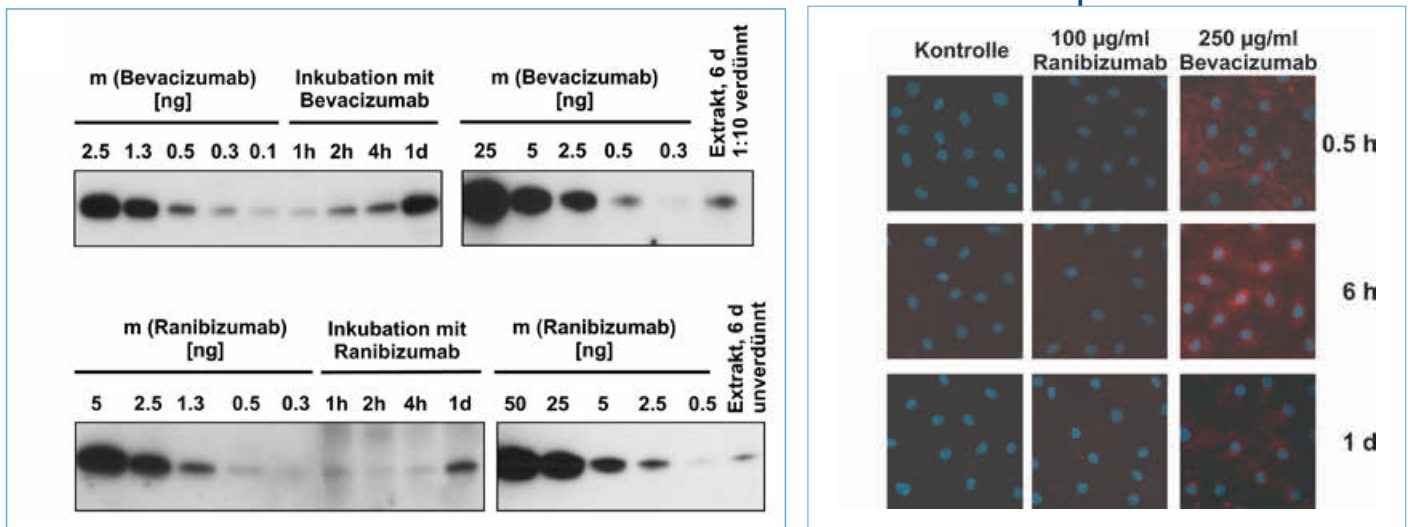


soziiert zu sein scheint, in den Zellen an. Die Konzentration von Ranibizumab in *iBREC* steigt dagegen nicht an; wahrscheinlich ist seine Aufnahme Teil des Abbauprozesses. Die Barrierefunktion der *iBREC* wird durch die internalisierten VEGF-Inhibitoren nicht beeinflusst. [22]

Die Ergebnisse unserer *in vitro* Studien zeigen, dass von den untersuchten Wachstumsfaktoren

hauptsächlich VEGF für die Schrankenstörung der retinalen Endothelzellen verantwortlich ist. Dabei ist die längere Isoform VEGF₁₆₅ effizienter als die kürzere Isoform VEGF₁₂₁, und die anderen Mitglieder der VEGF-Familie PIGF-1 und PIGF-2 spielen





eher keine Rolle. Verstärkt wird die Wirkung von VEGF₁₆₅ unter bestimmten Bedingungen durch bFGF und IGF-1. Diese Ergebnisse legen die Schlussfolgerung nahe, dass es ein sinnvoller Ansatz ist, die Schrankenstörung der retinalen Endothelzellen, wie sie beim DMÖ beobachtet wird, durch spezifische Hemmung von VEGF zu behandeln. Da neben den retinalen Endothelzellen vermutlich die retinalen Pigmentepithelzellen auch an der Schrankenstörung beteiligt sind, muss allerdings noch geklärt werden, wie diese Zellen auf die verschiedenen Wachstumsfaktoren reagieren.

LITERATUR

1. Aiello L.P., Avery R.L., Arrigg P.G., Keyt B.A., Jampel H.D., Shah S.T., Pasquale L.R., Thieme H., Iwamoto M.A., Park J.E., Nguyen H.V., Aiello L.M., Ferrara N., King G.L., 1994. Vascular endothelial growth factor in ocular fluid of patients with diabetic retinopathy and other retinal disorders. *N. Engl. J. Med.* 331, 1480–1487.
2. Khaliq A., Foreman D., Ahmed A., Weich H., Gregor Z., McLeod D., Boulton M., 1998. Increased expression of placenta growth factor in proliferative diabetic retinopathy. *Lab. Invest.* 78, 109–115.
3. Boulton M., Gregor Z., McLeod D., Charteris D., Jarvis-Evans J., Moriarty P., Khaliq A., Foreman D., Allamby D., Bardsley B., 1997. Intravitreal growth factors in proliferative diabetic retinopathy: correlation with neovascular activity and glycaemic management. *Br. J. Ophthalmol.* 81, 228–233.
4. Meyer-Schwickerath R., Pfeiffer A., Blum W.F., Freyberger H., Klein M., Lösche C., Röhlmann R., Schatz H., 1993. Vitreous levels of the insulin-like growth factors I and II and the insulin-like growth factor binding proteins 2 and 3, increase in neovascular eye disease. *J. Clin. Invest.* 92, 2620–2625.
5. Qaum T., Xu Q., Jousseaume A.M., Clemens M.W., Qin W., Miyamoto K., Hassessian H., Wiegand S.J., Rudge J., Yancopoulos G.D., Adamis A.P., 2001. VEGF-initiated blood-retinal barrier breakdown in early diabetes. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 42, 2408–2413.
6. Castellon R., Hamdi H.K., Sacero I., Aoki A.M., Kenney M.C., Ljubimov A.V. (2002) Effects of angiogenic growth factor combinations on retinal endothelial cells. *Exp Eye Res* 74: 523–535.
7. Deissler H.L., Deissler H., Lang G.K., Lang G.E., 2005. Generation and characterization of iBREC: novel hTERT-immortalized bovine retinal endothelial cells. *Int. J. Mol. Med.* 15, 65–70.
8. Deissler H.L., Deissler H., Lang S., Lang G.E., 2008. VEGF-induced effects on proliferation, migration and tight junctions are restored by ranibizumab (Lucentis®) in microvascular retinal endothelial cells. *Br. J. Ophthalmol.* 92, 839–843.
9. Stewart E.A., Samaranayake G.J., Browning A.C., Hopkinson A., Amoaku W.M., 2011. Comparison of choroidal and retinal endothelial cells: Characteristics and response to VEGF-isoforms and anti-VEGF treatment. *Exp. Eye Res.* 93, 761–766.
10. Yan Q., Ki Y., Hendrickson A., Sage E.H., 2001. Regulation of retinal capillary cells by basic fibroblast growth factor, vascular endothelial growth factor, and hypoxia. *In Vitro Cell. Dev. Biol.-Animal.* 37, 45–49
11. Bates D.O. (2010) Vascular endothelial growth factors and vascular permeability. *Cardiovasc Res.* 87: 262–71.
12. Antonetti D.A., Barber A.J., Hollinger L.A., Wolpert E.B., Gardner T.W., (1999) Vascular endothelial growth factor induces rapid phosphorylation of tight junction proteins occludin and zonula occludens 1. *J. Biol. Chem.* 274, 23463–23467.
13. Deissler H.L., Deissler H., Lang G.E., 2010. Inhibition of protein kinase C is not sufficient to prevent or reverse effects of VEGF₁₆₅ on tight junction protein claudin-1 and permeability in microvascular retinal endothelial cells. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 51, 535–542.
14. Deissler H.L., Deissler H., Lang G.E., 2011. Inhibition of VEGF is sufficient to completely restore barrier malfunction induced by growth factors in microvascular retinal endothelial cells. *Br. J. Ophthalmol.* 95, 1151–1156.
15. Othman A., Ahmad S., Megyerdi S., Mussell R., Choksi K., Maddipati K.R., Elmarakby A., Rizk N., Al-Shabrawey

Abbildung 4

Bevacizumab, aber nicht Ranibizumab akkumuliert in iBREC

iBREC wurden mit Ranibizumab oder Bevacizumab inkubiert und die Lokalisation der Proteine verfolgt. Beide Inhibitoren werden von iBREC aufgenommen. Ranibizumab ist nur vorübergehend nachweisbar, Bevacizumab noch nach 6 Tagen.

- M., 2013. 12/15-Lipoxygenase-derived lipid metabolites induce retinal endothelial cell barrier dysfunction: contribution of NADPH oxidase. *PLoS ONE* 8(2):e57254. doi: 10.1371/journal.pone.0057254
16. Harhaj N. S., Felinski E. A., Wolpert E. B., Sundstrom J. M., Gardner T. W., Antonetti D. A., 2006. VEGF activation of protein kinase C stimulates occludin phosphorylation and contributes to endothelial permeability. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 47, 5106–5115.
 17. Bazzoni G., 2006. Endothelial tight junctions: permeable barriers of the vessel wall. *Thromb. Haemost.* 95, 36–42.
 18. Wisniewska-Kruk J., Hoeben K. A., Vogels I. M., Gaillard P. J., Van Noorden C. J., Schlingemann R. O., Klaassen I., 2012. A novel co-culture model of the blood-retinal barrier based on primary retinal endothelial cells, pericytes and astrocytes. *Exp. Eye. Res.* 96, 181–90.
 19. Ferrara N., Damico L., Shams N., Lowman H., Kim R., 2006. Development of ranibizumab, an anti-vascular endothelial growth factor antigen binding fragment, as therapy for neovascular age-related macular degeneration. *Retina* 26, 859–870.
 20. Mitchell P., Bandello F., Schmidt-Erfurth U. et al. RESTORE study group. The RESTORE study: ranibizumab monotherapy or combined with laser versus laser monotherapy for diabetic macular edema. *Ophthalmology* 2011; 118: 615–25.
 21. Presta L. G., Chen H., O'Connor J. et al. Humanization of an anti-vascular endothelial growth factor monoclonal antibody for the therapy of solid tumors and other disorders. *Cancer Res* 1997; 57: 4593–4599.
 22. Deissler H., Deissler H., Lang G.E. (2012) Actions of bevacizumab and ranibizumab on microvascular retinal endothelial cells: similarities and differences. *Br J Ophthalmol* 96: 1023–1028.
 23. Klettner A., Möhle F., Roider J. Intracellular Bevacizumab reduces phagocytotic uptake in RPE cells. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2010; 248: 819–824.
 24. Miura Y., Klettner A., Roider J. VEGF antagonists decrease barrier function of retinal pigment epithelium in vitro: possible participation of intracellular glutathione. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2010; 51: 4848–55.



Dr. rer. nat. Heidrun Deißler leitet seit Anfang 2003 das Forschungslabor der Universitäts-Augenklinik. Nach Abschluss ihres Studiums der Chemie an den Universitäten Essen und Marburg promovierte sie 1993 in Essen. Nach einem Forschungsaufenthalt in Glasgow, war sie als wissenschaftliche Mitarbeiterin am Institut für Genetik der Universität zu Köln bis Anfang 2003 tätig. Dort identifizierte sie ein neues DNA-bindendes Protein, das für die Entstehung des fragilen X-Syndroms wichtig ist. In Ulm liegt ihr Forschungsschwerpunkt auf molekularen Mechanismen, die bei der Pathogenese der Diabetischen Retinopathie eine wichtige Rolle spielen. Frau Dr. Deißler ist verheiratet und hat zwei schulpflichtige Kinder.

Die Arbeiten von Frau Dr. Deißler wurden durch verschiedene Start-Up-Grants der Universität Ulm und der Gertrud-Kusen-Stiftung, sowie im Rahmen eines Landesforschungsschwerpunktes und durch Forschungsförderungen der Novartis Pharma GmbH unterstützt. Die Ergebnisse der wissenschaftlichen Arbeiten sind in zahlreichen internationalen Fachzeitschriften publiziert und wurden auch durch den Universitätspreis der Universität zu Köln 1998, den Meyer-Schwickerath-Preis der Arbeitsgemeinschaft »Diabetes und Auge« 2008 und den EyeNovation Förderpreis der Novartis Pharma GmbH 2011 gewürdigt. Frau Dr. Deißler ist außerdem Gutachterin für verschiedene internationale Fachzeitschriften.

KONTAKT



Dr. rer. nat. Heidrun Deißler

Leitung des Forschungslabors
der Universitäts-Augenklinik
Universitätsklinikum Ulm
Prittwitzstraße 43
89075 Ulm
Telefon: 0731 50059155
Telefax: 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 mehrere Bücher veröffentlicht, die in mehrere Sprachen übersetzt wurden. Er ist verantwortlich für verschiedene Forschungsprojekte der Universitäts-Augenklinik Ulm. Für seine Tätigkeit wurde mit zahlreichen wissenschaftlichen Preisen und dem Bundesverdienstkreuz am Bande ausgezeichnet.



Prof. Dr. Gerhard K. Lang

Direktor der
Augenklinik
Universitätsklinikum Ulm
Prittwitzstraße 43
89075 Ulm

KONTAKT



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 170 Publikationen in wissenschaftlichen Zeitschriften. Sie hat über 40 Buchkapitel geschrieben und ein Buch über »Diabetische Retinopathie« und »Photodynamische Therapie« 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 der von der EU geförderten Consortiums-Studie EUROCONDOR.



Prof. Dr. Gabriele E. Lang

Leiterin der Sektion
Konservative Retinologie
und Laserchirurgie
Augenklinik
Universitätsklinikum Ulm
Prittwitzstraße 43
89075 Ulm

KONTAKT



»Okuläre Graft-versus-Host Disease (GVHD) nach allogener hämatopoetischer Stammzelltransplantation«

PRIV.-DOZ. DR. TINA DIETRICH-NTOUKAS¹, DR. CHRISTIANE BLECHA¹,
PRIV.-DOZ. DR. HENRIKE WESTEKEMPER², DR. PHILIPP EBERWEIN³,
PRIV.-DOZ. DR. PHILIPP STEVEN⁴, PROF. DR. DANIEL WOLFF⁵

1 Klinik und Poliklinik für Augenheilkunde, Universitätsklinikum Regensburg

2 Zentrum für Augenheilkunde, Abteilung für Erkrankungen des vorderen Augenabschnitts, Universitätsklinikum Essen

3 Universitäts-Augenklinik Freiburg

4 Zentrum für Augenheilkunde, Uniklinik Köln

5 Medizinische Klinik III, Universitätsklinikum Regensburg

Die Graft-versus-host-disease (»Spender gegen Empfänger-Reaktion«, GVHD) ist eine Multisystemerkrankung, die nach allogener hämatopoetischer Stammzelltransplantation (HSCT) auftritt und verschiedene Organsysteme inkl. der Augen und ihrer Adnexe betreffen kann (Ferrara et al., 2009; Baird und Pavletic, 2006). Die GVHD ist durch eine immunologische Reaktion von Spenderlymphozyten gegen Gewebe des Empfängers bedingt und neben einer Gewebeschädigung durch Immundefizienz und Immundysregulation gekennzeichnet. Prinzipiell unterscheidet man die akute Form der GVHD (klassische akute GVHD während der ersten 100 Tage nach HSCT oder danach als sog. späte akute GVHD) von einer chronischen Form, die typischerweise nach drei bis 24 Monaten auftritt.

Die **chronische GVHD** tritt bei bis zu 60% der Patienten nach HSCT auf und ist die Hauptursache für Morbidität und eine spätere Letalität nach HSCT (Ferrara et al., 2009). Die Inzidenz der GVHD nimmt insgesamt zu, was auf mehrere Faktoren (höheres Alter der Patienten, vermehrter Einsatz von Blutstammzellen aus dem peripheren Blut und von nicht verwandten Spendern) zurückzuführen ist (Lee et al., 2003). Die Prävalenz liegt in Deutschland bei derzeit etwa 10.000 Patienten (Wolff et al., 2011). Bei Patienten mit hohem Rezidivrisiko der Grunderkrankung ist von hämato-onkologischer Seite eine milde Graft-versus-Host-Reaktion gewünscht, da die Prognose bzgl. der Rezidivfreiheit und des Überlebens bei Patienten mit milder GVHD durch den assoziierten sog. »graft versus leukemia« Effekt besser ist. Da sich die Überlebensprognose nach allogener HSCT – auch bei Vorliegen einer GVHD – in den letzten Jahren verbessert hat, steigt die Zahl der Patienten mit GVHD insgesamt an (Wolff et al., 2011).

Die Augen und ihre Adnexe sind bei 50 bis 80% der GVHD-Patienten betroffen und damit einer der häufigsten Manifestationsorte der GVHD. Eine alleinige okuläre Manifestation der GVHD ist selten (Filipovich et al., 2005; Kim et al., 2009). In einer eigenen retrospektiven Analyse lag bei 95% der Patienten mit okulärer chronischer GVHD eine

GVHD anderer Organsysteme vor, insbesondere der Haut (62%) und der Mundschleimhaut (62%) (Blecha et al., 2013).

Bei der **okulären akuten GVHD** scheinen Interaktionen von Spender-Lymphozyten mit Histokompatibilitäts-Antigenen des Empfängers eine Rolle zu spielen. Im Rahmen der **okulären chronischen GVHD** kommt es typischerweise zur Inflammation im Bereich der Tränendrüse, die zur Obstruktion der Tränendrüsenausführungsgänge und zur Fibrose mit konsekutiver Atrophie des Drüsen-gewebes führt. Für die Fibrose scheinen Fibroblasten mit verantwortlich zu sein (Ogawa et al., 2009). Inflammation und Fibrose finden sich auch im Bereich der Konjunktiva sowie der Lider und Lidkanten. T-Zellen und Makrophagen spielen für die konjunktivale Inflammation und Keratinisierung eine Rolle (Rojas et al., 2005). Th1-assoziierte Chemokine sind in der Konjunktiva von Patienten mit chronischer GVHD nachgewiesen worden (Westekemper et al., 2010).

Bei der okulären chronischen GVHD handelt es sich um eine schwere Augenoberflächenerkrankung mit Keratokonjunktivitis sicca (Ogawa und Kuwana, 2003; Kim et al., 2009), die bei einem großen Teil der Patienten mit persistierender inflammatorischer Aktivität einhergeht (Hessen und Akpek, 2012; Blecha et al., 2013). Typische Befunde sind chronische (teilweisende vernarbende und pseudomembranöse) Konjunktivitis, (persistierende) Hyperämie der Bindehaut, Hornhautstippung, filiforme Keratopathie, (persistierende) Hornhautepitheldefekte und Hornhautulzera, korneale Verdünnung und Vernarbung, Blepharitis mit Teleangiektasien der Lidkante und Veränderungen der Lidhaut (Hypo- und Hyperpigmentierungen, Pseudoptosis) (Kim, 2006; Kim et al., 2009, Hessen und Akpek, 2012; Anderson und Regillo, 2004). In vielen Fällen sind alle drei Phasen des Tränenfilms gestört, wobei 1. die Hyposekretion der Tränendrüse, 2. die verminderte Mukusbildung aufgrund der reduzierten Becherzellzahl und 3. die Störung der Lipidschicht bei Meibomdrüsendysfunktion eine ausgeprägte Be-

netzungsstörung der Augenoberfläche zur Folge haben.

Die okuläre chronische GVHD führt nicht nur zu einer reduzierten Lebensqualität aufgrund der ausgeprägten subjektiven Beschwerden, sondern kann in vielen Fällen die Sehfähigkeit stark herabsetzen und in schweren Fällen auch zur Erblindung führen.

Ein großes Problem stellt das Auftreten von Hornhautkomplikationen in Form von nicht heilenden bzw. rezidivierenden Epitheldefekten und Ulzera dar, die zu bilateralen Hornhautperforationen führen können. Zusätzlich kommt es zu einer Schädigung der kornealen Limbusepithelzellen, so dass die Hornhaut durch Neovaskularisationen und einen konjunktivalen Pannus weiter geschädigt wird. Die perforierende Keratoplastik hat bei Vorliegen einer chronischen GVHD eine sehr schlechte Prognose und ist daher nur sehr eingeschränkt zur Visusrehabilitation bzw. Wiederherstellung der Hornhautintegrität einsetzbar. In einer retrospektiven Studie konnten wir zeigen, dass bei 74% der eingeschlossenen Patienten mit chronischer GVHD eine funktionelle Beeinträchtigung vorlag und 17% schwere Komplikationen wie Hornhaut-Ulzera aufwiesen (Blecha et al., 2013). Bei allen Patienten lag ein NIH (National Institute of Health) Score (Filipovich et al., 2005) von 2 oder höher vor, 57% litten unter einer schweren Keratokonjunktivitis sicca mit ausgeprägten Beschwerden und/oder einem Visusverlust, was zur Einschränkung von Alltagstätigkeiten bzw. der Erwerbsfähigkeit führte (NIH Score von 3) (Blecha et al., 2013).

Im Rahmen der vom US-amerikanischen NIH initiierten Konsensus-Konferenzen wurden in den letzten Jahren Diagnosekriterien der GVHD für klinische Studien publiziert, die durch die österreichisch-deutsch-schweizerischen Konsensus-Konferenz 2009 für die okuläre chronische GVHD zusammengefasst wurden und auch für die klinische Praxis geeignet sind (Dietrich-Ntoukas et al., 2012). Da die bisher verfügbaren Staging-Kriterien nicht das gesamte Spektrum der GVHD-Erkrankung im Bereich der Augen abbilden, wurden im Rahmen der Konsensus-Konferenz neue Staging- und Dokumentations-Kriterien entwickelt, die das Ausmaß der betroffenen okulären Strukturen, den Entzündungsgrad und das Vorhandensein von funktionellen Einschränkungen und/oder Komplikationen mit einbeziehen (Dietrich-Ntoukas et al., 2012). Darüber hinaus wurden Screening-Empfehlungen für Patienten mit allogener HSCT erarbeitet (u. a. Durchführung einer Baseline-Untersuchung vor HSCT und weitere ophthalmologische Untersuchungen zu bestimmten Zeitpunkten nach HSCT), welche ggf. eine frühzeitigere Erkennung der Erkrankung und Einleitung der Therapie ermöglichen (Dietrich-Ntoukas et al., 2012).

Die schwere Augenoberflächenerkrankung von Patienten mit chronischer okulärer GVHD ist aufgrund der ausgeprägten Benetzungsstörung und der häufig persistierenden Entzündungsaktivität oft therapierefraktär. Eine multimodale und interdisziplinäre Therapie – insbesondere unter Einbeziehung der behandelnden Kollegen der Hämatologie – ist daher für die Behandlung von GVHD-Patienten essentiell. Ein besonderer Stellenwert kommt hierbei auch der antiinflammatorischen Therapie (Robinson et al. 2004, Wang et al., 2008, Dastjerdi et al., 2009) sowie der Vermeidung und Behandlung von Komplikationen zu (Couriel et al., 2006; Dietrich-Ntoukas et al., 2012).

Die Evidenz bezüglich der ophthalmologischen Therapie der GVHD ist bisher sehr gering (Dietrich-Ntoukas et al., 2012); hier besteht in Zukunft erheblicher Forschungsbedarf. Darüber hinaus ist die Identifizierung von möglichen Risikofaktoren, die Früherkennung bzw. Prophylaxe und ein besseres Verständnis der Pathogenese der okulären GVHD notwendig, um nach Möglichkeit das Auftreten der Krankheit bzw. schwerer Verlaufsformen zu vermeiden. Diesbezüglich ist nicht nur eine Evaluation der von der Konsensus-Konferenz vorgeschlagenen Screening-Untersuchungen und Staging-Kriterien im Rahmen von multizentrischen prospektiven Studien notwendig sondern auch eine genauere Charakterisierung der Patienten unter Hinzuziehung von histologisch-zytologischen Markern, Zytokinprofilen und hämato-onkologischen Parametern. Hierzu ist eine Etablierung neuer wenig oder nicht invasiver diagnostischer Methoden notwendig. Ergänzend zu diesen Patienten-nahen Studien kann die Verwendung muriner GVHD-Modelle zum Verständnis der Pathogenese und insbesondere bei der Entwicklung neuer anti-entzündlicher Therapiestrategien erheblich beitragen (Steven und Cursiefen, 2013).

Insgesamt wird die okuläre GVHD aufgrund der ansteigenden Patientenzahlen ein Krankheitsbild sein, das in Zukunft ausser in universitären Zentren auch in der niedergelassenen ophthalmologischen Praxis zunehmend präsent sein wird. Aus diesem Grund ist neben der Entwicklung besserer



Abbildung 1

■ Okuläre Manifestationen der chronischen GVHD im Bereich der Lider, der Bindehaut und der Hornhaut:

- a) Pseudoptosis, Teleangiektasien des Lides und posteriore Blepharitis,
- b) Hyperämie (Pfeil) als Zeichen der inflammatorischen Aktivität und Fibrose (Pfeil) der sub tarsalen Bindehaut,
- c) persistierende Erosio corneae (nach Anfärbung mit Fluoreszein und Blaulicht-Beleuchtung),
- d) perforiertes areaktives Hornhautulkus.

Diagnose- und Therapiestrategien auch eine Weiterbildung von Augenärztinnen und Augenärzten im Bereich dieser komplexen Erkrankung von großer Bedeutung.

Weitere Informationen zu GVHD, GVHD-Kompetenzzentren und den Publikationen aus den Arbeitsgruppen der Konsensus-Konferenzen sind unter www.ghvd.de zu finden.

LITERATUR

- Anderson G. A., Regillo C. (2004) Ocular manifestations of graft versus host disease. *Current Opinion in Ophthalmology* 15: 503–7.
- Baird K., Pavletic S. Z. (2006) Chronic graft versus host disease. *Curr Opin Hematol* 13: 426–35.
- Blecha C., Wolff D., Maerker D., Helbig H., Dietrich-Ntoukas T. (2013) Characterization of patients with ocular chronic graft-versus-host disease and evaluation of a new grading scale. *ARVO*.
- Couriel D., Carpenter P. A., Cutler C., et al. (2006) Ancillary therapy and supportive care of chronic graft-versus-host disease: national institutes of health consensus development project on criteria for clinical trials in chronic Graft-versus-host disease: V. Ancillary Therapy and Supportive Care Working Group Report. *Biol Blood Marrow Transplant* 12: 375–96.
- Dastjerdi M. H., Hamrah P., Dana R. (2009) High-frequency topical cyclosporine 0.05% in the treatment of severe dry eye refractory to twice-daily regimen. *Cornea* 28: 1091–6.
- Dietrich-Ntoukas T., Cursiefen C., Westekemper H. et al. (2012) Diagnosis and Treatment of Ocular Chronic Graft-Versus-Host Disease: Report From the German-Austrian-Swiss Consensus Conference on Clinical Practice in Chronic GVHD. *Cornea* 31: 299–310.
- Ferrara J. L., Levine J. E., Reddy P., Holler E. (2009) Graft-versus-host disease. *Lancet* 373: 1550–61.
- Filipovich A. H. (2008) Diagnosis and manifestations of chronic graft-versus-host disease. *Best Pract Res Clin Haematol* 21: 251–7.
- Filipovich A. H., Weisdorf D., Pavletic S. et al. (2005) National Institutes of Health consensus development project on criteria for clinical trials in chronic graft-versus-host disease: I. Diagnosis and staging working group report. *Biol Blood Marrow Transplant* 11: 945–56.
- Hessen M., Akpek E. K. (2012) Ocular graft-versus-host disease. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 12: 540–7.
- Kim S. K., Smith J. A., Dunn J. P. Chronic Ocular Graft versus Host Disease. In: Vogelsang GB, Pavletic SZ (2009) *Chronic Graft Versus Host Disease: Interdisciplinary Management*. New York: Cambridge University Press 199–206.
- Kim S. K. (2006) Update on ocular graft versus host disease. *Curr Opin Ophthalmol* 17: 344–8.
- Lee S. J., Vogelsang G., Flowers M. E. (2003) Chronic graft-versus-host disease. *Biol Blood Marrow Transplant* 9: 215–33.
- Ogawa Y., Shimmura S., Kawakita T. et al. (2009) Epithelial mesenchymal transition in human ocular chronic graft-versus-host disease. *Am J Pathol* 175: 2372–81.
- Ogawa Y., Kuwana M. (2003) Dry eye as a major complication associated with chronic graft-versus-host disease after hematopoietic stem cell transplantation. *Cornea* 22: S19–27.
- Robinson M. R., Lee S. S., Rubin B. I. et al. (2004) Topical corticosteroid therapy for cicatricial conjunctivitis associated with chronic graft-versus-host disease. *Bone Marrow Transplant* 33: 1031–5.
- Rojas B., Cuhna R., Zafraakis P. et al. (2005) Cell populations and adhesion molecules expression in conjunctiva before and after bone marrow transplantation. *Exp Eye Res* 81: 313–25.
- Steven P., Cursiefen C. Anti-inflammatory treatment in dry eye disease. *Klin Monbl Augenheilkd*. 2012 May; 229 (5): 500–5. doi: 10.1055/s-0031-1299519. Epub 2012 May 16. Review.
- Wang Y., Ogawa Y., Dogru M. et al. (2008) Ocular surface and tear functions after topical cyclosporine treatment in dry eye patients with chronic graft-versus-host disease. *Bone Marrow Transplant* 41: 293–302.
- Westekemper H., Meller S., Citak S. et al. (2010) Differential chemokine expression in chronic GVHD of the conjunctiva. *Bone Marrow Transplant* 45: 1340–6.
- Wolff D., Gerbitz A., Ayuk F. et al. (2010) Consensus conference on clinical practice in chronic graft-versus-host disease (GVHD): First-line and topical treatment of chronic GVHD. *Biol Blood Marrow Transplant* 16: 1611–28.
- Wolff D., Bertz H., Greinix H. et al. (2011) The treatment of chronic graft-versus-host disease: consensus recommendations of experts from Germany, Austria and Switzerland. *Dtsch Arztebl Int*; 108: 732–40.

Priv.-Doz. Dr. med. Tina Dietrich-Ntoukas, geboren 1975 in Bremen, ist Oberärztin der Klinik und Poliklinik für Augenheilkunde des Universitätsklinikums Regensburg (Direktor: Prof. Dr. med. Horst Helbig). Das Studium der Humanmedizin absolvierte sie an der Ernst-August-Universität Göttingen mit Auslandsaufenthalten in Großbritannien, Frankreich, in der Schweiz und in Kanada. Die Promotion erfolgte in der Abteilung Histologie bei Prof. Dr. R. Herken am Institut für Anatomie der Ernst-August-Universität Göttingen 2001. Von 2002 bis 2007 war sie als wissenschaftliche Mitarbeiterin an der Augenklinik mit Poliklinik der Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg (Direktor: Prof. Dr. med. Dr. hc mult. G.O.H. Naumann, Prof. Dr. med. F.E. Kruse) tätig. Im Jahr 2007 absolvierte sie die Europäische Facharztprüfung FEBO und erhielt die Anerkennung als Fachärztin für Augenheilkunde. Seit 2008 ärztliche Tätigkeit an der Klinik und Poliklinik für Augenheilkunde des Universitätsklinikums Regensburg; Habilitation und Lehrbefugnis für das Fach Ophthalmologie 2011. Mitglied des GVHD-Kompetenzzentrums des Universitätsklinikums Regensburg unter Leitung von Prof. Dr. E. Holler und Prof. Dr. D. Wolff.

Klinische Schwerpunkte liegen in der konservativen und operativen Therapie von Erkrankungen des vorderen und hinteren Augenabschnittes. Klinische und experimentelle Forschungstätigkeit in der Ophthalmologie mit den Schwerpunkten Integrin-Matrix-Interaktionen, Lymph- und Hämangiogenese, Fibrose-Prozesse, Keratokonjunktivitis sicca, Limbusstammzellen, Amnionmembrantrans-

plantation, Hornhauttransplantation, Graft-versus-host-Reaktion (GVHD).

FÖRDERUNGEN UND AUSZEICHNUNGEN

Forschungsförderung durch IZKF (Erlangen) 2004, durch ELAN (Erlangen) 2006–2007, ReForM (Regensburg) 2009–2010 und durch die Deutsche Ophthalmologische Gesellschaft (DOG) 2011.

2005 Preis der Deutschen Gesellschaft für Intraokularlinsenimplantation und refraktive Chirurgie, 2005 Posterpreis der Deutschen Ophthalmologischen Gesellschaft, 2005 Sicca-Forschungsförderpreis des Ressorts »Trockenes Auge« des Berufsverbandes der Augenärzte (mit C. Cursiefen, C. Jacobi, B. Seitz, U. Schlötzer-Schrehardt, F.E. Kruse), 2007 Publikationspreis des Interdisziplinären Zentrums für Klinische Forschung Erlangen; Gründungsmitglied und derzeit stellvertretende Sprecherin der Arbeitsgruppe Nachwuchs der DOG; 2013–2015 European Leadership Development Programme der SOE (European Society of Ophthalmology).



KONTAKT

Priv.-Doz. Dr. med. Tina Dietrich-Ntoukas

Klinik und Poliklinik für Augenheilkunde
Kompetenzzentrum GVHD
Universitätsklinikum Regensburg
Franz-Josef-Strauss-Allee 11
D-93053 Regensburg
Telefon: 0941 944-9201
Telefax: 0941 944-9245
E-Mail: tina.dietrich@ukr.de



Genetik der altersabhängigen Makuladegeneration

PROF. DR. SASCHA FAUSER

Uniklinik Köln,
Zentrum für
Augenheilkunde

Die altersabhängige Makuladegeneration (AMD) ist eine genetisch komplexe Erkrankung. Die Erblichkeit ist seit langem bekannt und hatte sich in Familien- und Zwillingsstudien herauskristallisiert. Die Erkrankung entsteht durch ein Zusammenspiel mehrerer genetischer Veränderungen und Umweltfaktoren. Im Gegensatz zu anderen komplexen Erkrankungen spielt die Genetik eine große Rolle und ist für etwa 70% des Gesamtrisikos verantwortlich. [1] Das Risiko ist zudem auf relativ wenige Gene verteilt. Auch das unterscheidet die AMD von anderen komplexen Erkrankungen, bei denen viele Gene jeweils oft nur einen geringen Anteil am Erkrankungsrisiko ausmachen. In den letzten Jahren wurden die wichtigsten Risikogene identifiziert. Diese sind vor allem beteiligt am Komplementsystem, der Extrazellulärmatrix und dem Lipidstoffwechsel. [2] Siehe **Tabelle 1**. Zwei Genorte auf Chromosom 1q und auf Chromosom 10q26 machen zusammen über 50% des Gesamtrisikos aus. Auf Chromosom 1q liegt das Komplement-Faktor H (CFH) Gen. CFH ist der wichtigste Regulator des alternativen Weges des Komplementsystems und reguliert die Komplementaktivierung. Polymorphismen im CFH-Gen führen zu einer erhöhten chronischen Aktivierung des alternativen Weges der Komplementkaskade, was sich auch systemisch im Plasma in Markern der Komplementaktivierung widerspiegelt. [3] Auf Chromosom 10q26 ist nicht geklärt, welches von

zwei Genen in dieser Region die AMD verursacht. Beide Gene, ARMS2 und Htra1, sind wahrscheinlich an der Bildung der Extrazellulärmatrix beteiligt. Dies stellt ein häufiges Problem in der Genetik der AMD dar, da die meisten Gene in genomweiten Assoziationstudien (GWAS) gefunden wurden, und damit teilweise weder das verursachende Gen noch dessen pathogenetische Funktion geklärt sind. Htra1 ist eine Serin-Protease und reguliert den Abbau von Proteoglykanen der Extrazellulärmatrix. Zur Entschlüsselung der Funktion von Htra1 haben wir deshalb transgene Tiere erzeugt, die Htra1 im retinalen Pigmentepithel überexprimieren, einem Mechanismus, der auch beim Menschen angenommen wird. Wir konnten zeigen, dass diese erhöhte Aktivität zu einer Schädigung der Elastinschicht in der Bruchschichten Membran führt. Htra1 baut dabei unter anderem Fibulin5 ab, eine entscheidenden Komponente der Elastogenese. [4] Die Integrität der Bruchschichten Membran ist dadurch gestört und eventuell anfällig für Neovaskularisationen.

Die bisher gefundenen genetischen Risikopolymorphismen wurden, wie oben schon angesprochen, in Assoziationstudien gefunden und sind meist häufige Polymorphismen mit einem subtilen pathogenetischen Effekt. Diese werden zudem oft als große Haplotypen in »Blöcken« vererbt, so dass die kausale Veränderung schwierig zu identifizieren ist. Deswegen sind wir an seltenen genetischen Risikovarianten interessiert. Diese haben teilweise einen ausgeprägten Effekt, so dass sich bessere Rückschlüsse auf die Pathogenese der AMD ergeben. Zur genetischen Erforschung der AMD haben wir in den letzten Jahren eine große AMD-Datenbank EUGENDA aufgebaut, die inzwischen etwa 5000 AMD-Patienten und Kontrollpersonen umfasst. Mit deren Hilfe waren wir erst kürzlich an der Entdeckung von seltenen Varianten in zwei Genen des Komplementsystems beteiligt: Komplementfaktor 3 (C3) und Komplementfaktor I (CFI). [5, 6] Eine Mutation in CFI, einem Regulator des Komplementsystems, beeinträchtigt den Abbau von C3b und ist mit einem hohen AMD-Risiko verbunden (Odds ratio = 22.2). Weitere Ergebnisse sind in Kürze aus einer Zusam-

Gen	Funktion
ARMS2	Extrazellulärmatrix
CFH	Komplement
C2/CFB	Komplement
C3	Komplement
APOE	Lipidstoffwechsel
TIMP3	Extrazellulärmatrix
CETP	Lipidstoffwechsel
CFI	Komplement
VEGFA	Angiogenese
LIPC	Lipidstoffwechsel

Tabelle 1

■ Die wichtigsten
AMD-Risikogene

menarbeit mit einem internationalen AMD-Konsortium zu erwarten, in dem über 50000 Patienten und Kontrollpersonen genetisch analysiert werden.

Ein weiteres Forschungsprojekt betrifft die Pharmakogenetik. Dabei geht es um die Einfluss von genetischen Varianten auf das Therapieansprechen. Bei der AMD sind wir interessiert, ob die Therapie mit anti-VEGF Medikamenten wie Lucentis oder Eylea durch genetische Polymorphismen modifiziert wird. Wir haben dabei gezeigt, dass ein kumulativer Effekt von AMD-Risikovarianten in den Genen CFH, ARMS2/Htra1 und VEGFA mit einem früheren Erkrankungsalter an einer exsudativen AMD und einem schlechteren Ansprechen auf Lucentis einhergeht. [7] Zudem haben wir Veränderungen im VEGF-Rezeptor 2 gefunden, die zu einem deutlich besseren Ansprechen auf die Therapie führen. [8] Lucentis bindet hauptsächlich VEGFA, dessen Wirkung wiederum hauptsächlich über den VEGF-Rezeptor-2 vermittelt wird.

Diese Beispiele zeigen, dass mit der genetischen Erforschung der AMD neue Erkenntnisse zur Pathogenese gewonnen werden können. Die Pharmakogenetik könnte in Zukunft helfen, die Therapie noch besser individuell anzupassen.

LITERATUR

1. Seddon J.M., Cote J., Page W.F. et al. The US twin study of age-related macular degeneration: relative roles of genetic and environmental influences. *Arch ophthalmol* 2005; 123: 321–327.
2. Fritsche L.G., Chen W., Schu M. et al. Seven new loci associated with age-related macular degeneration. *Nat genet* 2013; 45: 433–439, 439e431–432.
3. Smailhodzic D., Klaver C.C., Klevering B.J. et al. Risk alleles in CFH and ARMS2 are independently associated with systemic complement activation in age-related macular degeneration. *Ophthalmology* 2012; 119: 339–346.
4. Vierkotten S., Muether P.S., Fauser S. Overexpression of HTRA1 leads to ultrastructural changes in the elastic layer of Bruch's membrane via cleavage of extracellular matrix components. *PLoS one* 2011; 6: e22959.
5. Helgason H., Sulem P., Duwari M.R. et al. A rare non-synonymous sequence variant in C3 confers high risk of age-related macular degeneration. *Nat Genet* 2013 accepted.
6. van de Ven J.P., Nilsson S.C., Tan P.L. et al. A functional variant in the CFI gene confers a high risk of age-related macular degeneration. *Nat Genet* 2013; 45: 813–817.
7. Smailhodzic D., Muether P.S., Chen J. et al. Cumulative effect of risk alleles in CFH, ARMS2, and VEGFA on the response to ranibizumab treatment in age-related macular degeneration. *Ophthalmology* 2012; 119: 2304–2311.
8. Hermann M., Muether P., Smailhodzic D et al. Variants in the VEGFA gene and visual outcome after anti-VEGF treatment for neovascular age-related macular degeneration. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2013; 54: abstract.

Prof. Dr. Sascha Fauser ist Oberarzt mit dem Schwerpunkt vitreoretinale Chirurgie am Zentrum für Augenheilkunde der Uniklinik Köln. Er studierte Medizin an der Universität Tübingen und promovierte dort 1998. Er absolvierte seine Facharztausbildung in Augenheilkunde an den Unikliniken Tübingen und Köln. 2006 wurde er habilitiert und erhielt die *venia legendi* für das Fach Augenheilkunde. Seine Forschungsschwerpunkte sind die altersabhängige Makuladegeneration und die proliferative Vitreoretinopathie.

Prof. Dr. Sascha Fauser

Uniklinik Köln
Zentrum für Augenheilkunde
Kerpener Straße 62
50924 Köln
Telefon: 0221 478 4105
Telefax: 0221 478 5922
E-Mail: sascha.fauser@uk-koeln.de



KONTAKT



Zellbasierte Therapieansätze in Mausmodellen für degenerative retinale Erkrankungen

KAI FLACHSBARTH, WANDA JANKOWIAK, DR. GILA JUNG,
KATHARINA KRUSZEWSKI, CLAUDIA SCHOB,
PROF. DR. GISBERT RICHARD UND PROF. DR. UDO BARTSCH

**Universitätsklinikum
Hamburg-Eppendorf**
Klinik und Poliklinik
für Augenheilkunde,
Experimentelle
Ophthalmologie

Die fortschreitende Degeneration von Photorezeptoren bei Erkrankungen wie der Retinitis pigmentosa (RP) oder der altersbedingten Makuladegeneration (AMD) führt zu gegenwärtig nicht behandelbaren Sehverschlechterungen oder zur Erblindung. Zu den Ansätzen, effektive Behandlungsmöglichkeiten für solche Erkrankungen zu entwickeln, gehören die korrektive Gentherapie, die Implantation von elektronischen Sehprothesen, die Optogenetik, Zellersatzstrategien oder neuroprotektive Therapieansätze. In Tiermodellen für degenerative Netzhauterkrankungen konnten in den letzten Jahren mit diesen Therapieansätzen beeindruckende Ergebnisse erzielt werden, und einige dieser Strategien werden bereits in klinischen Studien evaluiert [1–4].

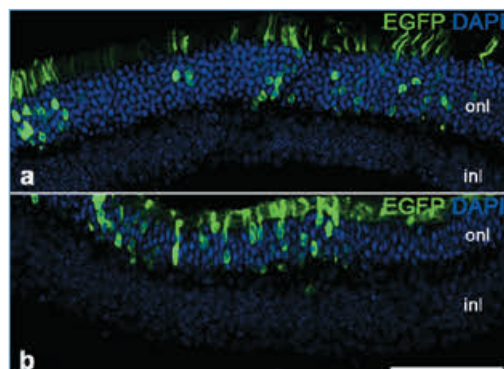
Das Ziel zellbasierter Therapieansätze ist der funktionelle Ersatz von dysfunktionalen oder degenerierten Photorezeptoren oder retinalen Pigmentepithelzellen (RPE Zellen). Über subretinale Transplantationsexperimente an Mäusen konnten wir und andere zeigen, dass Photorezeptor-Vorläuferzellen in der Lage sind, in gesunde und dystrophe Empfänger-Netzhäute zu integrieren und dort in morphologisch normale Photorezeptoren zu differenzieren (**Abb. 1**) [5, 6]. Interessanterweise konnte kürzlich nachgewiesen werden, dass diese Spender-Photorezeptoren funktional sind [7]. Gegenwärtig wird intensiv an Protokollen gearbeitet, die eine effiziente Ablei-

tung von Photorezeptor-Vorläuferzellen aus humanen embryonalen Stammzellen (ES Zellen) und induzierten pluripotenten Stammzellen (iPS Zellen) ermöglichen. In tierexperimentellen Arbeiten wurden außerdem vielversprechende Ergebnisse mit RPE Zellen erzielt, die aus ES Zellen oder iPS Zellen abgeleitet wurden [8]. Bemerkenswerterweise wird das therapeutische Potential von aus humanen ES Zellen abgeleiteten RPE Zellen bereits in ersten klinischen Studien an Patienten mit Morbus Stargardt und trockener AMD untersucht [4].

Neuroprotektive Strategien haben zum Ziel, die Degeneration von Photorezeptoren oder retinalen Ganglienzellen und den damit verbundenen Sehverlust zu verlangsamen oder aufzuhalten. In den letzten 20 Jahren konnten zahlreiche neuroprotektive Faktoren mit einer schützenden Wirkung auf die retinale Morphologie und Funktion identifiziert werden [9, 10]. Da neurotrophe Faktoren kurze Halbwertszeiten aufweisen und die Blut-Retina-Schranke gewöhnlich nicht überqueren können, sind für neuroprotektive Ansätze intraokulare Applikationssysteme erforderlich, mit denen diese Faktoren kontinuierlich und über längere Zeiträume in dystrophe Netzhäute eingeschleust werden können. Dieses Ziel kann beispielsweise durch die genetische Modifikation endogener retinaler Zellen mit viralen oder nicht-viralen Expressionsvektoren oder durch eine intraokulare Transplantation von *ex vivo* modifizierten Zellen mit einer ektopischen Expression neuroprotektiver Faktoren erreicht werden [siehe z. B.: 11, 12, 13]. Eine bereits in klinischen Studien evaluierte Strategie ist die intravitreale Implantation von verkapselten RPE Zellen mit einer Überexpression des neurotrophen Faktors »ciliary neurotrophic factor« (CNTF) in Patienten mit RP oder geographischer Atrophie [14–18]. Dabei schützt die Verkapselung nicht nur die modifizierten Zellen vor dem Immunsystem des Empfängers, sondern auch die Empfänger-Netzhäute vor möglichen negativen Auswirkungen der transplantierten Zellen. Zudem kann die Sekretionsmenge

Abbildung 1

■ Subretinal transplantierte »enhanced green fluorescent protein«- (EGFP) positive Photorezeptor-Vorläuferzellen integrieren in die äußere Körnerschicht (onl) von gesunden (a) und dystrophen Netzhäuten (b) adulter Mäuse und differenzieren in morphologisch normale Photorezeptoren. inl: innere Körnerschicht.



des neurotrophen Faktors vor Implantation der verkapselten Zellen eingestellt und die Zellen im Fall von Komplikationen wieder aus dem intravitrealen Raum entfernt werden. Aufgrund der Größe der verkapselten Zellimplantate ist eine detaillierte Evaluierung und Optimierung dieses zellbasierten neuroprotektiven Ansatzes in den zahlreichen verfügbaren Mausmodellen für degenerative Netzhauterkrankungen allerdings nicht möglich.

Neurale Stammzellen und Vorläuferzellen sind geeignete Zelltypen, um neurotrophe Faktoren lokal und kontinuierlich in dystrophe Netzhäute von Mäusen einzuschleusen. Diese Zellen können *in vitro* effizient expandiert werden, überleben nach Transplantation über lange Zeiträume in den Empfängeräugen, und können bereits ohne vorherige genetische Modifizierung neuroprotektive Effekte auf retinale Zelltypen ausüben [13, 19–22]. Wir haben daher neurale Stammzellen aus dem Gehirn von Mausembryonen isoliert und als adhärent wachsende Kulturen expandiert. Unter diesen Kultivierungsbedingungen bestehen die Kulturen aus reinen Populationen von sich symmetrisch teilenden klonogenen Stammzellen, die Ähnlichkeiten zu neurogenen radialen Gliazellen aufweisen [23]. In Analogie zu den sich kontinuierlich selbsterneuernden ES Zellen wurden diese Zellen NS Zellen (neurale Stammzellen) genannt [23]. Um in diesen Stammzellen verschiedene neuroprotektive Faktoren wie CNTF, brain-derived neurotrophic factor (BDNF), glial cell line-derived neurotrophic factor (GDNF), pigment epithelium-derived neurotrophic factor (PEDF) oder Erythropoetin (Epo) zu exprimieren, wurden die Zellen mit polycistronischen lentiviralen Vektoren transduziert. Diese Vektoren basieren auf den kürzlich beschriebenen »lentiviral gene ontology« (LeGO) Vektoren [24], und kodieren unter Kontrolle des starken und ubiquitär aktiven »CMV enhancer/chicken β -actin« (CAG) Promoters für einen neurotrophen Faktor, ein Resistenz- und ein Reporterprotein (**Abb. 2**).

Um zu überprüfen, ob über intravitreale Transplantationen lentiviral modifizierter NS Zellen funktionell relevante Mengen von neuroprotektiven Faktoren in dystrophe Netzhäute von Mäusen eingeschleust werden können, haben wir uns die starke neuroprotektive Aktivität von CNTF auf Photorezeptoren und retinale Ganglienzellen [2] zunutze gemacht, und dieses Zytokin in NS Zellen exprimiert (CNTF-NS-Zellen; **Abb. 2**). Für Kontrollexperimente wurden die NS Zellen mit einem Kontrollvektor ohne die CNTF cDNA transduziert (Kontroll-NS-Zellen; **Abb. 2**). Aus diesen Kulturen wurden mittels »fluorescence-activated cell sorting« NS Zellen mit der stärksten Expression des Reportergens selektiert und klonal expandiert, um so klonale NS Zelllinien mit einer starken Expression von CNTF zu etablieren. Nach

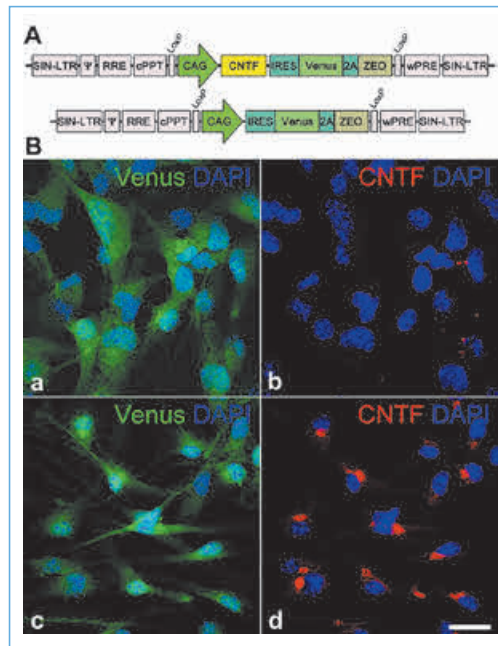


Abbildung 2

(A) NS Zellen wurden mit einem polycistronischen lentiviralen Vektor modifiziert, der unter Kontrolle eines ubiquitär aktiven Promoters (CAG) für CNTF, das Reporterprotein Venus und das Resistenzprotein Zeocin (ZEO) kodiert (oben). Der gleiche Vektor ohne die CNTF cDNA wurde für die Ableitung von Kontroll-NS-Zellen eingesetzt (unten). (B) Kontroll- (a) und CNTF-NS-Zellen (c) exprimieren das Reporterprotein Venus, während CNTF nur in den CNTF-NS-Zellen (d), nicht aber in den Kontroll-NS-Zellen nachweisbar ist (b).

intravitrealen Transplantationen in verschiedene Mausmodelle konnten die modifizierten NS Zellen aufgrund des ko-exprimierten Reportergens in den Empfängeräugen identifiziert und detailliert charakterisiert werden. Die meisten der transplantierten Zellen waren in Astrozyten differenziert, die auf der vitrealen Seite der Netzhäute und der posterioren Seite der Linsen zu finden waren [21]. Bemerkenswerterweise überlebten die Spenderzellen für mindestens vier Monate im intravitrealen Raum der Empfängeräugen, und zeigten über den gesamten Zeitraum eine stabile Expression der Transgene (K.F. und U.B., unveröffentlichte Ergebnisse). Negative Auswirkungen der transplantierten Zellen auf die Morphologie der Empfängerretinazellen wurden nicht beobachtet [21].

Um die neuroprotektiven Effekte der CNTF-NS-Zellen auf Photorezeptoren *in vivo* zu untersuchen, wurden die Zellen intravitreal in *Pde6b^{rd10}* und *Pde6b^{rd10}* Mutanten transplantiert, zwei Mausmodelle für RP mit einer früh einsetzenden und schnell verlaufenden Degeneration der Photorezeptoren [25]. Intravitreale Transplantationen von Kontroll-NS-Zellen in die jeweils kontralateralen Augen dienten als Kontrollen. Die Zellen wurden vor Beginn der Photorezeptor-degeneration transplantiert und die Tiere zu ei-

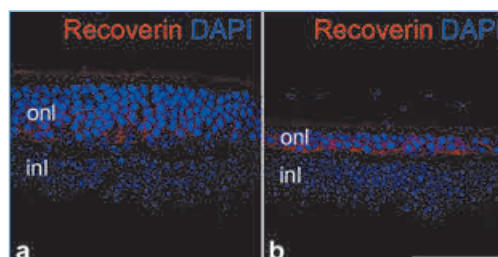
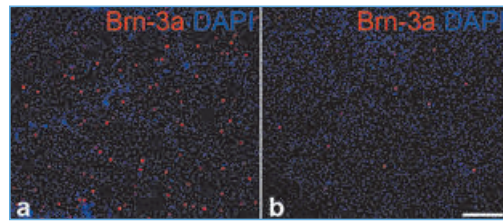


Abbildung 3

In 30 Tage alten *Pde6b^{rd10}* Mutanten war die Zahl von Photorezeptoren in der äußeren Körnerschicht (onl) von Augen mit transplantierten CNTF-NS-Zellen (a) signifikant höher als in den kontralateralen Augen mit transplantierten Kontroll-NS-Zellen (b). inl: innere Körnerschicht.

Abbildung 4

■ Einen Monat nach einer intraorbitalen Läsion des optischen Nerven waren in retinalen »flat mounts« aus Augen mit intravitreal transplantierten glial cell line-derived neurotrophic factor- (GDNF) exprimierenden klonalen NS Zelllinien (a) signifikant mehr *Brn-3a*-positive retinale Ganglienzellen nachweisbar als in Augen mit transplantierten Kontroll-NS-Zelllinien (b).



nem Zeitpunkt analysiert, zu dem die äußere Körnerschicht fast vollständig degeneriert war. In beiden Mausmodellen war die Degeneration der Photorezeptoren in den Augen mit den transplantierten CNTF-NS-Zellen im Vergleich zu den kontralateralen Augen mit den transplantierten Kontroll-NS-Zellen signifikant verzögert (**Abb. 3**) [21]. In der *Pde6b^{rd1}* Mutante waren in den CNTF-behandelten Augen bis zu viermal mehr Photorezeptoren nachweisbar als in den kontralateralen Kontrollaugen. In der *Pde6b^{rd10}* Mutante war die Zahl der Photorezeptoren in den CNTF-behandelten Augen bis zu 2,7-fach höher als in den kontralateralen Kontrollaugen. Dabei war der neuroprotektive Effekt der CNTF-NS-Zellen in allen Bereichen der Empfängernetzhäute nachweisbar und umso ausgeprägter, je stärker CNTF in den verschiedenen transplantierten NS Zelllinien exprimiert wurde [21; unveröffentlichte Ergebnisse]. Laufende Experimente zeigen signifikante neuroprotektive Effekte von klonalen NS Zelllinien mit einer ektopischen Expression von CNTF oder anderen neuroprotektiven Faktoren auf Photorezeptoren in einem Mausmodell für die neuronale Ceroid-Lipofuszinose und auf retinale Ganglienzellen in einem Mausmodell für das Glaukom (**Abb. 4**) und bestätigen damit die Effektivität dieses Stammzell-basierten intraokularen Applikationssysteme.

Insgesamt zeigen die vorliegenden Daten, dass ein funktioneller Ersatz von Photorezeptoren und RPE Zellen durch Zelltransplantationen prinzipiell möglich ist. Lentiviral modifizierte, klonale NS Zelllinien stellen außerdem ein interessantes Werkzeug dar, um die morphologischen und funktionellen Auswirkungen einer zellbasierten kontinuierlichen Applikation von neuroprotektiven Faktoren oder anderen sezernierten und therapeutisch relevanten Genprodukten in Mausmodellen für retinale Erkrankungen zu analysieren.

LITERATUR

- Dagnelie G. Retinal implants: emergence of a multidisciplinary field. *Curr Opin Neurol* 2012; 25: 67–75.
- Wen R., Tao W., Li Y., Sieving P. A. CNTF and retina. *Prog Retin Eye Res* 2012; 31: 136–151.
- Cideciyan A.V. Leber congenital amaurosis due to RPE65 mutations and its treatment with gene therapy. *Prog Retin Eye Res* 2010; 29: 398–427.
- Schwartz S.D., Hubschman J.P., Heilwell G., Franco-Cardenas V., Pan C.K., Ostrick R.M., Mickunas E., Gay R., Klimanskaya I., Lanza R. Embryonic stem cell trials for macular degeneration: a preliminary report. *Lancet* 2012; 379: 713–720.
- Bartsch U., Oriyakhel W., Kenna P.F., Linke S., Richard G., Petrowitz B., Humphries P., Farrar G. J., Ader M. Retinal cells integrate into the outer nuclear layer and differentiate into mature photoreceptors after subretinal transplantation into adult mice. *Exp Eye Res* 2008; 86: 691–700.
- MacLaren R.E., Pearson R.A., MacNeil A., Douglas R.H., Salt T.E., Akimoto M., Swaroop A., Sowden J.C., Ali R.R. Retinal repair by transplantation of photoreceptor precursors. *Nature* 2006; 444: 203–207.
- Pearson R.A., Barber A.C., Rizzi M., Hippert C., Xue T., West E.L., Duran Y., Smith A.J., Chuang J.Z., Azam S.A., Luhmann U.F., Benucci A., Sung C.H., Bainbridge J.W., Carandini M., Yau K.W., Sowden J.C., Ali R.R. Restoration of vision after transplantation of photoreceptors. *Nature* 2012; 485: 99–103.
- Rowland T.J., Buchholz D.E., Clegg D.O. Pluripotent human stem cells for the treatment of retinal disease. *J Cell Physiol* 2012; 227: 457–466.
- Wenzel A., Grimm C., Samardzija M., Reme C.E. Molecular mechanisms of light-induced photoreceptor apoptosis and neuroprotection for retinal degeneration. *Prog Retin Eye Res* 2005; 24: 275–306.
- Johnson T.V., Bull N.D., Martin K.R. Neurotrophic factor delivery as a protective treatment for glaucoma. *Exp Eye Res* 2011; 93: 196–203.
- McGee Sanftner L.H., Abel H., Hauswirth W.W., Flannery J.G. Glial cell line derived neurotrophic factor delays photoreceptor degeneration in a transgenic rat model of retinitis pigmentosa. *Mol Ther* 2001; 4: 622–629.
- Read S.P., Cashman S.M., Kumar-Singh R. POD nanoparticles expressing GDNF provide structural and functional rescue of light-induced retinal degeneration in an adult mouse. *Mol Ther* 2010; 18: 1917–1926.
- Gamm D.M., Wang S., Lu B., Girman S., Holmes T., Birschhoff N., Shearer R. L., Sauve Y., Capowski E., Svendsen C. N., Lund R. D. Protection of visual functions by human neural progenitors in a rat model of retinal disease. *PLoS One* 2007; 2: e338.
- Talbot K.E., Ratnam K., Sundquist S.M., Lucero A.S., Lujan B.J., Tao W., Porco T.C., Roorda A., Duncan J.L. Longitudinal study of cone photoreceptors during retinal degeneration and in response to ciliary neurotrophic factor treatment. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2011; 52: 2219–2226.
- Sieving P.A., Caruso R.C., Tao W., Coleman H.R., Thompson D.J., Fullmer K.R., Bush R.A. Ciliary neurotrophic factor (CNTF) for human retinal degeneration: phase I trial of CNTF delivered by encapsulated cell intraocular implants. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2006; 103: 3896–3901.
- Zhang K., Hopkins J.J., Heier J.S., Birch D.G., Halperin L.S., Albini T.A., Brown D.M., Jaffe G.J., Tao W., Williams G.A. Ciliary neurotrophic factor delivered by encapsulated cell intraocular implants for treatment of geographic atrophy in age-related macular degeneration. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2011; 108: 6241–6245.

17. Kauper K., McGovern C., Sherman S., Heatherton P., Rapoza R., Stabila P., Dean B., Lee A., Borges S., Boucharde B., Tao W. Two-year intraocular delivery of ciliary neurotrophic factor by encapsulated cell technology implants in patients with chronic retinal degenerative diseases. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2012; 53: 7484–7491.
18. Birch D.G., Weleber R.G., Duncan J.L., Jaffe G.J., Tao W. Randomized Trial of Ciliary Neurotrophic Factor Delivered by Encapsulated Cell Intraocular Implants for Retinitis Pigmentosa. *American journal of ophthalmology* 2013.
19. Pressmar S., Ader M., Richard G., Schachner M., Bartsch U. The fate of heterotopically grafted neural precursor cells in the normal and dystrophic adult mouse retina. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2001; 42: 3311–3319.
20. Ader M., Meng J., Schachner M., Bartsch U. Formation of myelin after transplantation of neural precursor cells into the retina of young postnatal mice. *Glia* 2000; 30: 301–310.
21. Jung G., Sun J., Petrowitz B., Riecken K., Kruszewski K., Jankowiak W., Kunst F., Skevas C., Richard G., Fehse B., Bartsch U. Genetically modified neural stem (NS) cells for a local and sustained delivery of neuroprotective factors to the dystrophic mouse retina. *Stem Cells Transl Med*; in press.
22. Meyer J.S., Katz M.L., Maruniak J.A., Kirk M.D. Embryonic stem cell-derived neural progenitors incorporate into degenerating retina and enhance survival of host photoreceptors. *Stem Cells* 2006; 24: 274–283.
23. Conti L., Pollard S.M., Gorba T., Reitano E., Toselli M., Biella G., Sun Y., Sanzone S., Ying Q. L., Cattaneo E., Smith A. Niche-independent symmetrical self-renewal of a mammalian tissue stem cell. *PLoS Biol* 2005; 3: e283.
24. Weber K., Mock U., Petrowitz B., Bartsch U., Fehse B. Lentiviral gene ontology (LeGO) vectors equipped with novel drug-selectable fluorescent proteins: new building blocks for cell marking and multi-gene analysis. *Gene Ther* 2010; 17: 511–520.
25. Chang B., Hawes N.L., Pardue M.T., German A.M., Hurd R.E., Davisson M.T., Nusinowitz S., Rengarajan K., Boyd A.P., Sidney S.S., Phillips M.J., Stewart R.E., Chaudhury R., Nickerson J.M., Heckenlively J.R., Boatright J.H. Two mouse retinal degenerations caused by missense mutations in the beta-subunit of rod cGMP phosphodiesterase gene. *Vision Res* 2007; 47: 624–633.

Prof. Dr. Udo Bartsch, Jahrgang 1959, ist Leiter der Experimentellen Ophthalmologie an der Klinik und Poliklinik für Augenheilkunde des Universitätsklinikums Hamburg-Eppendorf (Direktor: Prof. Dr. med. Gisbert Richard). Nach seinem Biologiestudium an der Universität Bielefeld begann Herr Prof. Bartsch seine Doktorarbeit am Institut für Neurobiologie der Universität Heidelberg, die er 1990 am Institut für Neurobiologie der Eidgenössischen Technischen Hochschule (ETH) in Zürich abschloss. An der ETH Zürich wurde er 1996 habilitiert und erhielt die *Venia legendi* für das Fach Neurobiologie. 1998 wechselte Herr Prof. Bartsch an das Zentrum für Molekulare Neurobiologie (ZMNH) der Universität Hamburg. Seit 2002 ist er Leiter der Experimentellen Ophthalmologie der Klinik und Poliklinik für Augenheilkunde des Universitätsklinikums Hamburg-Eppendorf. Seine Forschungsschwerpunkte lagen auf der funktionellen Bedeutung von Zellerkennungsmolekülen bei Neuron-Glia-Interaktionen, insbesondere bei der Myelinisierung und der axonalen Regeneration von retinalen Ganglienzellen. Der Schwerpunkt seiner gegenwärtigen Forschungsarbeiten liegt auf dem Aufbau und der Evaluierung von Stammzell-basierten Zellersatzstrategien und zellbasierten neuroprotektiven Ansätzen in Mausmodellen für degenerative Netzhauterkrankungen.

FÖRDERUNGEN UND AUSZEICHNUNGEN

Herr Prof. Bartsch war während seines Studiums Stipendiat der Studienstiftung des deutschen Volkes. Nach seinem Studium erhielt er ein Promotionsstipendium der Studienstiftung des deutschen Volkes. Seine Diplomarbeit wurde von der Universität Bielefeld ausgezeichnet. Für seine Doktorarbeit wurde ihm die Silbermedaille der ETH Zürich verliehen. Er ist *ad hoc* Gutachter für verschiedene renommierte neurobiologische und ophthalmologische Fachzeitschriften und von Drittmittelanträgen. Seine Forschungsarbeiten wurden bzw. werden von der Deutschen Forschungsgemeinschaft, dem Bundesministerium für Bildung und Forschung, der Europäischen Kommission, der Pro Retina Stiftung, der Deutschen Ophthalmologischen Gesellschaft, der Dr. Liselotte und Dr. Karl-Robert Brauns Stiftung, der Ernst und Claere Jung Stiftung, der Novartis Pharma GmbH und der Bayer Pharma AG gefördert.



Prof. Dr. Udo Bartsch

Klinik und Poliklinik für Augenheilkunde
Experimentelle Ophthalmologie
Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf
Martinistraße 52
20246 Hamburg
Telefon: 040 741055945
Telefax: 040 741055017
E-Mail: ubartsch@uke.uni-hamburg.de

KONTAKT

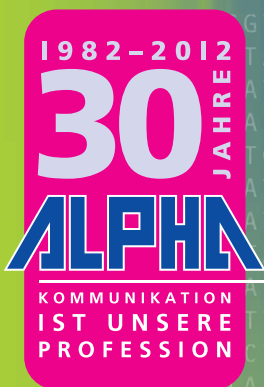


ATG GGT GCT ATT GTG AGG CGG TTG TAG
AAG AGT TTC GTG AGT GCT CGC AGC TCA
TAC CTG TGG CTG TGT ATC CGT GGC CAC
AGC TGG TTG GCG TCG CCT TGA AAT CCC
AGG CCG TGA GGA GTT AGC GAG CCC TGC
TCA CAC TCG GCG CTC TGG TTT TCG GTG
GGT GTG CCC TGC ACC TGC CTC TTC CCC
CAT TCT CAT TAA TAA AGG TAT CCA TGG
AGA ACA CTG AAA ACT CAG TGG ATT CAA
AAT CCA TTA AAA ATT TGG AAC CAA AGA
TCA TAC ATG GAA GCG AAT CAA TGG ACT
CTG GAA TAT CCC TGG ACA ACA GTT ATA
AAA TGG ATT ATC CTG AGA TGG GTT TAT
GTA TAA TAA TTA ATA ATA AGA ATT TTC
ATA AAA GCA CTG GAA TGA CAT CTC GGT
CTG GTA CAG ATG TCG ATG CAG CAA ACC
TCA GGG AAA CAT TCA GAA ACT TGA AAT
ATG AAG TCA GGA ATA AAA ATG ATC TTA
CAC GTG AAG AAA TTG TGG AAT TGA TGC
GTG ATG TTT CTA AAG AAG ATC ACA GCA
AAA GGA GCA GTT TTG TTT GTG TGC TTC
TGA GCC ATG GTG AAG AAG GAA TAA TTT
TTG GAA CAA ATG GAC CTG TTG ACC TGA
AAA AAA TAA CAA ACT TTT TCA GAG GGG
ATC GTT GTA GAA GTC TAA CTG GAA AAC
CCA AAC TTT TCA TTA TTC AGG CCT GCC
GTG GTA CAG AAC TGG ACT GTG GCA TTG
AGA CAG ACA GTG GTG TTG ATG ATG ACA
TGG CGT GTC ATA AAA TAC CAG TGG AGG
CCG ACT TCT TGT ATG CAT ACT GCA CAG
CAC CTG GTT ATT ATT CTT GGC GAA ATT
CAA AGG ATG GCT CCT GGT TCA TCC AGT
CGC TTT GTG CCA TGC TGA AAC AGT ATG
CCG ACA AGC TTG AAT TTA TGC ACA TTC
TTA CCC GGG TTA ACC GAA AGG TGG CAA
CAG AAT TTG AGT CCT TTT CCT TTG ACG
CTA CTT TTC ATG CAA AGA AAC AGA TTC
CAT GTA TTG TTT CCA TGC TCA CAA AAG
AAC TCT ATT TTT ATC ACT AAA GAA ATG
GTT GGT TGG TGG TTT TTT TTA GTT TGT
ATG CCA AGT GAG AAG ATG GTA TAT TTG
GTA CTG TAT TTC CCT CTC ATT TTG ACC
TAC TCT CAT GCT GCA GAG GGT ACT TTA
AGA CAT ACT CCT TCC ATC AAA TAG AAC
CAC TAT GAA GCT ACC TCA AAC TTC CAG
GAT AGT TGC AAT TGA ATT AAA TTA
TAA AAT AAA AAT GGA TAC TGG TGC
TAT TAT GAG AGG CAA TGA TTG TTA
TAC AGC TTT CAT GAT TAG CAA GTT
TGT ATG CTG TGC TAT GAA TTT TCA
TAT TGT GAA AAA GTT AAA CAT TGA
TAT GAA TTT TTA TGA TAT TCC CCC
TAA AGA CTG TGT ATT CTA GTT TTG
TAC TGT AGA AAT GAT GAT GTG GAA
TAT AGG CAT CTG TGG GCA TGG TCA
TCT CAA ACC TTT ATT TTA GAA TTG
TAC ACG GAT GAC TTA ACT GCA TTT
TTA GAC CAT TTA TCT GGG ATT AIG GTT
TTG TGA TGT TTG TCC TGA ACA CTT TTG
TTG TAA AAA AAT AAT AAT AAT GTT TAA
TAT TGA GAA AGA AAC TAA TAT TTT ATG
TGA GAG AAA GTG TGA GCA AAC TAA CTT
GAC TTT TAA GGC TAA AAC TTA ACA TTC
ATA GAG GGG TGG AGT TTT AAC TGT AAG

WISSEN SICHTBAR MACHEN

Kostenreduzierte oder kostenfreie Publikationen helfen, den verfügbaren Rahmen zu entlasten und damit Gelder für andere Bereiche und Aktivitäten freizusetzen. Wir bieten Ihnen die ganze hierzu notwendige Palette – von der Anzeigenakquise über die Satztechnik bis zum fertigen Druckwerk: alles aus einer Hand. Für viele Institutionen sind wir eine feste Größe auf dem Verlagssektor.

Überzeugen Sie sich!



ALPHA Informationsgesellschaft mbH
Finkenstraße 10
68623 Lampertheim
Telefon: 06206-939-0
Telefax: 06206-939-243
E-Mail: info@alphapublic.de
Internet: www.alphapublic.de

Optimierung der lamellären und perforierenden Hornhauttransplantation durch Gen- und Serumtherapie

PRIV.-DOZ. DR. MED. THOMAS A. FUCHSLUGER, FEBO MSC,
DR. MED. KRISTINA SPANIOL, PROF. DR. MED. GERD GEERLING, FEBO

Die Übertragung einer Spenderhornhaut ist bis heute bei vielen Fällen korneal bedingter Erblindung die Therapie der Wahl zur Wiederherstellung der Sehfähigkeit. Obwohl die Hornhauttransplantation nun seit über 100 Jahren durchgeführt wird, beträgt die Überlebensrate einer Spenderhornhaut in Hochrisikosituationen (vaskularisierte Hornhaut, Zustand nach vorangegangener Transplantation o. a.) trotz intensiver lokaler und systemischer Immunsuppression nach fünf Jahren zumeist nur etwa 50% [1, 2]. Das Überleben eines transparenten Hornhauttransplantates hängt entscheidend von der Anzahl der kornealen *Endothelzellen* an der Rückfläche der Hornhaut ab [3]. Diese Zellpopulation verfügt über lediglich minimale proliferative Kapazität, weshalb deren großflächiger Verlust, hervorgerufen durch vorzeitigen Zelluntergang (Apoptose) ein Versagen des Hornhauttransplantats bedingt [4, 5].

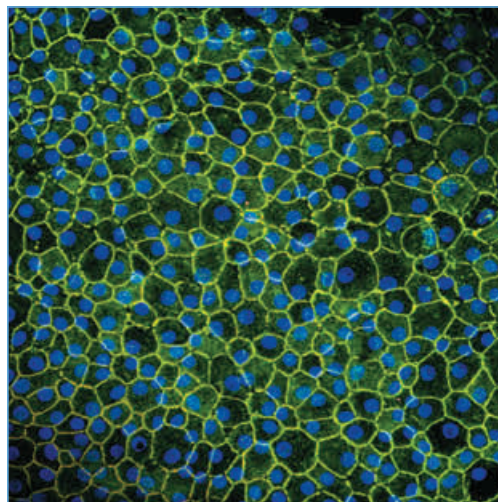
Weiterhin spielt die Integrität des *Epithels*, welches nach Transplantation vom Empfänger über das Spendertransplantat wächst, eine entscheidende Rolle bei der Ausbildung des bestmöglichen funktionellen Ergebnisses [6]: Verheilt das Epithel über dem Transplantat nicht innerhalb kurzer Zeit, entwickeln sich Defekte des Hornhautstromas, welche meist dauerhafte Trübungen des frisch transplantierten Gewebes zur Folge haben. Die Wundheilungstendenz des Epithels ist umso schlechter, je trockener die Augenoberfläche ist [7]. Daher haben Patienten mit einer Graft-versus-Host-Disease nach Knochenmarkstransplantation oder mit Autoimmunerkrankungen wie Sjögren- oder Stevens-Johnson-Syndrom hier schlechte Voraussetzungen.

Zur Verbesserung des Überlebens allogener Hornhauttransplantate werden daher im Labor (noch nicht am Menschen) Gen- und Zelltherapieverfahren angewendet, welche den vorzeitigen Zelluntergang kornealer Endothelzellen verhindern. Zur Verbesserung der Regenerationsfähigkeit des Epithels dient der Einsatz von Serum-Augentropfen welche aus dem eigenen Blut der Patienten

gewonnen und im Labor aufbereitet werden. Im Folgenden stellen wir die beiden innovativen Ansätze die bereits klinisch umgesetzt oder in Vorbereitung für die klinische Praxis stehen vor:

GEN- UND ZELLTHERAPIE ZUM SCHUTZ KORNEALER ENDOTHELZELLEN VOR FRÜHZEITIGEM UNTERGANG

Die Güte einer Hornhaut, ob die des Patienten oder eines Spenders, wird bestimmt durch die Vitalität und morphologische Integrität des endothelialen Monolayers [3]. Durch Herstellung und Aufrechterhaltung eines in Richtung Vorderkammer gerichteten osmotischen Gradienten gewährleisten die Hornhautendothelzellen die Transparenz der Hornhaut. Im Gegensatz zum hochproliferativen kornealen Epithel verfügen korneale Endothelzellen über sehr beschränkte Teilungsfähigkeit. Je älter die Hornhautendothelzellen sind, desto mehr gehen durch apoptotische Prozesse unter. Dies kann durch iatrogene Einflüsse, z.B. im Rahmen einer Kataraktoperation, oder durch angeborene oder erworbene Hornhautpathologien beschleunigt werden.



Augenklinik der
Heinrich-Heine-
Universität
Düsseldorf

Abbildung 1

■ Korneales Endothel, welches mit einem viralem Vektor transfiziert wurde und GFP überexprimiert, in der konfokalen Mikroskopie (Zellgrenzen = ZO-1Anti-körper, Nuclei=ToPro3, Zytosol=GFP)

ANTI-APOPTOTISCHE GENTHERAPIE SCHÜTZT HORNHAUTENDOTHEL VOR UNTERGANG

Die dem Untergang der Endothelzellen zugrunde liegenden apoptotischen Prozesse können durch die Einschleusung von Genen mit anti-apoptotischer Wirkung gebremst oder unterbunden werden. So konnte gezeigt werden, dass Endothelzellen sogar bei Kontakt mit chemischen Apoptoseverursachern ihre physiologische Morphologie und Funktion aufrechterhalten können [8]. Dabei ist es gleichgültig, über welchen Apoptosesignalweg der Zelltod initiiert werden sollte.

VERBESSERUNG DER TRANSPLANTAT-ÜBERLEBENSRATE IM HORNHAUTBANKING UND NACH TRANSPLANTATION

Die Voraussetzung für die Durchführung von Hornhauttransplantationen ist die Einwerbung von Spenderhornhäuten und deren Kultivierung und Überwachung durch Hornhautbanken. Derzeit werden in den Hornhautbanken der *European Eye Bank Association* jährlich zirka 35000 Spenderhornhäute kultiviert, in denen der *Eye Bank Association of America* zirka 100 000. Allerdings muss zirka ein Drittel dieser Transplantate aufgrund von Endothelschäden verworfen werden [1, 2]. Dieser Zelluntergang ist bedingt durch Apoptose [4, 5]. Ein Transfer anti-apoptotischer Gene in Endothelzellen von Spenderhornhäuten verbessert in signifikanter Weise das Endothelüberleben während der Kultivierung [9] (siehe **Abbildung 1**). Während diese Daten bisher im Labor unter Bedingungen wie in einer Hornhautbank erhoben wurden, bedeutete eine Translation in das »Hornhautbanking« durch Minderung der Verwurfsrate eine Steigerung der für die Transplantation verfügbaren Spenderhornhäute.

PROTEKTION VON ENDOTHELZELLEN MITTELS VIRALER VEKTOREN UND NANOPARTIKEL

Zur Übertragung von Genen in Endothelzellen können verschiedene Methoden verwendet werden. Am erfolgversprechendsten ist die Einschleusung mittels viraler Vektoren. Hierfür werden aktuell Vektoren auf Basis von Lentiviren oder adeno-assoziierten Vektoren verwendet [10]. Zur Vermeidung von intrazellulären Rückständen der Vektoren und der Plasmide können u. a. auch Nanopartikel eingesetzt werden. Erstmals erfolgte durch die AG Fuchslugler die Transfektion von Hornhaut-Endothelzellen mittels abbaubarer Kalziumphosphatnanopartikel, welche sich in der Zelle in Kalzium und Phosphat auflösen – natürliche Bestandteile jeder Säugetierzelle [11]. Durch diese innovativen Nanopartikel kann DNA oder

RNA in die Endothelzelle geschleust werden. Weiterhin kann die Aufnahmefähigkeit der Partikel in die Zelle gesteuert werden.

PROTEKTION DES HORNHAUTEPITHELS DURCH SERUM-AUGENTROPFEN (SERUM-AT)

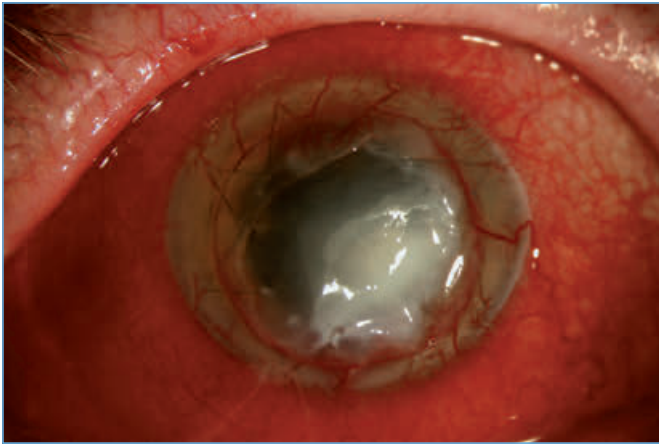
Serum ist der zellfreie Bestandteil des Blutes, der nach Zentrifugation als flüssiger Überstand zurückbleibt. Die Grundlage für die Anwendung von Serum als Augentropfen ist die ähnliche Zusammensetzung von menschlichem Serum und Tränenfilm. Beide enthalten Albumin, Fibronectin, Vitamin A/E und Wachstumsfaktoren in vergleichbaren Konzentrationen [12], fördern – anders als herkömmliche Tränenersatzmittel – die Wundheilung der Augenoberfläche durch Zellmigration und proliferation und wirken antientzündlich [13].

INDIKATIONEN

Seit Fox et al. 1984 erstmalig über den positiven Einfluss von Serum-AT bei persistierenden Epitheldefekten berichteten [14], belegten zahlreiche Studien die Wirksamkeit dieses Ansatzes. Sie werden insbesondere eingesetzt bei persistierendem Epitheldefekt [15] und schweren Formen des trockenen Auges, insbesondere bei Autoimmunprozessen wie bei Stevens-Johnson-Syndrom oder GvHD [16], bei neurotropher Keratopathie [17], Keratopathie bei Aniridie [18] und als adjuvante Therapie nach ophthalmochirurgischen Eingriffen [19, 20].

SERUM-AUGENTROPFEN BEI KERATOPLASTIK

Bei Patienten mit Risikofaktoren für eine gestörte Wundheilung des Auges, wie zum Beispiel Diabetes mellitus, Hornhautdystrophien, trockenem Auge oder Limbusinsuffizienz wurden positive Effekte einer Therapie mit Serum-AT beobachtet. Chen et al. konnten in einer prospektiven Untersuchung an 165 Augen, die eine Keratoplastik erhielten, zeigen, dass eine postoperative Therapie mit Serum-AT zu einer beschleunigten Re-Epithelialisierung des Transplantates – insbesondere bei großem Durchmesser – signifikant besser [6]. Fernando et al. beschreiben in einem Fallbericht die Re-Epithelialisierung eines zuvor über 7 Wochen persistierenden Transplantat-Defektes trotz Amnionmembrantransplantation und Okklusion der Tränenpünktchen mit Hilfe einer zweiwöchigen Serum-AT-Therapie bei einem Patienten mit GvHD [21] (siehe auch **Abbildungen 2 und 3**). Poon et al. berichten über ähnliche Ergebnisse bei Rekeratoplastik wg. persistierender Epitheldefekte bei GvHD und Stevens-Johnson-Syndrom [22].



Nach einwöchiger Therapie mit 50% Serum-AT acht Mal/Tag zeigte sich bei beiden Patienten eine komplette Re-Epithelialisierung. Der Befund verschlechterte sich in beiden Fällen nach Beendigung der Serum-AT-Therapie. In der adjuvanten Therapie nach Hornhautchirurgie haben Serum-AT somit besondere Bedeutung für Patienten mit hohem Risiko für postoperative Wundheilungsstörungen der Augenoberfläche (Autoimmunerkrankung, Diabetes mellitus etc.). Bei nicht heilenden Epitheldefekten ist zusätzlich eine Kombination dieser Therapie mit Verbandkontaktlinsen sinnvoll. Schrader et al. konnten zeigen, dass es bei fünf von sechs Augen mit persistierenden Epitheldefekten – in einem Fall nach Keratoplastik - unter Therapie mit 20% Serum-AT acht Mal/Tag nach 8–14 Tagen zum Epithelschluss kam [23].

RECHTLICHE ASPEKTE, HERSTELLUNG, APPLIKATION

Da Serum-AT ein Blutprodukt sind, unterliegen sie dem Arzneimittelgesetz [24]. Herstellung und Ausgabe von Serum-AT müssen unter sterilen (Reinraum-) Bedingungen erfolgen und bedürfen einer Genehmigung durch die zuständigen Behörden. Zur Erleichterung dieser Prozesse haben Firmen Tropfsysteme entwickelt, die im geschlossenen System, also ohne Reinraum, befüllt werden können. Eine Untersuchung an der Augenklinik Düsseldorf an insgesamt 30 gesunden und visuell oder manuell beeinträchtigten Probanden zeigte jedoch, dass unter Beachtung von Benutzerfreundlichkeit und Preis die herkömmlichen Augentropfflaschen von allen Probanden bevorzugt wurden [Spaniol K. et al., eingereicht].

Im Rahmen einer Kooperation der Augenklinik mit dem Institut für Transplantationsdiagnostik und Zelltherapeutika (ITZ), hat das Universitätsklinikum Düsseldorf eine Herstellungserlaubnis für Serum-AT erhalten. Die Sterilität der Serum-AT wurde über einen Zeitraum von sechs Monaten

gezeigt. Fischer et al. konnten weiterhin nachweisen, dass wichtige Inhaltsstoffe von Serum-AT, wie Wachstumsfaktoren, Vitamin A und E und Albumin, über sechs Monate stabil bleiben [25]. Daher ist es an der Universitätsaugenklinik Düsseldorf möglich eine sechs-Monats-Charge Serum-AT abzugeben, die über die Apotheke auch an den Patienten direkt geliefert wird. Allerdings ist diese Therapie derzeit keine Kassenleistung.

ZUSAMMENFASSUNG

Seit der Einführung der Hornhauttransplantation vor über 100 Jahren wurden im vergangenen Jahrzehnt Meilensteine in der Optimierung der Operationstechnik durchgeführt. Die hier dargestellten protektiven Ansätze sowohl des Epi- als auch des Endothels sind unabhängig der gewählten Transplantationsmethode anwendbar. Deren Umsetzung zielt auf eine weitere Verbesserung des Transplantatüberlebens und auf eine weitere Senkung der Re-transplantationsraten nach Keratoplastik, vor allem in Hochrisikosituationen.

LITERATUR

1. EBAA, Eye Bank Association of America, Registry 2012.
2. EEBA, European Eye Bank Association Directory Ed. 2013.
3. Armitage W.J., Easty D.L. Factors influencing the suitability of organ-cultured corneas for transplantation. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1997; 38: 16–24.
4. Gain P., Thuret G., Chiquet C., Dumollard J.M., Mosnier J.F., Campos L. In situ immunohistochemical study of Bcl-2 and heat shock proteins in human corneal endothelial cells during corneal storage. *Br J Ophthalmol.* 2001; 85: 996–1000.
5. Means T.L., Geroski D.H., Hadley A., Lynn M.J., Edelhauer H.F. Viability of human corneal endothelium following Optisol-GS storage. *Arch Ophthalmol.* 1995; 113: 805–809.
6. Chen Y.M., Hu F.R., Huang J.Y., Shen E.P., Tsai T.Y., Chen W.L. *Am J Ophthalmol.* 2010 Sep; (150): 352–359.e2

Abbildung 2 und 3

■ *Linkes Auge eines 72-j. Patienten mit Z. n. Strahlentrauma nach Erstkeratoplastik ohne Eigenserum-Tropftherapie und 8 Monate nach Re-Keratoplastik, Eigenserum-Tropftherapie, Punctum-Verödung und Mundschleimhauttransplantation.*

7. Fu Y, Liu J, Tseng S.C., Ocular surface deficits contributing to persistent epithelial defect after penetrating keratoplasty. 2012, *Cornea*, 31, 723–9.
8. Fuchsluger T.A., Jurkunas U., Kazlauskas A., Dana R. Corneal endothelial cells are protected from apoptosis by gene therapy. *Hum Gene Ther.* 2011 May; 22 (5): 549–58.
9. Fuchsluger T.A., Jurkunas U., Kazlauskas A., Dana R. Anti-apoptotic gene therapy prolongs survival of corneal endothelial cells during storage. *Gene Ther.* 2011 Aug; 18 (8): 778–87.
10. Fuchsluger T.A., Jurkunas U., Kazlauskas A., Dana R. Viral vectors for gene delivery to corneal endothelial cells]. *Klin Monbl Augenheilkd.* 2011 Jun; 228 (6): 498–503.
11. Hu J, Kovtun A., Tomaszewski A., Singer B.B., Seitz B., Epple M., Steuhl K.P., Ergün S., Fuchsluger T.A. A new tool for the transfection of corneal endothelial cells: calcium phosphate nanoparticles. *Acta Biomater.* 2012 Mar; 8 (3): 1156–63.
12. Geerling G., Hartwig D. Cornea and External Eye Disease. 2006; 1–20.
13. Esquenazi S., He J., Bazan H.E., Bazan N.G. Use of autologous serum in corneal epithelial defects post-lamellar surgery. *Cornea.* 2005 Nov; (24): 992–997.
14. Fox R.I., Chan R., Michelson J.B., Belmont J.B., Michelson P.E. Beneficial effect of artificial tears made with autologous serum in patients with keratoconjunctivitis sicca. *Arthritis Rheum.* 1984 Apr; (27): 459–461.
15. Cho Y.K., Huang W., Kim G.Y., Lim B.S. Comparison of autologous serum eye drops with different diluents. *Curr Eye Res.* 2012 Aug 28.
16. Kojima T., Ishida R., Dogru M., Goto E., Matsumoto Y., Kaido M., Tsubota K. The effect of autologous serum eyedrops in the treatment of severe dry eye disease: a prospective randomized case-control study. *Am J Ophthalmol.* 2005 Feb; (139): 242–246.
17. Matsumoto Y., Dogru M., Goto E., Ohashi Y., Kojima T., Ishida R., Tsubota K. Autologous serum application in the treatment of neurotrophic keratopathy. *Ophthalmology.* 2004 Jun; (111): 1115–1120.
18. Lopez-Garcia J.S., Rivas L., Garcia-Lozano I., Murube J. Autologous serum eyedrops in the treatment of aniridic keratopathy. *Ophthalmology.* 2008 Feb; (115): 262–267.
19. Ciralsky J.B., Sippel K.C., Gregory D.G. Current ophthalmologic treatment strategies for acute and chronic Stevens-Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis. *Curr Opin Ophthalmol.* 2013 May 15.
20. Rocha E.M., Pelegrino F.S., de Paiva C.S., Vigorito A.C., de Souza C.A. GVHD dry eyes treated with autologous serum tears. *Bone Marrow Transplant.* 2000 May; (25): 1101–1103.
21. Fernando A.I., Burton B.J., Smith G.T., Corbett M.C. Autologous serum drop-dependent re-epithelialisation following penetrating keratoplasty in chronic graft vs host disease. *Eye.* 2005 Jul; 19 (7): 823–5.
22. Poon A.C., Geerling G., Dart J.K., Fraenkel G.E., Daniels J.T. Autologous serum eyedrops for dry eyes and epithelial defects: clinical and in vitro toxicity studies. *Br J Ophthalmol.* 2001 Oct; 85 (10): 1188–97.
23. Schrader S., Wedel T., Moll R., Geerling G. Combination of serum eye drops with hydrogel bandage contact lenses in the treatment of persistent epithelial defects. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol.* 2006 Oct; (244): 1345–1349.
24. Geerling G., Grus F., Seitz B., Hartwig D., Schirra F. [Legal regulations to produce serum eye drops : when is it necessary, and how can it be obtained?]. *Ophthalmologie.* 2008 Jul; (105): 632–638.
25. Fischer K.R., Opitz A., Boeck M., Geerling G. Stability of serum eye drops after storage of 6 months. *Cornea.* 2012 Nov; (31): 1313–1318.

KONTAKT



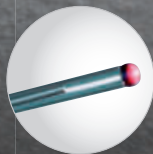
Prof. G. Geerling
 Augenklinik der
 Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf
 Moorenstraße 5
 40225 Düsseldorf
 E-Mail: geerling@med.uni-duesseldorf.de



„ES GIBT NUR EINE!“

360° KANALOPLASTIK BY iSCIENCE

Eine neue, nicht perforierende Methode zur Behandlung des Glaukoms.



iTRACK™ 250A / iLUMIN™
System zur Durchführung der 360° Kanaloplastik



Fritz Ruck Ophthalmologische Systeme GmbH
Tel. +49 (0) 24 03 - 94 55-0 | Fax +49 (0) 24 03 - 94 55-50
info@ruck-gmbh.de | www.ruck-gmbh.de

MEIN PARTNER IN DER AUGENHEILKUNDE.

Höhen-Ophthalmologie – ein Randgebiet der Augenheilkunde von beträchtlicher Bedeutung für die Höhenphysiologie

PROF. DR. MED. FLORIAN GEKELER, DR. MED. GABRIEL WILLMANN UND
PROF. DR. MED. KARL ULRICH BARTZ-SCHMIDT

Department für
Augenheilkunde
der Universität
Tübingen

Medizinische und physiologische Forschung wird schon seit langem unter anderem deswegen durchgeführt, um den Einfluss unterschiedlicher Umgebungsbedingungen auf den menschlichen Organismus besser zu verstehen. Unter diese Art der Forschung fällt auch die Höhenphysiologie, die sich mit der Auswirkung großer Höhe, oft synonym verwendet mit dem Begriff Hypoxie, auf den menschlichen Organismus beschäftigt. Neben diesem eher grundlagenwissenschaftlichem Nutzen für viele Bereiche der Medizin besteht in den letzten Jahren ein verstärktes Interesse, den Einfluss großer Höhe auf den menschlichen Körper besser zu verstehen, da die Anzahl an Menschen, die in große Höhe gelangen bzw. dort leben, beinahe sprunghaft angestiegen ist. Hierzu zählen zum einen Bergsteiger und Trekker, denen der Zugang zu großen Höhen zum Beispiel in Nepal oder Tibet sehr leicht gemacht wurde, aber auch riesige Zahlen von Bergsteigern in den Alpen sowie Piloten oder Arbeiter in Bergmienen in z. B. Chile. Es wurden in den letzten Jahren erhebliche organisatorische und finanzielle Anstrengungen unternommen, das Gebiet der Höhenphysiologie gründlich und mittels neuester klinischer und grundlagenwissenschaftlicher Methoden neu aufzurollen. Ein Beispiel ist die Caudwell Xtreme Everest-Expedition, der es gelang, nur wenig unterhalb des höchsten Gipfels der Erde auf mehr als 8400 m Höhe arterielle Blutgasanalysen zu entnehmen und diese schon wenige Stunden später zu analysieren [1]. Bei den Untersuchungen zeigten sich Sauerstoffsättigungswerte, die bislang mit dem Leben als unvereinbar galten (mittlere Sauerstoffsättigung der Probanden auf 8400 m = 54 %) – und das bei Menschen, die in dieser Höhe noch beim Klettern größten Anstrengungen ausgesetzt sind! Trotz der teilweise spektakulären Erkenntnisse der letzten Jahre konnte die Pathophysiologie der akuten Bergkrankheit bis heute nicht zufriedenstellend geklärt werden [2, 3]. Zur akuten Bergkrankheit (ABK) gehören neben Kopfschmerzen als Hauptsymptom noch Übelkeit, Erbrechen, Schlaflosigkeit, Beeinträchtigungen des Sehvermögens oder periphere Ödeme. Neben der ABK sind vor allem das Höhen-Lungenödem und

das Höhen-Hirnödem von größter Bedeutung, da beide unbehandelt tödlich sind. Die Pathophysiologie dieser beiden höhenbedingten Erkrankungen wurde in den letzten Jahren eingängig untersucht und besser verstanden, dennoch können sie – unvorhersagbar! – jeden ab einer Höhe von ca. 2500 m treffen [4]. – Das Auge wird oft als »sichtbarer Teil des Gehirns« bezeichnet, und tatsächlich sind viele Strukturen – beispielsweise die der Blut-Netzhaut-Schranke und der Blut-Hirn-Schranke – nahezu identisch. Das Auge, und vor allen Dingen die Netzhaut, bieten daher ein einzigartiges »Fenster« zum Gehirn. Dies ist gerade im Hinblick zur Untersuchung möglicher Pathomechanismen der akuten Bergkrankheit und des Höhenhirnödem von großer Bedeutung. Zwar existierten Berichte zu höhenbedingten Veränderungen der Netzhaut aus früheren Jahren, die vor allem die relativ gut bekannten Netzhautblutungen (high altitude retinal hemorrhage, HARR) und entsprechende Auswirkungen im Rahmen der Retinopathie (high altitude retinopathy, HAR) beschrieben [5, 6]. Dennoch wurden die Untersuchungen am Auge mit unschwer portablen und somit leider oft nicht *state of the art*-Untersuchungsgeräten auf Expeditionen durchgeführt und konnten deshalb meist keine quantitativen Auswertungen zulassen. Diese Konstellation war der Anlass für uns, im Jahre 2010 eine prospektive Studie zur Untersuchung des Einflusses großer Höhe auf das visuelle System des Menschen durchzuführen – die *Tübingen High Altitude Ophthalmology* (THAO) Studie (www.thao-project.com). Im August und September 2010 untersuchten 5 Ärzte (4 aus der Universitäts-Augenklinik Tübingen, ein Internist und Höhenmediziner der Universität Heidelberg) in 16 Tagen insgesamt 14 Probanden auf der Capanna Margherita auf 4559 m im Bergmassiv des Monte Rosa (Italien). Die Hütte ist die höchste Berghütte und zugleich das höchste Forschungsgebäude Europas mit nahezu optimalen Untersuchungsbedingungen, da das gesamte dritte Stockwerk für Forschungszwecke eingerichtet und zur Verfügung gestellt werden kann. Modernste Ausrüstung wurde per Helikopter von Zermatt auf die Hütte geflogen, während die Ärzte

und Probanden aus dem Aosta-Tal nach einem bewährten, genau festgelegten und somit standardisierten Aufstiegsprofil über einen Gletscher zur Hütte aufstiegen. Das relativ rasche Aufstiegsprofil mit Erreichen der Hütte innerhalb von 24 h sollte sicherstellen, dass zum Einen alle Teilnehmer den gleichen Bedingungen ausgesetzt waren und zum Anderen, dass möglichst ein bestimmter, aus zahlreichen Vorstudien bekannter Prozentsatz der Probanden von Symptomen der akuten Bergkrankheit betroffen war, damit untersucht werden konnte, welche ophthalmologischen Veränderungen gegebenenfalls mit der akuten Bergkrankheit in Zusammenhang stehen [7]. Sämtliche Untersuchungsgeräte, unter anderem eine komplette Spectralis-HRA/OCT Einheit und HRT3 (Heidelberg Engineering), ein Espion e2-ERG (Diagnosys) und ein Mikroperimeter MP1 (Nidek) wurden zur Untersuchung der Netzhaut in drei Helikopterflügen auf die Hütte transportiert. Dort wurden die zerlegten Geräte zunächst innerhalb von 2 Tagen aufgebaut und kalibriert, bevor am dritten Tag die erste Probandengruppe empfangen und vier Tage lang ganztägig nach einem entsprechend festgelegten Studienprotokoll untersucht wurde.

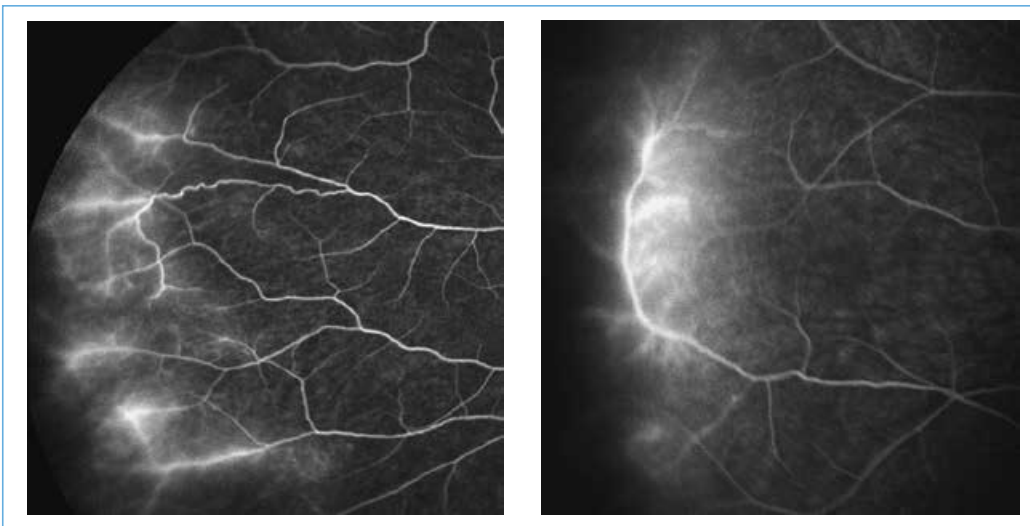
Wie aus Vorstudien im Bereich der Höhenmedizin zu erwarten, wurden auch in unserer Studie 50% der Probanden höhenkrank. An schwerwiegenden allgemeinen Symptomen, insbesondere einem Höhenlungen- oder Höhenhirnödem litt keiner der Probanden und alle ophthalmologischen Veränderungen waren vollständig reversibel. Von den weiteren, sehr umfangreichen Untersuchungen und Datensätzen sollen hier nur die wichtigsten Ergebnisse im Hinblick auf die Netzhaut dargestellt werden. – Erstmals konnte ein *spectral domain* HRA-OCT in großer Höhe zur Durchführung einer Fluoreszein-Angiographie und quantitativen Analyse der Netzhautschichten angewandt werden. In der Fluoreszein-Angiographie zeigten 7 von 14 Probanden 1 Tag nach Erreichen der For-

schungsstation deutliche Leckagen, vor allem in der weiten Peripherie der temporalen Netzhaut; diese Arbeiten wurden im offiziellen Journal der *American Medical Association* (JAMA) veröffentlicht und so einer sehr großen und breiten Leserschaft zugänglich gemacht [8]. Von Bedeutung ist dabei, dass es sich bei den 7 Probanden nicht um die Probanden mit akuter Bergkrankheit handelte. Somit konnte zum ersten mal der Nachweis erbracht werden, dass vieles gegen die Hypothese spricht, dass die akute Bergkrankheit pathophysiologisch eine Vorstufe des lebensbedrohlichen Höhenhirnödems darstellt oder überhaupt, dass ein vasogenes Ödem mit der Entwicklung der ABK ursächlich in Zusammenhang steht. Das gut bekannte Bild der HAR muss durch diese Leckagen ergänzt werden. – Ein weiterer Hinweis, dass die akute Bergkrankheit möglicherweise getrennt von dem Höhenhirnödem betrachtet werden muss, konnten die Messungen der Papille mittels der HRT zeigen [9]. Obwohl es zu einer signifikanten Zunahme der stereometrischen Parameter der Papille im Sinne einer deutlichen bilateralen Papillenschwellung bei 79% der Probanden kam, zeigte sich keine Korrelation zwischen der Schwere der Veränderungen und dem Grad der akuten Bergkrankheit, welche mit dem AMS-C (*acute mountain sickness cerebral*) und dem *Lake Louise score* erfasst wurden [10].

Anders präsentierten sich Messungen der zentralen Netzhaut im Bereich der Fovea mittels OCT: im Vergleich zu den Untersuchungen auf Meereshöhe (Tübingen, 341 m) zeigte sich keine Zunahme der Foveadicke in Form einer Wassereinlagerung in der Höhe – interessanterweise jedoch eine sehr geringe wenn auch signifikante Abnahme der Foveadicke von 5 μm , was sich auch in der unverändert guten Sehschärfe der Probanden widerspiegelte und die auch durch das entstandene Hornhautödem unbeeinträchtigt blieb [11]. Im Gegensatz dazu konnte jedoch eine leichte

Abbildung 1

■ Zwei Beispiele von Leckagen in der temporal oberen Peripherie von Probanden unter akuter Höhenexposition. Bei insgesamt 7 von 14 Probanden traten Leckagen auf, bei 7 von 14 Symptome der akuten Bergkrankheit. Die Leckagen bzw. retinalen Ödeme traten jedoch völlig unabhängig von Symptomen der akuten Bergkrankheit auf; so zeigten nur 3 der 7 Probanden mit Bergkrankheit auch Leckagen. Dies spricht gegen die weit verbreitete Hypothese, dass vasogene Ödeme im Gehirn, dessen sichtbaren Teil das Auge in vielerlei Hinsicht darstellt, verantwortlich sind für die Entstehung dieser Erkrankung. Die Pathophysiologie der akuten Bergkrankheit ist damit nach wie vor unentschlüsselt.



Dickenzunahme der perifovealen Netzhaut im Grenzbereich zur vaskulären Zone gesehen werden [12]. Funktionell zeigten sich in der Mikroperimetrie keine Veränderungen in der Makula. Im Gegensatz dazu konnten jedoch die Messungen im Ganzfeld ERG deutliche Veränderungen aufzeigen. Vor allem Zellpopulationen verantwortlich für Phototransduktion und visuelle Prozessierung waren beeinträchtigt [13].

Zusammenfassend kann gesagt werden, dass wir mittels dieser weltweit einzigartigen Studie mit *state of the art*-Geräten in der Lage waren, höhenbedingte Veränderungen des visuellen Systems und insbesondere der Netzhaut mittels quantitativer Analysen exakt zu beschreiben und zum ersten mal überhaupt die Existenz lange postulierter, höhenbedingter Leckagen der Netzhautgefäße zu zeigen. Dadurch konnte mittels dieser ersten Studie ein wichtiger Beitrag zum grundlagenwissenschaftlichen Verständnis von höhenbedingten Veränderungen am Auge für das Fachgebiet Ophthalmologie geleistet werden.

LITERATUR

- Grocott M.P., Martin D.S., Leveff D.Z., McMorrow R., Windsor J., et al. (2009) Arterial blood gases and oxygen content in climbers on Mount Everest. *N Engl J Med* 360: 140–149.
- Hackett P.H., Roach R.C. (2001) High-altitude illness. *N Engl J Med* 345: 107–114.
- Bailey D.M., Bartsch P., Knauth M., Baumgartner R.W. (2009) Emerging concepts in acute mountain sickness and high-altitude cerebral edema: from the molecular to the morphological. *Cell Mol Life Sci* 66: 3583–3594.
- Bartsch P., Swenson E.R. (2013) Clinical practice: Acute high-altitude illnesses. *N Engl J Med* 368: 2294–2302.
- Frayser R., Houston C.S., Bryan A.C., Rennie I.D., Gray G. (1970) Retinal hemorrhage at high altitude. *N Engl J Med* 282: 1183–1184.
- McFadden D.M., Houston C.S., Sutton J.R., Powles A.C., Gray G.W., et al. (1981) High-altitude retinopathy. *Jama* 245: 581–586.
- Schneider M., Bernasch D., Weymann J., Holle R., Bartsch P. (2002) Acute mountain sickness: influence of susceptibility, preexposure, and ascent rate. *Med Sci Sports Exerc* 34: 1886–1891.
- Willmann G., Fischer M.D., Schatz A., Schommer K., Gekeler F. (2013) Retinal vessel leakage at high altitude. *JAMA* 309: 2210–2212.
- Willmann G., Fischer M.D., Schatz A., Schommer K., Messias A., et al. (2011) Quantification of optic disc edema during exposure to high altitude shows no correlation to acute mountain sickness. *PLoS One* 6: e27022.
- Roach R., Bartsch P., Hackett P., Oelz O. (1993) The Lake Louise AMS Scoring Consensus Committee. The Lake Louise acute mountain sickness scoring system. In: Sutton J.R., Coates G., Huston C.S., eds.
- Willmann G., Schatz A., Zhou A., Schommer K., Zrenner E., et al. (2013) Impact of acute exposure to high altitude on anterior chamber geometry. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 54: 4241–4248.
- Fischer M.D., Willmann G., Schatz A., Schommer K., Zhou A., et al. (2012) Structural and Functional Changes of the Human Macula during Acute Exposure to High Altitude. *PLoS One* 7: e36155.
- Schatz A., Willmann G., Fischer M.D., Schommer K., Messias A., et al. (2013) Electroretinographic assessment of retinal function at high altitude. *J Appl Physiol*.

KONTAKT

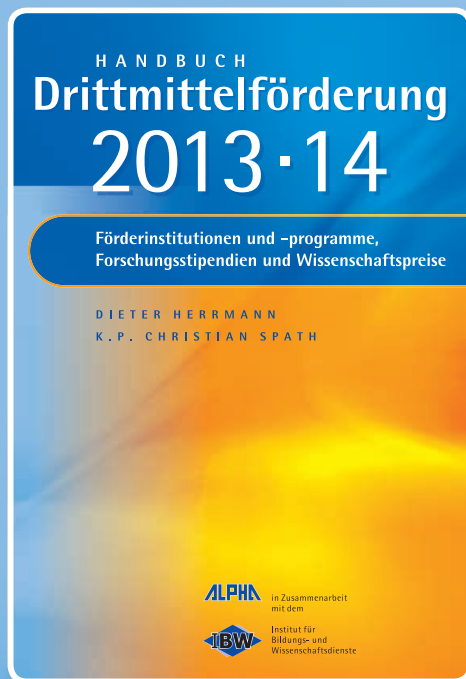


Prof. Dr. med. Florian Gekeler ist Arbeitsgruppenleiter der THAO Studie und Ärztlicher Direktor der Augenklinik, Klinikum Stuttgart, Katharinenhospital; E-Mail: f.gekeler@klinikum-stuttgart.de

Dr. med. Gabriel Willmann ist Assistenzarzt und Projektleiter der THAO Studie an der Universitäts-Augenklinik, Tübingen; E-Mail: gabriel.willmann@med.uni-tuebingen.de

Prof. Dr. med. Karl Ulrich Bartz-Schmidt ist Ärztlicher Direktor der Universitäts-Augenklinik Tübingen, Tübingen; E-Mail: u.bartz-schmidt@uni-tuebingen.de

Wer fördert was?



Drittmittel spielen in Wissenschaft und Forschung eine zentrale Rolle. Die ALPHA Informationsgesellschaft hat auf 560 Seiten die aktualisierte Dokumentation aller Fördermöglichkeiten für Wissenschaft und Forschung für 2013-2014 herausgegeben. Experten mit jahrzehntelanger Erfahrung in der staatlichen und außeruniversitären Forschungsverwaltung haben ein umfassendes Nachschlagewerk erstellt, das alle Förderquellen aufzeigt und für jede Art von Antragsstellung und Bewerbung wichtige Ratschläge gibt.

Handbuch Drittmittelförderung 2013-2014 Dr. Dieter Herrmann und Dr. K. P. Christian Spath

Der Ratgeber kann zum Preis von 19,90 EUR unter der ISBN-Nummer 978-3-9815271-0-0 über den Buchhandel bezogen werden – oder direkt vom Verlag:

ALPHA Informationsgesellschaft mbH
Susanna Paulin
Finkenstraße 10 · 68623 Lampertheim
Telefon: (0 62 06) 939-210
Telefax: (0 62 06) 939-243
E-Mail: paulin@alphapublic.de

HAAG-STREIT SURGICAL HS Hi-R NEO 900

OP-Visualisierung neu erleben. HAAG-STREIT SURGICAL präsentiert mit dem HS Hi-R NEO 900 ein Operationsmikroskop der Premium-Klasse:

- Optik und Tiefenwahrnehmung auf höchstem Niveau
- 25 mm Stereo-Basis für perfekte Visualisierung
- Displayanzeige aller relevanten Funktionen
- modularer Aufbau zur Integration von Tocular, Eibos 2 und MIOS 4
- optional vorbereitet für Intraoperatives OCT (NIR)
- **NEU:** HD-Kamera HS C.MOR



Erleben Sie das HS Hi-R NEO 900: DOG in Berlin, 19.-22. September 2013

HAAG-STREIT Stand: ECC / A.34

Korrelation von molekulargenetischem Risikoprofil und Radiosensitivität von Aderhautmelanom Zelllinien

THEODORA GKIKA¹, PROF. DR. PHIL. NAT. GEORGE ILIAKIS²,
PD DR. MED. GERASSIMOS ANASTASSIOU¹,
DR. RER. NAT. MICHAEL ZESCHNIGK³, PROF. DR. MED. NORBERT BORNFELD¹

**1 Augenklinik,
Abteilung für
Erkrankungen
des hinteren
Augenabschnittes**
Universitätsklinikum
Essen, Universität
Duisburg-Essen

**2 Institut für
medizinische
Strahlenbiologie**
Universitätsklinikum
Essen, Universität
Duisburg-Essen

**3 Institut für
Humangenetik**
Universitätsklinikum
Essen, Universität
Duisburg-Essen

Das Aderhautmelanom ist der häufigste primäre intraokulare maligne Tumor im Erwachsenenalter. Die mittlere Inzidenz beträgt in Deutschland 10,0 pro 1 Million Einwohner [1]. Das Aderhautmelanom differenziert sich schon sehr früh in einem niedrig- oder hochmalignen Tumor. Die Monosomie des Chromosoms 3 ist einer der wichtigsten prognostischen Faktoren, der mit hohem Metastasierungsrisiko und mit einer infausten Prognose assoziiert ist [2].

Die First-Line-Behandlung der Aderhautmelanome ist die Bestrahlung. Mindestens 50% der Patienten, die wegen eines ausgedehnten Aderhautmelanoms bestrahlt wurden, haben eine hohe okuläre Morbidität nach Therapie. Daher sind regelmäßige augenärztliche Kontrollen sowie eine rechtzeitige Behandlung der strahlenbedingten Komplikationen zwingend erforderlich [3]. Das hat eine enorme Auswirkung auf die Lebensqualität dieser Patienten, die in 27,9% der Fälle als Angstsyndrom und in 23,4% der Fälle als Depression sich äußert [4].

Die Diagnose des Aderhautmelanoms wird durch die klinische Untersuchung gestellt. Die histologische und molekulargenetische Tumorklassifizierung ist nicht erforderlich für die Behandlung und für das Screening zum Ausschluss einer Metastase. Allerdings, falls eine Materialgewinnung erwünscht oder erforderlich sein sollte, ermöglicht die 25G pars plana Vitrektomie eine transconjunctivale nahtlose Biopsie des Aderhauttumors. Das Aderhautmelanom kann in 2 Kategorien von hohem und niedrigem Malignitätsgrad eingeteilt werden, die durch zytogenetische und molekulargenetische Untersuchungen charakterisiert werden können. Zurzeit werden alle Aderhautmelanome ähnlich behandelt, wobei es möglich sein könnte die Behandlung zu den Malignitätsgrad anzupassen um die okuläre Morbidität zu verringern und die lokale Tumorkontrolle zu verbessern.

Eine klinische Studie hat gezeigt, dass die initiale Regressionsrate nach Brachytherapie von Aderhautmelanomen mit einem erhöhten Metastasierungsrisiko korreliert [5]. Aderhautmelanome mit

Monosomie 3 könnten sich von den Tumoren mit Disomie 3 unterscheiden was die Radiosensitivität betrifft. Um die Radiosensitivität zwischen den Zellen mit Monosomie und Disomie 3 zu vergleichen wurden in-vitro Klon-Überlebensassays durchgeführt. Die Zelllinien, die bei diesen Experimenten benutzt wurden, wurden in der Universitätsaugenklinik Essen, etabliert. Alle Zelllinien wurden direkt von dem extrahierten Tumorgewebe der Patienten präpariert und nach ihrem Chromosomstatus charakterisiert. Die Zelllinien wurden als UPMM (uveal primary melanoma with monosomy 3) und UPMD (uveal primary melanoma with disomy 3) bezeichnet und in chronologischer Folge deren Etablierung nummeriert [6].

Um die Wachstumseigenschaften der neu etablierten Zelllinien zu untersuchen sowie zur Qualitätskontrolle wurden in regelmäßigen Abständen Wachstumskurven durchgeführt. Wachstumskurven sind wichtig um eine optimale routinemäßige Subkultivierung sowie experimentelle Protokolle zu konzipieren, weil die Verhaltensweise und die biochemische Eigenschaften der Zellen in verschiedenen Phasen des Zellzyklus sich ändern [7]. Die Zelldichte und Zellgröße der Suspension wurden mit Hilfe eines elektronischen Partikelzählers gemessen. Eine Probe wurde zusätzlich zur FACS-Analyse (fluorescence activated cell sorting analysis) geschickt. Die Daten dieser Messungen wurden mit dem SigmaPlot (Systat Software Inc.) Programm analysiert und evaluiert. Der Zellzahl, die Zellgröße und die Phasen des Zellzyklus wurden gegen der Tagen, dass die Zellen in Kultur waren, aufgezeichnet. Hinsichtlich der Ergebnisse dieser Experimenten, wurde die Passage der UPMD1 und der UPMD2 Zelllinie alle 6 Tage mit einem Wechsel des Mediums am 5. Tag durchgeführt, und erfolgte durch die Inokulation von 5×10^5 Zellen in 100mm Petrischalen mit 15 ml Wachstumsmedium. Bei der UPMM1 Zelllinie, wurde die Subkultivierung in der selben Konzentration, alle 9 Tage, nach einem Wechsel des Mediums am 7. Tag, durchgeführt.

Vor der Durchführung umfangreichen Klon-Überlebensassays für jede Zelllinie waren Plattie-

Plattierungseffizienztests erforderlich um die Bedingungen, unter welche die Zellen Kolonien bilden zu optimieren. Ein definierter Anzahl an Zellen wird in Kultur angelegt und anschließend für einen definierten Zeitraum inkubiert. Jede einzelne Zelle teilt sich mehrmals und bildet eine Kolonie. Der optimaler Zellzahl, der plattiert werden soll, der Zeitraum in dem die Kolonien wachsen, und die Häufigkeit des Mediumswechsels, sind für die Optimierung der Plattierungseffizienz erforderlich. Der Begriff Plattierungseffizienz wird bezeichnet als der Prozentanteil der Zellen, die in Kultur angelegt wurden und Kolonien gebildet haben. Die Plattierungseffizienz (PE) wird nach folgender Formel berechnet: $PE = (\text{Kolonienzahl} / \text{Zahl der angelegten Zellen}) \times 100$ [8].

Bei der Klon-Überlebensassays wird ein definierter Zellzahl, der bei einer bestimmten Röntgenstrahlung exponiert war, in Kultur angelegt und dann für einen definierten Zeitraum inkubiert. Danach werden die Kolonien mit einer 0,75 % Methanol-Chrysal-Violett Lösung fixiert und gefärbt und die mit über 50 Zellen werden unter dem Mikroskop gezählt. Die Überlebensfraktion wird nach folgender Formel berechnet: $\text{Überlebensfraktion (Surviving Fraction - SF)} = \text{Kolonienzahl} / (\text{Zahl der angelegten Zellen} \times (\text{PE}/100))$ [8].

Primäre Ergebnisse der Plattierungseffizienztests zeigten, dass die Kolonien fixiert und gefärbt werden sollten, nach einer Inkubationszeit von 2 Wochen für die UPMD1 Zelllinie, 3 Wochen für die UPMD2 Zelllinie und 4 Wochen für die UPMM1 Zelllinie. Die Plattierungseffizienz und die Überlebensfraktion wurden dann mit den oben genannten Formeln berechnet, und die Überlebensfraktion wurde mit dem Sigmaplot Programm (Systat Software Inc.) gegen die Bestrahlungsdosis aufgetragen um die Überlebenskurve zu generieren. Die Überlebensfraktionen der drei Zelllinien waren bis zu einer Dosis von 3 Gy vergleichbar. Bei 4 Gy war die Überlebensfraktion der UPMM1 mit der UPMD2 Zelllinie vergleichbar, und niedriger verglichen mit der UPMD1 Zelllinie. Insbesondere bei 4 Gy lag die Überlebensfraktion der UPMD1, UPMD2 und UPMM1 Zelllinien bei 0,04685, 0,00485 und 0,0067.

Intrinsische und extrinsische Faktoren können auf die Radiosensitivität malignen Zellen einwirken. Der wichtigste Faktor bei der Bestimmung der Reaktion eines Tumors auf Bestrahlung ist die Radiosensitivität der eigenen Tumorzelle [9]. Die Klon-Überlebensassay wird als Standardtechnik für die Beurteilung der intrinsischen zellulären Radiosensitivität, bzw. der zellulären Reaktion auf Bestrahlung, angesehen.

Es gab viele Bestrebungen die in vitro Radiosensitivität von Zelllinien, die aus primären Tumoren entstanden sind, mit der klinischen Reaktion des

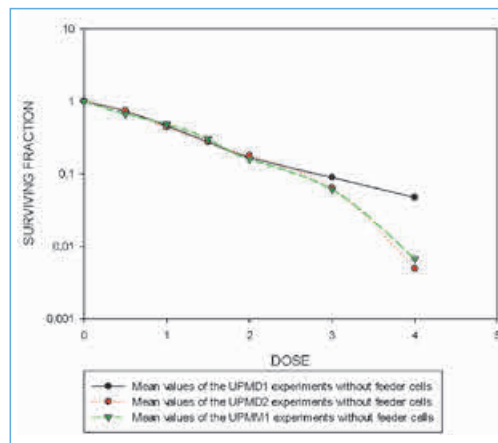


Abbildung 1

■ Kumulative Ergebnisse der Überlebensfraktionen der UPMD1, UPMD2, UPMM1 Zelllinien.

primären Tumors zu korrelieren. Laut umfangreichen Studien korreliert die klinische Reaktion des primären Tumors mit der Steilheit der Anfangsneigung der Überlebenskurve, und wird durch SF_2 (Surviving Fraction at 2 Gy) gekennzeichnet. Die Eigenschaften der Überlebenskurven in höheren Dosierungen korrelierten nicht mit dem klinischen Ergebnis [10, 11].

Die Klon-Überlebensassays der UPMD und UPMM Zelllinien haben keine Variation der Überlebensfraktion im niedrigen Dosisbereich (0–3 Gy) nachgewiesen. Unsere Ergebnisse zeigen also keinen Unterschied bezüglich der inhärenten zellulären Radiosensitivität zwischen den Zelllinien. Die Variation der Überlebensfraktion bei 4 Gy kann durch diese Reihe von Experimenten nicht erklärt werden, scheint jedoch nicht klinisch signifikant zu sein. Weitere Studien sind allerdings erforderlich um unsere Ergebnisse zu bekräftigen und deren Bedeutung weiter herauszuarbeiten.

Andere Faktoren, die das Ansprechen des Tumors auf die Bestrahlung beeinflussen, sind der Sauerstoffgehalt und das proliferative Potential des Tumors [8]. Diese Faktoren könnten die Diskrepanz zwischen unsere in vitro Überlebenskurven und die Ergebnisse der klinischen Studie erklären. Weitere Experimente in dieser Richtung sind allerdings erforderlich um den Effekt dieser Parameter zu erforschen. Dadurch wäre es möglich die Bestrahlungsdosis an den speziellen Eigenschaften des primären Tumors anzupassen, um die strahlenbedingte Komplikationen im Verlauf zu verringern sowie den Endvisus und die Lebensqualität dieser Patienten zu verbessern.

LITERATUR

1. Lommatzsch P.K., Staneczak W., Bernt H. [Epidemiologic study of new cases of intraocular tumors in East Germany 1961–1980]. *Klin Monbl Augenheilkd* 1985; 187 (6): 487–92.

2. Prescher G., Bornfeld N., Hirche H., et al. Prognostic implications of monosomy 3 in uveal melanoma. *Lancet* 1996; 347 (9010): 1222–5.
3. Puusaari I., Heikkonen J., Kivela T. Ocular complications after iodine brachytherapy for large uveal melanomas. *Ophthalmology* 2004; 111 (9): 1768–77.
4. Chabert S., Velikay-Parel M., Zehetmayer M. Influence of uveal melanoma therapy on patients' quality of life: a psychological study. *Acta Ophthalmol Scand* 2004; 82 (1): 25–31.
5. Kaiserman I., Anteby I., Chowers I., et al. Post-brachytherapy initial tumour regression rate correlates with metastatic spread in posterior uveal melanoma. *The British journal of ophthalmology* 2004; 88 (7): 892–5.
6. Nareyck G., Zeschnigk M., Bornfeld N., et al. Novel cell lines derived by long-term culture of primary uveal melanomas. *Ophthalmologica. Journal international d'ophtalmologie. International journal of ophthalmology. Zeitschrift für Augenheilkunde* 2009; 223 (3): 196–201.
7. Mather J.P., P.E. R. Growth curves and measuring cell growth. New York: Plenum Press, 1998.
8. Hall E.J., Giaccia A.J. Radiobiology for the radiobiologist. 6 ed. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins, 2006.
9. Gerweck L.E., Vijayappa S., Kurimasa A., et al. Tumor cell radiosensitivity is a major determinant of tumor response to radiation. *Cancer research* 2006; 66 (17): 8352–5.
10. Deacon J., Peckham M.J., Steel G.G. The radioresponsiveness of human tumours and the initial slope of the cell survival curve. *Radiother Oncol* 1984; 2 (4): 317–23.
11. Feril B., Malaise E.P. Intrinsic radiosensitivity of human cell lines is correlated with radioresponsiveness of human tumors: analysis of 101 published survival curves. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1985; 11 (9): 1699–707.



Frau Theodora Gkika ist Fachärztin der Augen-
klinik, Abt. für Erkrankungen des hinteren
Augenabschnitts des Universitätsklinikums
Essen. Sie hat an der Nationalen und Kapo-
distrien Universität in Athen studiert. 2005 er-
hielt sie die deutsche Approbation und seit
2006 arbeitet sie als wissenschaftlicher Mitar-
beiter in der Augenklinik des Universitätsklini-

kums Essen. In den Zeitraum von 2006 bis
2011 arbeitete sie zusätzlich an einem experi-
mentellen Forschungsprojekt der Augenklinik
in Kooperation mit der Strahlenbiologie des
Universitätsklinikums Essen über die Radio-
sensitivität von Aderhautmelanomen. Sie er-
hielt 2012 die Anerkennung als Fachärztin für
Augenheilkunde.

KONTAKT



Theodora Gkika

Fachärztin der Augenklinik
Abt. für Erkrankungen
des hinteren Augenabschnitts
Universitätsklinikum Essen
Hufelandstraße 55
45122 Essen
Telefon: 0201 72385567
E-Mail: theodora.gkika@uk-essen.de

Durch

Werbung

immer einen Zug voraus!

ALPHA

Informationsgesellschaft mbH ■ Finkenstraße 10 ■ 68623 Lampertheim
Tel.: 06206 939 220 ■ Fax: 06206 939 232 ■ E-Mail: info@alphapublic.de ■ www.alphapublic.de

Dieter Mann GmbH
Ophthalmochirurgische Systeme

30
JAHRE
1983-2013



Die innovativen Lasermodelle IQ 577 und IQ 532: für die aktuellen Therapieempfehlungen und für das „MicroPulse™“-Konzept



MicroPulse™
„Fovea-Friendly™“ MicroPulse™
Lasertherapie*

Gewebeschonende Laserbehandlung¹

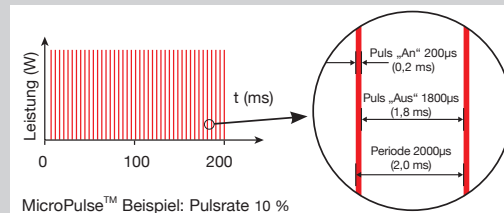
OD, Prä-OP, VA 20-60, CRT: 400 µm

OD, 3 Wochen Post-OP, VA 20-50, CRT: 159 µm

Abb.: Dr. Aaron Appiah

* Optional
¹Luttrull JK, Sramek C, Palanker D, Spink CJ, Musch DC. Long-term safety, high-resolution imaging, and tissue temperature modeling of subvisible diode micropulse photocoagulation for retinovascular macular edema. Retina 2012;32(2):375-86.

Der Laser für die konventionelle CW Laser Photokoagulation ist die Basis für einen „Plug and Play“ Ausbau, über „MicroPulse™“ bis zum Multi-Spot Scanning Laser.



Die erste Ausbaustufe ist der „MicroPulse™“ Modus, mit dem ohne chorioretinale Laserschädigung eine Stressreaktion erzeugt wird, die günstige intrazelluläre,

biologische Faktoren hervorruft, die anti-angiogenetisch wirken und wiederherstellend sein können.

Die Endausbaustufe stellt die Verwendung des TxCell Adapters dar, mit dem konventionelle oder mikropulste Laserbehandlung ausgeführt und zusätzlich Scanning Muster appliziert werden können.

Die Laser sind nach dem IRIDEX Standard gebaut:

- Übereinstimmung der abgegebenen Leistung mit der Voreinstellung
- Rechteckprofil mit homogener Wärmeverteilung und
- lückenlose Sicherheit.



Kabelloser Fußschalter mit Leistungsregelung.



Lasertisch ohne Bodenplatte für Rollstuhlpatienten geeignet.

Kunden orientiert. Kompetent. Auf dem neuesten Stand.

Dieter Mann GmbH
Ophthalmochirurgische Systeme
Am Glockenturm 6, 63814 Mainaschaff

Telefon +49-(0) 60 21-3 10 20, Fax -96 03 37
E-Mail: info@dieter-mann-gmbh.de
Internet: www.dieter-mann-gmbh.de

zielsicher

FLOXAL[®]
Ofloxacin 0,3%



Seit **12** Jahren
die Nr. 1*

BAUSCH + LOMB
See better. Live better.

* IMS Dataview S01A, 2012

Funktionelle Analyse der neuronalen Signalverarbeitung in der Retina

PROF. DR. TIM GOLLISCH, PROF. DR. HANS HOERAUF

Nachdem sich im Bereich der Grundlagenforschung eine große Anzahl retinologisch ausgerichteter Arbeitsgruppen mit den äußeren Netzhautschichten und dem retinalen Pigmentepithel beschäftigt, liegt der Fokus der experimentellen Ophthalmologie an der Augenklinik der Universitätsmedizin Göttingen auf der Verarbeitung visueller Signale im neuronalen Netzwerk der inneren Retina, also durch Bipolarzellen, Amakrinzellen und Ganglienzellen. Dabei werden die unterschiedlichen zellulären und synaptischen Eigenschaften der Nervenzellen in der Netzhaut untersucht und ihre genauen Funktionen im Sehvorgang charakterisiert. Hieraus leitet sich als weitere zentrale Fragestellungen der Arbeitsgruppe ab, wie diese Funktionen durch verschiedene Erkrankungen, genetische Modifikationen oder unter pharmakologischen Therapien beeinflusst werden. Damit leistet die Arbeitsgruppe einen wesentlichen Beitrag zum DFG-geförderten Sonderforschungsbereich 889 »Zelluläre Mechanismen sensorischer Verarbeitungen« in Göttingen.

Das neuronale Netzwerk der Retina verarbeitet die Lichtsignale, welche durch die Photorezeptoren aufgenommen werden. Die in den Lichtsignalen enthaltene visuelle Information wird schließlich durch retinale Ganglienzellen, die Ausgabeneurone der Retina, in Form von elektrischen Pulsen kodiert; die Zellen »feuern« Aktionspotentiale

und leiten diese über ihre Axone entlang des optischen Nervs an unterschiedliche Hirnareale weiter. Die visuelle Verarbeitung in der Netzhaut zeichnet sich durch ein hohes Maß an Diversität in den einzelnen neuronalen Zellklassen aus [1]. Beispielsweise können je nach Tierart zehn und zwanzig Subtypen an Ganglienzellen differenziert werden, die sich anatomisch und physiologisch voneinander unterscheiden und verschiedene Funktionen in der Verarbeitung visueller Information wahrnehmen [2]. So lassen sich Subtypen identifizieren, die Farbinformationen kodieren oder spezifisch auf bestimmte Bewegungsmuster von Objekten im Sichtfeld reagieren [3, 4]. Für die Mehrzahl an neuronalen Subtypen in der Retina ist jedoch noch unklar, welche spezifischen Funktionen sie ausüben.

Die Vielfalt an Zelltypen ist ein entscheidender Aspekt für eine funktionelle Analyse der gesunden, wie auch der pharmakologisch beeinflussten, genetisch modifizierten oder anderweitig pathologischen Retina. So ist ein Verständnis dieser Vielfalt aus der Perspektive der Grundlagenforschung von besonderem Interesse. Welche unterschiedlichen Funktionen für das visuelle System nehmen die diversen Zelltypen wahr? Welche Unterschiede in der neuronalen Verschaltung und in den intrinsischen physiologischen Eigenschaften der Zellen führen zu den unterschiedlichen funktionellen Ausprägungen? Von praktischer Be-

Klinik für
Augenheilkunde
Universitätsmedizin
Göttingen

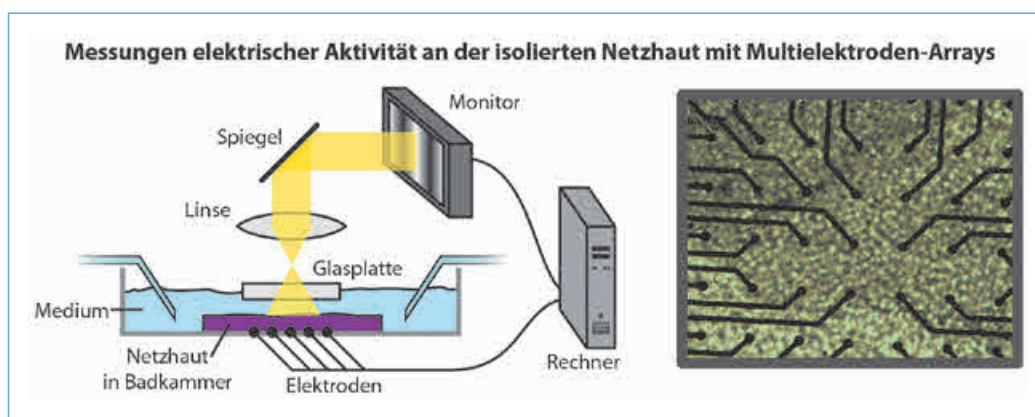


Abbildung 1

Links: Schematische Darstellung der Versuchsanordnung zur Messung von Aktionspotentialen in der Retina mittels Multielektroden-Arrays. Rechts: Mikroskopbild einer Salamander-Netzhaut auf einem Multielektroden-Array.

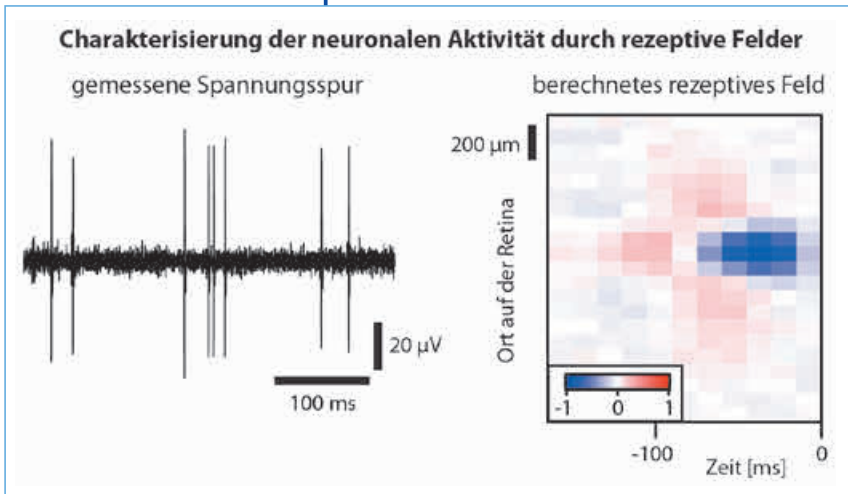


Abbildung 2

■ Gemessene Spannungsspur einer Ganglienzelle in einer Maus-Retina mit mehreren Aktionspotentialen (links) und anhand der Korrelation mit einem Flicker-Reiz berechnetes raumzeitliches rezeptives Feld (rechts) mit Präferenzbereichen für negativen (blau) und positiven Kontrast (rot).

deutung ist darüber hinaus die neuronale Vielfalt in der Retina aus anwendungsorientierter Perspektive. Wie können die funktionellen Auswirkungen pharmakologischer Eingriffe oder genetischer Modifikationen trotz der intrinsischen Variabilität der Zelleigenschaften effizient ermittelt werden?

Als eine geeignete Methode zur Untersuchung dieser Fragen im Tiermodell haben sich elektro-physiologische Messungen an isolierten Netzhäuten mittels Multielektroden-Arrays erwiesen [5]. Diese Multielektroden-Arrays haben typischerweise bis zu einigen hundert, in derzeit in Entwicklung befindlichen Modellen auch über tausend Messelektroden, die jeweils die Aktionspotentiale einzelner Ganglienzellen erfassen können. Übliche Modellsysteme sind dabei Netzhäute von Nagern und Amphibien, aber auch gelegentlich von Primaten oder menschlichen Spendern. Die isolierten und mit der Ganglienzell-Seite auf die Multielektroden-Arrays aufgebraachten Netzhäute werden mit geeigneten Medien umspült, die eine Versorgung mit Nährstoffen und Sauerstoff, sowie eine Einstellung des pH-Wertes und der Ionenkonzentrationen der Umgebung ermöglichen. Gleichzeitig wird die Photorezeptor-Seite mit visuellen Reizen stimuliert, die beispielsweise über einen Computermonitor projiziert werden, sodass in dieser Konfiguration die visuell induzierten Aktionspotentialmuster einiger hundert Ganglienzellen über mehrere Stunden aufgenommen werden können (**Abbildung 1**).

Die simultane Messung der Aktivität vieler Ganglienzellen erlaubt eine gute Abdeckung der unterschiedlichen Subtypen dieser Zellen auch mit einer geringen Zahl an Experimenten. So ließen sich beispielsweise die Folgen eines fehlenden synaptischen Strukturproteins auf die Lichtsensitivität in der Netzhaut von Mäusen bestimmen [6] trotz der erheblichen Unterschiede in der Sensitivität der einzelnen Ganglienzell-Subtypen. Auch konnte mit dieser Methode der Erfolg einer

Gentherapie bei Achromatopsie im Tiermodell mit nur wenigen behandelten Tieren auf der Ebene der Ganglienzellen nachgewiesen werden [7]. Ein weiterer wichtiger Aspekt der simultanen Messung vieler Ganglienzellen ist, dass sie eine Analyse konzentrierter Antwortmuster von Ganglienzellen ermöglichen, beispielsweise der relativen zeitlichen Struktur der Aktionspotentiale in Gruppen von Ganglienzellen [8].

Auch die Klassifizierung der Zellen in unterschiedliche Subtypen wird durch die Messung vieler Zellen in einzelnen Netzhäuten vereinfacht, wenn auch exakte Zuordnungen der Zellen zu bekannten Subtypen anhand der gemessenen physiologischen Eigenschaften bisher nur in Einzelfällen möglich sind. Hier gibt es eine Reihe von Bestrebungen, um die Klassifizierungsstrategien zu verbessern, so etwa durch neue Ansätze in der Datenanalyse (»Clustering-Algorithmen«) [9–11] und durch die Verwendung neuartiger visueller Reize in den Experimenten, welche die Typ-spezifischen Eigenschaften stärker zum Vorschein kommen lassen sollen. Eine umfassende, robuste Methode zur physiologischen Klassifizierung von Ganglienzellen würde es erlauben, funktionelle Untersuchungen und Vergleiche zwischen gesunden und modifizierten Netzhäuten auf Zelltyp-spezifische Weise durchzuführen und damit der neuronalen Variabilität in der Netzhaut entgegenzuwirken.

Ein häufig verwendeter Ansatz zur Zelltyp-Klassifizierung erfolgt über die Bestimmung der rezeptiven Felder einzelner Ganglienzellen, das heißt der Regionen auf der Netzhaut und der zugehörigen Zeitfenster, in denen Lichteinfall das Auftreten von Aktionspotentialen in einer jeweiligen Ganglienzelle beeinflusst. Eine elegante Methode, ein solches raum-zeitliches rezeptives Feld zu bestimmen, besteht in der Verwendung von Korrelationsanalysen, welche als visuellen Reiz ein räumliches und zeitliches Flickern verwenden (»white-noise analysis«) und dieses mit den dadurch ausgelösten Aktionspotentialen einer Zelle in Beziehung setzen [12, 13]. Das resultierende rezeptive Feld weist die Zeitfenster und Regionen auf der Netzhaut aus, die das Auftreten eines Aktionspotentials beeinflussen (**Abbildung 2**). In einer zentralen Region reagieren die Zellen meist entweder auf Zunahme der Lichtintensität (positiver Kontrast, »On« Zellen) oder auf Verdunkelung (negativer Kontrast, »Off« Zellen), und diese Region ist räumlich und zeitlich umgeben von Bereichen mit umgekehrter Kontrast-Präferenz. Die Details dieser Strukturen bilden nützliche Unterscheidungskriterien zwischen unterschiedlichen Subtypen an Ganglienzellen.

Diverse Arbeiten aus der jüngeren Vergangenheit haben jedoch gezeigt, dass die rezeptiven Felder oftmals nur ein unzureichendes Bild über die

Funktion der gemessenen Zellen liefern. So hat sich herausgestellt, dass Ganglienzellen sich in der Art und Weise unterscheiden können, wie sie Lichtreize innerhalb ihrer rezeptiven Felder kombinieren und dadurch beispielsweise besonders sensitiv reagieren auf entweder kleine, kontrastreiche Objekte oder auf große, homogene Objekte, selbst bei geringem Kontrast [14]. Zudem unterscheiden sich Ganglienzellen darin, wie sie bei sich ändernden Kontrastverhältnissen ihre Empfindlichkeit für visuelle Reize anpassen [15–17]. Während bei einigen Ganglienzellen diese Kontrastadaptierung immer die Signalverarbeitung im gesamten rezeptiven Feld zu beeinflussen scheint, gibt es andere Ganglienzellen, deren Sensitivität innerhalb des rezeptiven Feldes lokal an den visuellen Kontrast angepasst wird [18].

Diese Arbeiten unterstreichen die modulare Struktur des neuronalen Netzwerkes der Retina. Die Diversität in den Schaltkreisen und in den physiologischen Eigenschaften der Zellen führt zu unterschiedlichen Eigenschaften bezüglich der Kodierung visueller Reize. Detaillierte Untersuchungen der visuellen Signalverarbeitung in der Retina mittels Multielektroden-Arrays geben somit Einblick in die funktionelle Organisation der Retina. Die derzeit laufenden Forschungsprojekte im Labor zur Charakterisierung der neuronalen Vielfalt in der Retina legen zudem eine Grundlage für spätere Analysen der Auswirkung bestimmter Medikamente auf diese Strukturen.

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. Barlow H.B., Hill R.M., Levick W.R. Retinal ganglion cells responding selectively to direction and speed of image motion in the rabbit. *J Physiol* 1964; 173: 377–407.
4. Ölveczky B.P., Baccus S.A., Meister M. Segregation of object and background motion in the retina. *Nature* 2003; 423: 401–408.
5. Meister M., Pine J., Baylor D.A. Multi-neuronal signals from the retina: acquisition and analysis. *J Neurosci Methods* 1994; 51: 95–106.
6. tom Dieck S., Specht D., Strenzke N., Hida Y., Krishnamoorthy V., Schmidt K.F., Inoue E., Ishizaki H., Tanaka-Okamoto M., Miyoshi J., Hagiwara A., Brandstätter J.H., Löwel S., Gollisch T., Ohtsuka T., Moser T. Deletion of the presynaptic scaffold CAST reduces active zone size in rod photoreceptors and impairs visual processing. *J Neurosci* 2012; 32: 12192–12203.
7. Michalakis S., Mühlfriedel R., Tanimoto N., Krishnamoorthy V., Koch S., Fischer M.D., Becirovic E., Bai L., Huber G., Beck S.C., Fahl E., Büning H., Paquet-Durand F., Zong X., Gollisch T., Biel M., Seeliger M.W. Restoration of cone vision in the CNGA3-/- mouse model of congenital complete lack of cone photoreceptor function. *Mol Ther* 2010; 18: 2057–2063.
8. Gollisch T., Meister M. Rapid neural coding in the retina with relative spike latencies. *Science* 2008; 319: 1108–1111.
9. Carcieri S.M., Jacobs A.L., Nirenberg S. Classification of retinal ganglion cells: a statistical approach. *J Neurophysiol* 2003; 90: 1704–1713.
10. Farrow K., Masland R.H. Physiological clustering of visual channels in the mouse retina. *J Neurophysiol* 2011; 105: 1516–1530.
11. Marre O., Amodei D., Deshmukh N., Sadeghi K., Soo F., Holy T.E., Berry M.J., 2nd Mapping a complete neural population in the retina. *J Neurosci* 2012; 32: 14859–14873.
12. Chichilnisky E.J. A simple white noise analysis of neuronal light responses. *Network* 2001; 12: 199–213.
13. Samengo I., Gollisch T. Spike-triggered covariance: geometric proof, symmetry properties, and extension beyond Gaussian stimuli. *J Comput Neurosci* 2013; 34: 137–161.
14. Bölinger D., Gollisch T. Closed-loop measurements of iso-response stimuli reveal dynamic nonlinear stimulus integration in the retina. *Neuron* 2012; 73: 333–346.
15. Chander D., Chichilnisky E.J. Adaptation to temporal contrast in primate and salamander retina. *J Neurosci* 2001; 21: 9904–9916.
16. Kim K.J., Rieke F. Temporal contrast adaptation in the input and output signals of salamander retinal ganglion cells. *J Neurosci* 2001; 21: 287–299.
17. Smirnakis S.M., Berry M.J., Warland D.K., Bialek W., Meister M. Adaptation of retinal processing to image contrast and spatial scale. *Nature* 1997; 386: 69–73.
18. Garvert M.M., Gollisch T. Local and global contrast adaptation in retinal ganglion cells. *Neuron* 2013; 77: 915–928.



KONTAKT



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 Aufenthalten am Weizmann Institut 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
Robert-Koch-Straße 40
37075 Göttingen
Telefon: 0551 396776
Telefax: 0551 396787
E-Mail:
tim.gollisch@med.uni-goettingen.de



KONTAKT



Prof. Dr. Hans Hoerauf, FEBO, MBA ist Direktor der Augenklinik an der Universitätsmedizin Göttingen. Seine klinischen und wissenschaftlichen Schwerpunkte liegen im Bereich der Er-

krankungen des hinteren Augenabschnitts. Nach seiner Facharztausbildung an der Augenklinik der Universität Schleswig-Holstein Campus Lübeck und seiner Habilitation über neue Glaskörperersatz-Substanzen baute er dort als C3-Professor und Leitender Oberarzt weitere Forschungsgebiete in enger Zusammenarbeit mit Mitarbeitern des damaligen Laserzentrums in Lübeck auf. Neben Erbium-YAG-Laserbehandlungen der Netzhaut hat er sich mit grundlegenden Arbeiten zur Optischen Kohärenztomographie beschäftigt.

Prof. Dr. Hans Hoerauf

Klinik für Augenheilkunde
Universitätsmedizin Göttingen
Robert-Koch-Straße 40
37075 Göttingen
Telefon: 0551 396776
Telefax: 0551 396787
E-Mail: hanshoerauf@yahoo.com

IVI MANAGER

Die Organisationslösung für intravitreale Injektionen

Zeit sparen, Kontrolle behalten und Qualität sichern

- ✓ Dokumentations- und Verwaltungsoptimierung
- ✓ Alle Formulare auf einen Blick
- ✓ Alle Daten an einem Ort
- ✓ Übersichten der Anträge und Therapien
- ✓ Formularausfüllkontrolle/-Hilfe
- ✓ Datenauswertungen
- ✓ Vollständigkeitskontrolle



Der IVI Manager wurde an der Universitätsaugenklinik Göttingen entwickelt. Die innovative Software optimiert die Dokumentationsqualität der intravitrealen Injektionen.



ifa systems AG
Mail: info@ifasystems.de
Web: www.ifasystems.de
Tel.: +49-2234-933670

**Subskriptionspreis bis
30.09.2013**

Paradigmenwechsel in der Glaukomchirurgie?

Überlegungen zur Wirkungsweise von konventionellen und neuen Glaukomoperationen

PROF. DR. MED. DR. H.C. FRANZ GREHN

Universitäts-
Augenklinik Würzburg

ZIELSETZUNG

In den letzten Jahren wurde eine Vielfalt an Glaukomoperationen entwickelt, die einen Vergleich bezüglich Wirkung und Nebenwirkungen erfordern. Bisher sind allerdings die wenigsten von ihnen einem (optimalerweise randomisierten prospektiven) Vergleich mit einer Kontrollgruppe unterzogen wurden. Diese Übersicht soll eine Einordnung von traditionellen und neu entwickelten Glaukomoperationen geben. Zum besseren Verständnis werden deshalb einige Überlegungen zur prinzipiellen Wirkungsweise der einzelnen Verfahren besprochen. In der Arbeit wird versucht, aufgrund der Überlegungen zur Wirkungsweise von verschiedenen Glaukomeingriffen zu neuen Konzepten zu gelangen.

ALLGEMEINE ÜBERLEGUNGEN ZUM WIRKUNGSMECHANISMUS VON GLAUKOMOPERATIONEN

Der Augeninnendruck entsteht aus einem Gleichgewicht zwischen Kammerwasserzufluss und Kammerwasserabfluss. Die Höhe des Augeninnendrucks wird physiologisch und bei Glaukom bekanntermaßen nahezu ausschließlich durch den Abflusswiderstand reguliert und nicht durch den Zufluss (Kammerwasserproduktion). Die Natur bedient sich hierzu einer Serie von Widerständen. Diese sind: (1) das zirkulär verlaufende Trabekelwerk (ca. 10–15 mm² innere Oberfläche), (2) der Schlemm Kanal, (3) die Kollektorkanälchen und (4) die episkleralen Venen. Über den trabekulären Abflusswiderstand beim Glaukom gibt es umfangreiche Befunde. Hierbei ist zwar der Widerstand im Trabekelwerk am besten untersucht, dieser ist aber durchaus nicht der allein wirksame Widerstand. Über die Pathologie des Abflusswiderstandes jenseits des Trabekelwerks, also des Schlemm Kanals und der Kollektorkanälchen, ist dagegen wenig bekannt.

Zunächst stellt sich die Frage, warum die Natur den Abflusswiderstand auf eine so große Fläche des Trabekelwerks und so viele nachgeschaltete

Kanalstrukturen verteilt. Möglichweise wird dadurch eine bessere Adaptation an physiologische Schwankungen des Abflusswiderstandes erreicht, diese können so also besser »gedämpft« werden. Bezüglich des Schlemm Kanals lässt sich klinisch bei der Gonioskopie durch die unregelmäßige Pigmentierung des Trabekelwerks erkennen, dass der Schlemm Kanal offensichtlich nur regional und nicht immer zirkulär durchströmt wird. Es ist durchaus denkbar, dass der Schlemm Kanal beim Erwachsenen und beim primären Offenwinkelglaukom einen nennenswerten Abflusswiderstand aufbaut. Hierfür spricht der Befund, dass der Schlemm Kanal bei der Kanaloplastik des älteren Erwachsenen mit dem Katheter oft schwerer sondierbar ist als der Kanal von Säuglingen bei der 360° Katheter-Trabekulotomie. Über die Widerstände der Kollektorkanäle ist noch weniger bekannt, insbesondere, wieviel bei Glaukom das umfangreiche Netzwerk zu dem Widerstand beiträgt. Der Widerstand in den episkleralen Venen wird offensichtlich durch den Venendruck der abführenden orbitalen Venen mitbestimmt.

Glaukomoperationen können im Prinzip alle oder nur einzelne Abflusswiderstände ersetzen. So ersetzt die Trabekulektomie alle vier oben genannten Widerstände durch einen einzigen, nämlich den durch die Nähte des Skleradeckels, später zusätzlich durch den Widerstand der Subconjunctiva. Für Schlauchimplantate (mit und ohne »Ventil«) gilt Entsprechendes. Nicht-penetrierende Verfahren haben zunächst das Ziel, einen Teilwiderstand im Trabekelwerk zu erhalten, wobei der Widerstand im Schlemm Kanal nicht (Tiefe Sklerektomie), oder zusätzlich teilweise (Viskokanalostomie) bzw. über die ganze Zirkumferenz (Kanaloplastik) verbessert werden soll.

»ERFOLG« VON GLAUKOMOPERATIONEN

Der Erfolg einer Glaukomoperation wird zunächst nach der erreichten Augeninnendrucksenkung bewertet (primärer Endpunkt). Nebenwirkungen und Komplikationen sind ein weiteres wichtiges

Erfolgskriterium. Als funktioneller Parameter wird meist die Sehschärfe angegeben, während der Verlauf des Gesichtsfeldes schwieriger zu bewerten ist. Eine vergleichende Beurteilung der Glaukomoperationen ist auch deshalb erschwert, weil die Erfolgskriterien schlecht definiert sind. Die World Glaucoma Association (WGA) hat deshalb einheitliche Erfolgskriterien vorgeschlagen, die von den meisten Autoren inzwischen akzeptiert sind und auch in den Guidelines der European Glaucoma Society niedergelegt sind. Als »Erfolg« wird demnach angesehen, wenn der Augeninnendruck um mindestens 30% gegenüber dem behandelten Ausgangsdruck gesenkt ist und gleichzeitig die Höhe von 18 mmHg nicht überschreitet. Die untere Augendruckgrenze wird normalerweise bei 5 mmHg gesehen. Wenn ein Streudiagramm zur Darstellung der Ergebnisse verwendet wird (Abszisse: behandelter Ausgangsdruck, Ordinate: erreichter Augendruck zu einem bestimmten Zeitpunkt nach OP), können auch andere Erfolgskriterien abgelesen werden. Der Verlauf über den Nachbeobachtungszeitraum wird am besten durch eine Kaplan-Meier Kurve und durch Box-plot Medianwerte, nicht aber durch Mittelwertbildung der Druckwerte dargestellt. Entscheidend ist auch, dass strikt zwischen »complete success« (postoperativer Druckwert ohne Zusatzmedikation) und »qualified success« (postoperativer Druckwert mit/ohne Zusatzmedikation) unterschieden wird. Für den wissenschaftlichen Vergleich eignet sich der »complete success« besser, da die Zusatzmedikation bei »qualified success« einen »Bias« darstellt, der nicht genau kontrolliert werden kann (Compliance der Medikamentenanwendung, unterschiedliche Wirksamkeit verschiedener Medikamentenklassen etc.).

FILTRATIONSSCHIRURGIE

Unter Filtrationschirurgie versteht man Operationen, die das Kammerwasser unter die Bindehaut leiten. Diese sind also von der Resorption des Kammerwassers im Subkonjunktivalraum abhängig. Da das Kammerwasser und die Wundfläche Zytokine transportieren, die die Wundheilung fördern, ist jede Filtrationschirurgie durch die eintretende Vernarbung gefährdet. Dieser Vernarbungstendenz wird heute durch Applikation von Zytostatika begegnet, deren Spezifität und therapeutische Breite aber ungünstig sind (Mitomycin C [MMC] und 5-Fluorouracil [5-FU]). Die klassische **Trabekulektomie** unter routinemaßiger Verwendung von topisch appliziertem MMC ist für Erstoperationen nach wie vor das Standardverfahren, da das Ausmaß der Augendrucksenkung besser ist als bei allen anderen Verfahren. Der Erfolg hängt aber im Wesentlichen von der postoperativen Nachsorge mit teilweise eingreifenden Maßnahmen (subconj. Injektionen, Fadenlaser, Need-

ling etc) ab, sodass die Trabekulektomie für den Arzt sehr aufwändig und für den Patienten sehr wenig »komfortabel« ist. Prinzipiell hat die Trabekulektomie den Nachteil, dass das Kammerwasser eine sehr kleine Durchtrittsfläche für das gesamte Minutenvolumen benutzt und somit durch den Venturi Effekt eine Ansaugung der Iris mit der Notwendigkeit der Iridektomie entsteht. Ein Teil der Kataraktbildung nach Trabekulektomie ist auf diesen »Kurzschluss« zwischen Vorder- und Hinterkammer zurückzuführen, weil dabei die Linse nicht mehr von Kammerwasser umspült wird.

Schlauchimplantate (Molteno, Baerveldt, Ahmed) leiten das Kammerwasser weiter nach hinten in den äquatorialen Bereich des Auges, unterliegen aber in ähnlicher Weise der Wundheilung. Bei Sekundäroperationen haben Schlauchimplantate wahrscheinlich Vorteile in ihrer Langzeitwirkung, allerdings häufiger unter antiglaukomatöser Zusatzmedikation. Möglicherweise hat die hintere Filtrationsposition Vorteile bezüglich der Resorption des Kammerwassers. Das Hauptproblem der Schlauchimplantate (insbesondere bei Kindern) ist die potentielle späte Schädigung des Hornhautendothels, oft erst nach 1–2 Jahrzehnten. Die Ursachen hierfür sind noch unklar und nicht allein auf Schlauchberührung des Endothels zurückzuführen.

SOGENANNT

»NICHT-PENETRIERENDE« VERFAHREN

Diese nicht-penetrierenden Operationen haben zum Ziel, die Abflussgeschwindigkeit zu reduzieren, indem das Trabekelwerk an der Stelle der Operation erhalten bleibt. Hierbei erscheint wichtig, dass das kanalseitige kribbriforme Trabekelmaschenwerk abgezogen wird, um die Penetration von Kammerwasser durch das stärker poröse innere Trabekelwerk zu erhöhen. Bei allen drei Verfahren (Tiefe Sklerektomie, Viskokanalostomie, Kanaloplastik) wird eine tiefe Skleralamelle unter dem oberflächlichen Skleradeckel exzidiert, sodass eine intrasklerale Höhle entsteht (»intra-skleraler See«). Die durch diese Operationen erreichbare Drucksenkung macht deutlich, dass das noch intakte Trabekelwerk nur einen begrenzten Abflusswiderstand erzeugt. Allerdings muss man annehmen, dass kleine Mikroperforationen zum Abflussergebnis beitragen. Da die Sklera nicht »wasserdicht« ist, nimmt sie wahrscheinlich einen Teil des abfließenden Kammerwassers auf. Es wird postuliert, dass durch die dünne Sklera am Boden des skleralen Sees auch Kammerwasser in den Suprachoroidalraum abfließt. Andererseits kann man davon ausgehen, dass auch ein Teil des Kammerwassers unter dem äußeren Deckel nach subkonjunktival gelangt, obwohl nur selten ein Sickerkissen sichtbar wird. Bei der **tiefen Sklerektomie** wird häufig ein »Platzhalter« in die Kavität

des skleralen Sees eingenäht, um die Resorptionsfläche nicht durch Verkleben der beiden Schichten zu verlieren. Bei der **Viskokanalostomie** wird der Schlemm Kanal und die Kollektorkanälchen durch das Viskoelastikum geweitet. Neuerdings hat die **Kanaloplastik** die Drucksenkung durch Einführen des Katheters und des Spannungsfadens verbessert. Hierbei kommt es offensichtlich durch die Dehnung des Trabekelwerks zu einer Verbesserung der trabekulären Abflussfazität (Pilocarpin-Effekt). Bei der Kanaloplastik werden also alle Widerstandsebenen (Trabekelwerk, Entfaltung des Schlemm Kanal, intraskleraler Kammerwassertransport) verbessert. Obwohl in Vergleichsstudien die Kanaloplastik etwas weniger drucksenkend wirkt als die Trabekulektomie, ist der Vorteil im geringeren Nachsorgeaufwand und der schnelleren Rehabilitation zu sehen.

Über die Lebensdauer dieser Operationen im Vergleich zur Trabekulektomie ist noch zu wenig bekannt. Bei einem Vergleich randomisierter Studien von tiefer Sklerektomie oder Viskokanaloplastik versus Trabekulektomie schnitten die nicht penetrierenden Verfahren bezüglich Drucksenkung auch kurzfristig (1–3 Jahre) eindeutig schlechter ab. Bei fortgeschrittenem Glaukomschaden mit relativ geringer Augendruckerhöhung ist die stärkere Drucksenkung der Trabekulektomie trotz des größeren Nachsorgeaufwandes langfristig vorteilhaft. Wahrscheinlich ist die subkonjunktivale Filtration erforderlich, um Druckwerte im unteren Normbereich (10–15 mm Hg) oder evtl. sogar darunter (7–10) bei Normaldruckglaukom zu erreichen.

Ob die nicht penetrierenden Verfahren einen generellen Paradigmenwechsel in der Glaukochirurgie des primären Offenwinkelglaukoms einläuten, ist noch nicht endgültig abzusehen und sicherlich nicht für alle Glaukomstadien anzunehmen.

NEUE KONZEPTE DER FILTRATIONS- CHIRURGIE (»HYBRID ANSÄTZE«)

Unter der Prämisse, dass die subkonjunktivale Filtration langfristig und dauerhaft die niedrigsten Druckwerte ergibt, sollte man folgende Grundsätze in neue Filtrationsoperationen implementieren:

- 1) Der Zufluss zum skleralen Fenster darf keinen Venturi Effekt auslösen, sodass eine Iridektomie vermieden werden kann. Das erreicht man, indem man die Kanalostien zur Seite hin eröffnet (Trabekulotomie), aber das Trabekelwerk im zentralen Bereich der Sklerapräparation stehen lässt. Dadurch wird die Fließgeschwindigkeit schon in dieser Ebene reduziert, ohne dass das Minutenvolumen beeinträchtigt wird.

- 2) Durch die Exzision der tiefen Skleralamelle entsteht ein Reservoir, aus dem das Kammerwasser langsamer unter dem oberflächlichen Deckel in den Subkonjunktivalraum sickert.
- 3) Eine Iridektomie mit Kurzschluss zwischen Vorder- und Hinterkammer sollte vermeiden werden, um die Kataraktogenität der Operation zu reduzieren. Dies lässt sich mit der neu entwickelten Operation erreichen (s. unten).

Im Prinzip werden also zwei Widerstandsebenen (Ostien des Schlemm Kanal und Skleradeckel) geschaffen (statt eine bei der Trabekulektomie), wodurch die Fließgeschwindigkeit reduziert und das Kammerwasser besser »verteilt« wird. In zellbiologische Untersuchungen wurde gefunden, dass auch die Scherkräfte durch die Geschwindigkeit des Flusses eine Aktivierung der Wundheilung bewirken. Möglicherweise wird dieser Faktor günstig beeinflusst, wenn die Fließgeschwindigkeit durch diese Konstruktion der Abflusswege langsamer ist als bei der Trabekulektomie.

Unsere klinische Studie mit einer derartigen Operation hat im gematchten Vergleich zur Trabekulektomie schon in der ersten Serie von 30 Fällen eine gleichgute Drucksenkung ergeben.

KAMMERWINKELCHIRURGIE UND UVEOSKLERALE ABFLUSSSYSTEME

Unter der Annahme, dass der wesentliche Abflusswiderstand im Trabekelwerk lokalisiert ist, sind verschiedene Shunt Operationen in den Schlemm Kanal entwickelt worden. Für viele dieser Operationen ist eine nachweisbare Wirksamkeit gefunden worden, allerdings nicht so ausgeprägt, dass dadurch auf eine medikamentöse Therapie in der Regel verzichtet werden kann. Deshalb werden diese Operationsverfahren eher empfohlen, wenn eine moderate Drucksenkung erforderlich ist oder in Kombination mit einer Katarakt Operation. Da beim Glaukom der Widerstand auch jenseits des Schlemm Kanals lokalisiert ist, ist die geringere Drucksenkung dieser Operationen sofort verständlich. Deshalb können diese Operationen auch nicht die Wirksamkeit der Filtrationschirurgie erreichen.

Gleiches gilt für die Systeme, die einen Shunt in den suprachorioidalen Raum anlegen, denn der uveosklerale Abfluss beträgt physiologisch bei Menschen nur ca. 15 % des gesamten Abflusses. Andererseits wäre eine kontrollierbare Eröffnung des Subziliarraumes ein vielversprechender Weg, da verschiedene Säugetiere einen solchen Weg für ihre Augendruckregulation nutzen und nicht den transtrabekulären Abfluss.

ZYKLO-EINGRIFFE

Eingriffe am Ziliarkörper (in der Regel als Zyklotokoagulation oder Zyklotokoagulation) werden traditionell als Verödung der Kammerwasserproduzierenden Ziliarzotten angesehen. Anatomisch sind die Ziliarzotten so weit anterior gelegen, dass sie zumindest bei einer Applikation 2–4 mm hinter dem Limbus nur noch partiell erfasst werden. Um Komplikationen zu reduzieren, haben manche Operateure, so auch wir, die Lokalisation zumindest für die Zyklotokoagulation nach 3,5 mm hinter den Limbus verlegt und die Applikationszeit reduziert (40 sec). Dadurch wird vermieden, dass die Linse und der Kammerwinkel erfasst werden kann, andererseits befindet sich die Applikationsort dann über der Pars plana. Trotzdem sind diese Eingriffe mit den ihnen anhaftenden Einschränkungen wirksam. Die Erklärung hierfür könnte sein, dass die das Auginnenere abdichtenden Zellschichten (zweischichtiges Epithel) aufgebrochen werden und Kammerwasser dann aus der Hinterkammer in die Sklera sickert. Die Sklera selbst ist nämlich wasserundurchlässig. Wenn sich diese Flächen durch fibrotische Narben erneut abdichten, lässt die Wirkung dieser Eingriffe wieder nach. Ein Problem der Zyklotokoagulation ist eine relativ hohe Inzidenz einer Pupillotonie, die bei Zyklotokoagulationen seltener ist. Unter diesen Überlegungen sind auch die Zyko-Eingriffe wahrscheinlich partiell Abfluss-bildende Operationen.

TRABEKULOTOMIE UND GONIOTOMIE FÜR DAS KONGENITALE GLAUKOM

In der Chirurgie des Glaukoms im Kindesalter (primäres kongenitales Glaukom, sekundäres kongenitales Glaukom, Sekundärglaukom nach Operation einer kongenitalen Katarakt) bestand lange Jahre eine Stagnation der Operationstechniken, wahrscheinlich wegen der Seltenheit der Fälle in der Erfahrung eines einzelnen Operateurs. Goniotomie und Trabekulotomie sind wahrscheinlich langfristig gleich wirksam. Die 360° Trabekulotomie mit einem 4/0 Prolenefaden wurde seit vielen Jahren von einzelnen Operateuren angewandt. Neuerdings hat die Verwendung eines illuminierten Katheters in Verbindung mit der Präparationstechnik der tiefen Sklerektomie zum Aufsuchen des Schlemm Kanals die **360° Trabekulotomie** erheblich erleichtert, sodass man zumindest für die Trabekulotomie von einem Paradigmenwechsel sprechen kann. Durch Eröffnung der gesamten Trabekelzirkumferenz kann man theoretisch bessere Ergebnisse erwarten, was in ersten Studien auch bestätigt wurde. Erstaunlich ist die einfache Sondierbarkeit des Schlemm Kanals auch bei den meisten sekundären kongenitalen Glaukomen (z. B. Axenfeld-Rieger), zuweilen sogar einfacher als beim Erwachsenen während der

Kanaloplastik. Erste Vergleiche gegenüber der klassischen Trabekulotomie haben die bessere Wirksamkeit der 360° Trabekulotomie zunächst bestätigt. Die Problematik geringer Fallzahlen bei klinischen Vergleichsstudien lässt sich nur durch internationale Multicenter Studien lösen. Kürzlich hat sich deshalb das Congenital Glaucoma Research Network (CGRN) konstituiert, das zunächst ein weltweites Register mit Auswertung der Fälle und ihrer verschiedenen Therapieformen anstrebt.

Das größte Problem der Glaukome im Kindesalter ist das **Sekundärglaukom nach Operation einer kongenitalen Katarakt**. Es ist durch zahlreiche Studien inzwischen belegt, dass die Frühoperation der kongenitalen Katarakt (vor dem 9. Lebensmonat) langfristig eine hohe Inzidenz eines äußerst schwierig therapierbaren Sekundärglaukoms aufweist. Dieser Tatbestand steht im Konflikt zur Notwendigkeit, durch frühe Operation der Katarakt eine Amblyopie zu vermeiden. In Fällen beidseitiger und seitensymmetrischer mäßiger Katarakt sollte aber individuell abgeschätzt werden, ob die Morbidität durch (mäßige) Amblyopie nach hinausgeschobener Kataraktoperation nicht günstiger ist als die hochgradige Funktionseinschränkung, die aus dieser schweren Form des Sekundärglaukoms in vielen Fällen resultiert. Auch hier muss ein Paradigmenwechsel eingeleitet werden.

ZUSAMMENFASSUNG

Die chirurgische Therapie schwerer primärer Offenwinkelglaukome hat im wesentlichen durch die Neuerungen verschiedener nicht-penetrierender Verfahren eine Erweiterung erfahren, z. B. wenn das Risiko einer postoperativen Hypotonie besonders hoch erscheint oder andererseits eine mittlere Augendrucksenkung ausreichend ist. Daneben sollte das Prinzip der subkonjunktivalen Filtration weiterentwickelt werden, z. B. durch Verfahren, die mehrere Widerstandsebenen nutzen, um eine postoperative Hypotonie zu vermeiden und die Fließgeschwindigkeit innerhalb des Filtrationsweges zu reduzieren. Das Vermeiden der Iridektomie reduziert wahrscheinlich die Kataraktentstehung nach Glaukomoperationen. Die Kammerwinkeleingriffe haben ihr Indikationsgebiet außerhalb der schweren Glaukomformen. Die Katheter-geführte 360° Trabekulotomie wird möglicherweise die anderen Operationstechniken des primären und sekundären kongenitalen Glaukoms in Zukunft weitgehend ersetzen.

Literatur beim Verfasser



Prof. Dr. med. Dr. h.c. Franz Grehn
 Direktor der Universitäts-Augenklinik
 Würzburg

Studium der Humanmedizin und Promotion 1967–73. Postdoc am Physiologischen Institut der Freien Universität Berlin 1974–76. Weiterbildung zum Facharzt für Augenheilkunde 1976–1981 an der Universitäts-Augenklinik Freiburg. Habilitation 1984. Direktor der Universitäts-Augenklinik Mainz von 1990–1995.

Ruf auf den Lehrstuhl für Augenheilkunde GHS Essen 1993 und Ruf auf den Lehrstuhl für Augenheilkunde der Universität Würzburg 1994. Ehrendoktor der Universität Iasi, Rumänien 1997. Präsident der Deutschen Ophthalmologischen Gesellschaft 2002–2003. Schriftführer der DOG 2005–2013. Zahlreiche Ehrenmitgliedschaften ausländischer Glaukomgesellschaften. Präsident der World Glaucoma Association 2012–2014. Präsident der Glaucoma Research Society 2012–2016. Scientific Chair der European Glaucoma Society. Mitglied zahlreicher ophthalmologischer Fachgesellschaften und Mitherausgeber/Editorial Board bei mehreren ophthalmologischer Zeitschriften. Korrespondierendes Mitglied der Mainzer Akademie der Wissenschaften. Hauptforschungsgebiete: Pathophysiologie des Glaukoms, Glaukomoperationen, Chirurgie des vorderen Augenabschnitts.

KONTAKT



Prof. Dr. med. Dr. h.c. Franz Grehn
 Direktor der Universitäts-Augenklinik
 Josef Schneider Straße 11
 97080 Würzburg
 E-Mail: grehn_f@ukw.de

Wir gehen für Sie jeden Weg!

Seit über 30 Jahren eine feste Größe auf dem Verlagssektor



Kostenreduzierte oder kostenfreie Publikationen helfen, den verfügbaren Rahmen zu entlasten und damit Gelder für andere Bereiche und Aktivitäten freizusetzen. Wir bieten Ihnen die ganze hierzu notwendige Palette – von der Anzeigenakquise über die Satztechnik bis hin zum fertigen Druckwerk:

Überzeugen Sie sich selbst: www.alphapublic.de

ALPHA

Informationsgesellschaft mbH

Finkenstr. 10 • 68623 Lampertheim • Tel. 06206 939-0 • Fax 06206 939-232

Zirkulierende Melanomzellen: Neu in der Diagnostik und Prognosebeurteilung, zukünftig in der Therapieüberwachung

PROF. DR. SALVATORE GRISANTI, PRIV.-DOZ. DR. JULIA LÜKE,
DR. AYSEGÜL TURA

Universitäts-
Augenklinik
Lübeck

Das Aderhautmelanom ist der häufigste, primär bösartige Tumor des Augeninneren im Erwachsenenalter. Die Inzidenzrate beträgt etwa sechs bis sieben pro eine Million Menschen kaukasischer Herkunft [1, 2]. In den letzten Jahrzehnten sind große Fortschritte in der Diagnostik und Therapie des Primärtumors gemacht worden. Trotz einer erfolgreichen lokalen Tumorkontrolle, entwickelt die Hälfte der Patienten innerhalb von 5 bis 10 Jahren systemische Metastasen. Mangels fehlender wirksamer Therapien beträgt die zu erwartende Überlebenszeit bei klinisch nachgewiesener Metastasierung nur 12 bis 14 Monate [2, 3].

Neue Erkenntnisse zu den intrazellulären Prozessen und Kaskaden sowie neue Wirkstoffklassen könnten aber die derzeitige Situation verbessern. Begleitend bedarf es auch einer Erneuerung der Diagnostik und des Monitorings.

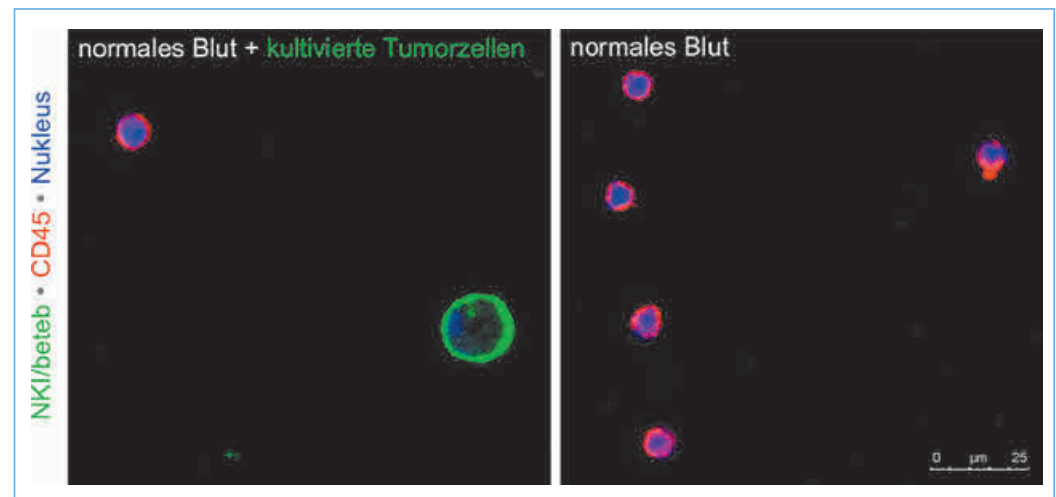
Klinische Prognosefaktoren des uveal Melanoms sind u. a. der größte Basaldurchmesser, die Ziliarkörperinvasion und das extraokuläre Wachstum. Jedoch ist keiner dieser Faktoren alleine oder deren Kombination ausreichend, um das Auftreten von Metastasen in einem individuellen Patienten vorherzusagen. Im Gegensatz dazu sind neben dem histologischen Subtyp spezielle Genomal-

terationen wie beispielsweise Auffälligkeiten an den Chromosomen 3, 6 und 8 prognostisch wertvoller [4–15].

Die Monosomie-3 wird derzeit in einigen Zentren als Prognosefaktor beim uveal Melanom klinisch eingesetzt. Sie ist die häufigste chromosomale Aberration des uveal Melanoms und tritt mit einer Frequenz von 30 bis 50 Prozent auf. Sie gilt derzeit als einer der wichtigsten prognostischen Marker beim Aderhautmelanom. Die Bestimmung ist jedoch schwierig, wenn kein Tumorgewebe vorliegt. Dies ist z. B. bei Patienten der Fall, bei denen eine Bestrahlung durchgeführt wird. Die Bestimmung mittels Feinnadelbiopsie ist prinzipiell möglich und wird auch von einigen Zentren durchgeführt. Nachteilig ist jedoch a) die Invasivität der Prozedur, b) die singuläre Durchführbarkeit vor der Therapie und c) die potentielle Gefahr, falsch-negative Ergebnisse zu erzielen, da der Tumor sehr inhomogen aufgebaut sein kann. Im Gegensatz hierzu ist es von Vorteil eine Technik zu verwenden, die erlaubt, die Diagnose nicht-invasiv zu bestätigen, gleichzeitig eine genotypische Charakterisierung durchzuführen und die wiederholt anwendbar ist. Dies ist beim Nachweis und der Analyse von zirkulierenden Melanomzellen möglich.

Abbildung 1

■ Zellisolation aus mit Melanomzellen versehenem humanen Blut zur Validierung und Optimierung der immunmagnetischen Isolation. Die Hälfte der Blutprobe von einer gesunden Freiwilligen (34 Jahre) wurde mit kultivierten uveal Melanomzellen versetzt, während die andere Hälfte nur mit der Vehikellösung gemischt wurde. Beide Blutproben wurden anschließend für die immunmagnetische Zellisolation verwendet. Mittels Doppel-Immunfärbungen konnten uveale Melanomzellen positiv für den Melanommarker NG2 (grün) und negativ für den Leukozytenmarker CD45 (rot) nur in der ersten Gruppe nachgewiesen werden (links).



In der Vergangenheit verwendeten unterschiedliche Arbeitsgruppen eine PCR-basierte Methode, um Melanom-assoziierte Transkripte aus dem Blut von uvealen Melanompatienten zu isolieren [16–21]. Bei dieser Technik werden eine Reihe von verschiedenen Melanommarkern wie z. B. Tyrosinase mRNA, gp100 und MelanA/Mart-1 mRNA zur Identifizierung eingesetzt. Das Problem bei dieser Methode ist, dass die Detektionsrate von 0 bis 100 Prozent variiert, die Methode nicht gut reproduzierbar ist, falsch-positive und falsch-negative Ergebnisse vorliegen können und keine Zellen zur weiteren Diagnostik vorliegen [22]. Dieses Problem wird durch die Detektion ganzer zirkulierender Melanomzellen (ZMZ) umgangen.

Der immunomagnetische Assay zur ZMZ Detektion beruht auf der Isolation von intakten Zellen aus dem Blut. In unserer kürzlich publizierten Studie verwendeten wir den monoklonalen Antikörper 9.2.27, der gegen das Melanom-assoziierte Chondroitinsulfat Proteoglykan (MCSP-Antigen) gerichtet ist [23]. Bei Anwendung dieses Antikörpers gelingt es aber nur bei 19 Prozent der 52 untersuchten Melanompatienten zirkulierende Melanomzellen zu isolieren. Betrachtet man jedoch die zu erwartende Anzahl von Patienten, die klinisch manifeste Metastasen entwickeln werden, so ist die Detektionsrate zu niedrig und wahrscheinlich signifikant mit falsch-negativen Ergebnissen belastet.

Um eine Verbesserung dieser wertvollen Technik herbeizuführen, modifizierten wir unser Protokoll in vielfältiger Weise und sicherten durch unterschiedliche positive und negative Kontrollen die Sicherheit und Reproduzierbarkeit unseres neuen Assays (**Abbildung 1**). Die Detektion von ZMZ wird nun seit zwei Jahren in unserer Routinediagnostik verwendet. Eine wesentliche und zugleich erschreckende Erkenntnis der bisherigen Ergebnisse war der Nachweis und die Bestätigung von ZMZ in über 90% der Patienten. Die Entstehung und Lage des Tumors in einem der am stärksten durchbluteten Gewebe des Körpers lässt solch ein Ergebnis zwar erwarten, dieses steht jedoch im Widerspruch zur Tatsache, dass nur die Hälfte der Patienten Metastasen entwickeln werden. Es entsteht zunächst also der Verdacht, dass trotz penibler Kontrollen, die Methodik falsch-positive Resultate liefert.

Ein weiterer wertvoller Schritt war deshalb die Etablierung des Monosomie-3-Nachweises an den isolierten Zellen (**Abbildung 2**). Hierbei erwies sich, dass knapp die Hälfte der Patienten Monosomie-3 positive Zellen im Kreislauf aufwies. Dieses Resultat unterstützt die Hypothese, dass diese chromosomale Aberration wesentlich für die Entwicklung klinisch-manifester Metastasen ist. Doch scheint diese nicht primär für die Streuung sondern vielmehr für die Absiedlung der Mela-

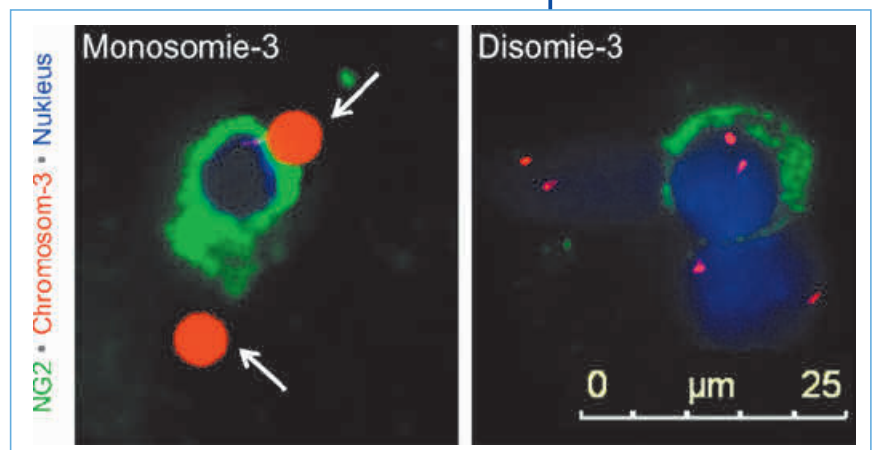
nomzellen verantwortlich zu sein. Erst zukünftige Studien werden zeigen, ob der Monosomie-3-Nachweis in ZMZ mit der tatsächlichen Entwicklung von klinisch manifesten Metastasen korreliert.

Die Anwendung dieser weiterentwickelten Technik der immunomagnetischen Zellanreicherung und genotypischen Charakterisierung soll jedoch nicht nur die Patienten identifizieren, die von einer gezielten Therapie profitieren können, sondern neben Mehrfachbestimmungen im Verlauf der Erkrankung auch ein Monitoring zur Wirksamkeit der Behandlung erlauben. Neue Wirkstoffklassen, wie z. B. der Proteinkinase C Inhibitor AEO71, dem MEK-Inhibitor AZD6244 (Selumetinib), eine Kombination aus RAD001 (Everolimus) und Pasireotide (SOM230) und Ipilimumab werden derzeit in Phase 2 Studien zur Behandlung von metastasierten uvealen Melanomen getestet. Inwieweit diese neuen Medikamente die stattgehabte Metastasierung und klinisch manifeste Metastasen erfolgreich hemmen können, bleibt zu beweisen [25]. Sinnvoller erscheint es, früher in diesen Prozess einzugreifen. Die breite prophylaktische Anwendung an Patienten mit uvealem Melanom ohne Metastasierung verbietet sich derzeit aufgrund des potentiellen Nebenwirkungsprofils. Angedacht ist die Anwendung bei Patienten, die für Monosomie 3 positiv getestet wurden. Problematisch ist jedoch ein geeignetes Protokoll auszuwählen, da eine Metastasierung erst nach 5 oder mehr Jahren auftreten kann. Es besteht somit der Bedarf ein Monitoring einzuführen, das die Wirksamkeit der Therapie vor Auftreten klinisch manifester Metastasen ermöglicht. Hierzu wäre die Detektion von ZMZ in der Lage.

Der Nachweis und die Genotypisierung der zirkulierenden Melanomzellen bedeuten einen Quantensprung in der Diagnostik und Therapie des uvealen Melanoms. Hochrisikopatienten können hierdurch selektiert werden und die Wirksamkeit neuer Therapien frühzeitig und sinnvoll überprüft werden. Die Untersuchung der Eigenschaften der

Abbildung 2

■ Immuno-FISH Analyse zur Bestimmung der Kopienzahl des Chromosoms-3 (rot) in den ZMZ, die spezifisch den Melanommarker NG2 (grün) exprimieren. Ein Einzel-signal oder ein Dublet wurde als Monosomie-3 bewertet (links). Die Abbildung rechts zeigt eine NG2-positive ZMZ mit Disomie-3 neben zwei NG2-negativen Leukozyten. Die Pfeile deuten auf die Immunobeads hin.



ZMZ wird schlussendlich auch unser Verständnis zur Streuung und Absiedlung erweitern.

LITERATUR

- Inskip P.D. (2001) Frequent radiation exposures and frequency-dependent effects: the eyes have it. *Epidemiology* 12 (1): 1–4.
- Singh A.D., Bergman L., Seregard S. (2005) Uveal melanoma: epidemiologic aspects. *Ophthalmol Clin North Am* 18 (1): 75–84.
- Kivelä T., Eskelin S., Kujala E. (2006) Metastatic uveal melanoma. *Ophthalmol Clin* 46 (1): 133–149.
- Horsman D.E., Sroka H., Rootman J., White V.A. (1990) Monosomy 3 and isochromosome 8q in a uveal melanoma. *Cancer Genet Cytogenet* 45 (2): 249–253.
- Prescher G., Bornfeld N., Becher R. (1990) Nonrandom chromosomal abnormalities in primary uveal melanoma. *J Natl Cancer Inst* 82 (22): 1765–1769.
- Horsthemke B., Prescher G., Bornfeld N., Becher R. (1992) Loss of chromosome 3 alleles and multiplication of chromosome 8 alleles in uveal melanoma. *Genes Chromosomes Cancer* 4 (3): 217–221.
- Sisley K., Rennie I.G., Cottam D.W., Potter A.M., Potter C.W., Rees R.C. (1990) Cytogenetic findings in six posterior uveal melanomas: involvement of chromosomes 3, 6, and 8. *Genes Chromosomes Cancer* 2 (3): 205–209.
- Aalto Y., Eriksson L., Seregard S., Larsson O., Knuutila S. (2001) Concomitant loss of chromosome 3 and whole arm losses and gains of chromosome 1, 6, or 8 in metastasizing primary uveal melanoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 42 (2): 313–317.
- Prescher G., Prescher G., Bornfeld N., Becher R. (1990) Nonrandom chromosomal abnormalities in primary uveal melanoma. *J Natl Cancer Inst.* 82 (22): 1765–1769.
- Prescher G., Bornfeld N., Friedrichs W., Seeber S., Becher R. (1995) Cytogenetics of twelve cases of uveal melanoma and patterns of nonrandom anomalies and isochromosome formation. *Cancer Genet Cytogenet* 80 (1): 40–46.
- Prescher G., Bornfeld N., Hirche H., Horsthemke B., Jöckel K.H., Becher R. (1996) Prognostic implications of monosomy 3 in uveal melanoma. *Lancet* 347 (9010): 1222–1225.
- Lake S.L., Damato B.E., Dopierala J., Baudo M.M., Taktak A.F., Coupland S.E. (2011) Multiplex ligation-dependent probe amplification analysis of uveal melanoma with extraocular extension demonstrates heterogeneity of gross chromosomal abnormalities. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 52 (8): 5559–5564.
- Aalto Y., Eriksson L., Seregard S., Larsson O., Knuutila S. (2001) Concomitant loss of chromosome 3 and whole arm losses and gains of chromosome 1, 6, or 8 in metastasizing primary uveal melanoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 42 (2): 313–317.
- Scholes A.G., Liloglou T., Maloney P., Hagan S., Nunn J., Hiscott P., Damato B.E., Grierson I., Field J.K. (2001) Loss of heterozygosity on chromosomes 3, 9, 13, and 17, including the retinoblastoma locus, in uveal melanoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 42 (11): 2472–2477.
- Scholes A.G., Damato B.E., Nunn J., Hiscott P., Grierson I., Field J.K. (2003) Monosomy 3 in uveal melanoma: correlation with clinical and histologic predictors of survival. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 44 (3): 1008–1011.
- Boldin I., Langmann G., Richtig E., Schwantzer G., Ardjomand N., Wegscheider B., El-Shabrawi Y. (2005) Five-year results of prognostic value of tyrosinase in peripheral blood of uveal melanoma patients. *Melanoma Res* 15 (6): 503–507.
- Foss A.J., Guille M.J., Ocleston N.L., Hykin P.G., Hungerford J.L., Lightman S. (1995) The detection of melanoma cells in peripheral blood by reverse transcription-polymerase chain reaction. *Br J Cancer* 72 (1): 155–159.
- Callejo S.A., Antecká E., Blanco P.L., Edelstein C., Burnier M.N. Jr. (2007) Identification of circulating malignant cells and its correlation with prognostic factors and treatment in uveal melanoma. A prospective longitudinal study. *Eye* 21 (6): 752–759.
- El Shabrawi Y., Langmann G., Hutter H., Kenner L., Hoefler G. (1998) Comparison of current methods and PCR for the diagnosis of metastatic disease in uveal malignant melanoma. *Ophthalmologica* 212 (1): 80.
- Tobal K., Sherman L.S., Foss A.J., Lightman S.L. (1993) Detection of melanocytes from uveal melanoma in peripheral blood using the polymerase chain reaction. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 34 (9): 2622–2625.
- Schuster R., Bechrakis N.E., Stroux A., Busse A., Schmitzel A., Scheibenbogen C., Thiel E., Foerster M.H., Keilholz U. (2007) Circulating tumor cells as prognostic factor for distant metastases and survival in patients with primary uveal melanoma. *Clin Cancer Res* 13 (4): 1171–1178.
- Torres V., Triozzi P., Eng C., Tubbs R., Schoenfield L., Crabb J.W., Sauntharajah Y., Singh A.D. (2011) Circulating tumor cells in uveal melanoma. *Future Oncol* 7 (1): 101–109.
- Mocellin S., Hoon D., Ambrosi A., Nitti D., Rossi C.R. (2006) The prognostic value of circulating tumor cells in patients with melanoma: a systematic review and meta-analysis. *Clin Cancer Res* 12 (15): 4605–4013.
- Ulmer A., Beutel J., Süßkind D., Hilgers R.D., Ziemssen F., Lücke M., Röcken M., Rohrbach M., Fierlbeck G., Bartz-Schmidt K.U., Grisanti S. (2008) Visualization of circulating melanoma cells in the peripheral blood of patients with uveal melanoma. *Clin Cancer Res* 14 (14): 4469–4474.
- Woodman S.E. Metastatic uveal melanoma: biology and emerging treatments. *Cancer J* 2012; 18 (2): 148–152. doi: 10.1097/PP0.0b013e31824bd256.

Prof. Dr. med. Salvatore Grisanti, Jahrgang 1967, ist seit 2008 Direktor und Lehrstuhlinhaber der Universitäts-Augenklinik Lübeck. Nach der Schulausbildung studierte er an der Universität 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 uvealen Melanoms.



Prof. Dr. med. Salvatore Grisanti
 Universitäts-Augenklinik Lübeck
 im Universitätsklinikum Schleswig-Holstein
 Ratzeburger Allee 160
 23538 Hansestadt Lübeck

KONTAKT



Dr. rer. nat. Ayseguel Tura, Jahrgang 1977, ist wissenschaftliche Mitarbeiterin der Universitäts-Augenklinik Lübeck. Nach der Schulausbildung in Istanbul, studierte sie an der Universität Boğaziçi, 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. Ihr wissenschaftlicher Schwerpunkt ist die Untersuchung von intrazellulären Signalwegen, wie z. B. die Rho-Kinase Signalkaskade.



Dr. rer. nat. Ayseguel Tura
 Universitäts-Augenklinik Lübeck
 im Universitätsklinikum Schleswig-Holstein
 Ratzeburger Allee 160
 23538 Hansestadt Lübeck

KONTAKT





KONTAKT



Priv.-Doz. Dr. med. Julia Lüke
Universitäts-Augenklinik Lübeck
im Universitätsklinikum Schleswig-Holstein
Ratzeburger Allee 160
23538 Hansestadt Lübeck

Priv.-Doz. Dr. med. Julia Lüke, Jahrgang 1979, ist Oberärztin der Universitäts-Augenklinik, Lübeck. Nach der Schulausbildung studierte sie an der Universität zu Lübeck und promovierte dort 2006. Sie erhielt 2011 die Anerkennung als Fachärztin für Augenheilkunde. 2012 wurde sie habilitiert und erhielt die *Venia legendi* für das Fach Augenheilkunde. Ihr klinisch-wissenschaftlicher Schwerpunkt liegt im Bereich des uvealen Melanoms mit besonderem Fokus auf die Angiogenese und Metastasierung.

Jetrea® – neue Therapie zur Behandlung früher VMT-Stadien

Persönlich nachgefragt bei Prof. Dr. med. Anselm Kampik

Unsere Umwelt wird zunehmend von visuellen Reizen geprägt – und das Auge ist unser Tor zu ihr. So ist es nicht verwunderlich, dass ein exzellentes Sehvermögen auch im fortgeschrittenen Alter immer wichtiger wird, um ein selbständiges und aktives Leben führen zu können. Umso erfreulicher ist es, wenn jahrzehntelange, intensive Forschungsarbeiten mit einem neuen Medikament belohnt werden, das eine frühzeitige Behandlung von Sehstörungen bei Patienten mit vitreomakulärer Traktion (VMT) ermöglicht.

Die VMT stellt eine fortschreitende Erkrankung des hinteren Augenabschnittes dar, bei der es durch Veränderungen des Glaskörpers zur Ausbildung von Zugkräften (Traktionen) auf die Netzhaut kommen kann, die je nach Schweregrad optische Verzerrungen, verringerte Sehschärfe und zentrale Gesichtsfeldausfälle hervorrufen. Mit Jetrea® (Ocriciplasmin) steht nun seit Mai erstmals eine medikamentöse Therapie zur Verfügung, mit der Patienten bereits in frühen Stadien der VMT-Erkrankung auch in Verbindung mit einem Makulaloch $\leq 400 \mu\text{m}$ behandelt werden können.

Prof. Kampik, Wegbegleiter der Ocriciplasmin-Forschung seit der ersten Stunde, beantwortet wichtige Fragen zu dem neuen Wirkstoff:

Was ist neu an der Jetrea® Therapie?

Mit Jetrea® besteht erstmals die Möglichkeit, vitreomakuläre Traktionen auch enzymatisch aufzulösen. Bislang war eine Entfernung der Traktion nur mechanisch im Rahmen einer Vitrektomie zu erreichen, die allerdings aufgrund des Risikoprofils der Vitrektomie meist erst in späteren Stadien der Erkrankung mit deutlicher Visusreduktion durchgeführt wird. Nun können auch frühe VMT-Stadien erstmals risikoarm mit Hilfe einer einmaligen, intravitrealen Jetrea® Injektion behandelt werden.

Welche Bedeutung messen Sie der neuen Therapieoption bei?

Meines Erachtens ist die neue Therapiemöglichkeit aus dreierlei Gründen bedeutsam: Erstens kann angesichts des geringen Risikoprofils der Injektion sehr frühzeitig eingegriffen werden. Zweitens verfügen Patienten in frühen Stadien der Erkrankung häufig noch über einen relativ hohen Ausgangsvisus, der bei rechtzeitigem Eingreifen erhalten bzw. sogar noch gesteigert werden kann, so dass wohl ein besseres funktionales Ergebnis zu erwarten ist als nach zu langer Wartezeit. Und drittens kann das Vorschreiten der Erkrankung frühzeitig aufgehalten und damit weiterer, möglicherweise irreversibler Schäden an der Netzhaut vermieden werden.

Was ist erforderlich, um die Jetrea® Therapie effektiv einsetzen zu können?

Wesentlich ist zuallererst natürlich eine möglichst frühe und präzise Diagnose der VMT-Erkrankung, denn nur dann kann auch eine frühzeitige Therapie eingeleitet werden. Hier fällt vor allem den primär versorgenden Augenärzten eine sehr wichtige Rolle zu, da meist sie die Patienten, die unter Sehbeeinträchtigungen leiden, zu allererst sehen. Wichtig ist, dass sie die Sehstörungen richtig einordnen und deren Ursachen weiter abklären oder abklären lassen, denn Metamorphopsien z. B. können im Zusammenhang mit verschiedenen Erkrankungen des Hinterabschnittes des Auges auftreten. Bildgebende Verfahren wie die optische Kohärenztomographie (OCT) müssen dann eingesetzt werden, um Traktionen verlässlich darzustellen. Evtl. ist zur weiteren Abklärung auch eine Fluoreszeinangiographie nötig, um die Differentialdiagnosen zu sichern oder auszuschließen. Schon bei dem Verdacht einer VMT-Erkrankung sollte der Patient sehr zeitnah einem retinologisch erfahrenen Augenarzt vorgestellt werden, der unter Einbeziehung des gesamten Krankheitsbildes mit seiner Erfahrung im individuellen Fall entscheiden kann, ob und wann eine Jetrea® Therapie indiziert ist. Die bisherigen und die noch kommenden klinischen Erfahrungen werden die genaue Indikation noch weiter spezifizieren können und müssen, da die jetzigen Erfahrungen weitgehend nur auf den bisherigen Studien beruhen und weitere klinische Studien und Erfahrungen die Anwendung in der klinischen Praxis noch optimieren werden.



Prof. med. Anselm Kampik
Direktor der Augenklinik der
Universität München (LMU)

KONTAKT

ALCON Pharma GmbH
Blankreutestraße 1
79108 Freiburg i. Breisgau
Tel.: 0761 1304-0
Fax: 0761 1304-200
www.alcon-pharma.de

Wir danken Prof. Kampik, Direktor der Augenklinik der Universität München (LMU), für seine Einschätzungen.

Das Interview führte Dr. Eva Stetzer.

Pharmaka und Adjuvantien in der Augenchirurgie

PROF. DR. CHRISTOS HARITOGLOU, PROF. DR. ANSELM KAMPIK

Augenlinik der
Ludwig-Maximilians-
Universität

Neben einer Vielzahl von mechanisch-technischen Neuerungen vor allem im Bereich der vitreoretinalen Chirurgie wie die Miniaturisierung des Instrumentariums oder verbesserte Beobachtungssysteme erweitern nun auch neue pharmakologische Ansätze wie die pharmakologische Vitreolyse das therapeutische Spektrum als mögliche Alternative zu einem operativen Eingriff oder als intraoperatives Adjuvans zur Kontrastierung des vitreoretinalen Grenzfläche.

Eine spontane physiologisch auftretende hintere Glaskörperabhebung ist in vielen Fällen nicht komplett, sondern kann oft auch lokal oder partiell vorliegen. Begleitet wird die Glaskörperabhebung in der Regel von einer Verflüssigung (Syneresis) und häufig aber auch von einer inkompletten Separation bzw. Spaltung der Glaskörperrinde (Synchisis). Bei einer derartigen inkompletten Separation des Glaskörpers von der inneren Grenzmembran (ILM) der Netzhaut können auf der Netzhautoberfläche verbleibende Kollagenfasern des Glaskörpers Ausgangspunkt für die Bildung von fibrozellulären Proliferationen und die Entstehung verschiedener traktiv-bedingter Erkrankungen der Makularegion sein, wie dem Makulaforamen, dem vitreomakulären Traktionsyndrom oder der Ausbildung symptomatischer epimakulärer Membranen. Pathologische, fokale Adhäsionen des Glaskörperkollagens können auch bei der Entstehung bestimmter Formen des diabetischen Makulaödems oder der exsudativen altersbedingten Makuladegeneration von Bedeutung zu sein [1, 2].

Bei der Therapie dieser Erkrankungen an der vitreoretinalen Grenzfläche haben pharmakologische Adjuvantien ein Einsatzgebiet gefunden und die Chirurgie dieser Erkrankungen erleichtert und besser erlernbar gemacht. Die hauptsächlichen Verfahren stellen die Chromodissektion von epiretinalen Geweben und die pharmakologische Vitreolyse dar.

CHROMODISSEKTION

Heute wissen wir, dass für den Erfolg einer Operation bei traktiven Makulaerkrankungen sowohl in funktioneller als auch anatomischer Hinsicht eine möglichst komplette Beseitigung aller traktiven Kräfte auf der Netzhautoberfläche nötig ist. Diese lässt sich gegenwärtig am besten durch eine Beseitigung der inneren Grenzmembran der Netzhaut (ILM) zusammen mit dem epiretinal neu gebildeten fibrozellulären Gewebe erreichen. Aufgrund ihrer geringen Dicke von wenigen μm und ihrer Transparenz gestaltet sich die Präparation der ILM oft sehr schwierig und ist mit einem erhöhten Risiko für ein mechanisches Trauma der Nervenfaserschicht verbunden. Daher gibt es Anstrengungen die ILM durch selektive Farbstoffe zu kontrastieren, damit sichtbarer und einer operativen Beseitigung zugänglicher zu machen.

Indocyaningrün (ICG) war der erste Farbstoff, der zur gezielten Anfärbung der ILM angewandt wurde [3], jedoch gibt es Zweifel an der guten Biokompatibilität der Substanz [4] und damit Bedenken für einen sicheren Einsatz dieser Substanz in der vitreoretinalen Chirurgie. Mögliche Hinweise auf toxische Effekte basieren auf schlechteren funktionellen Ergebnissen und einer hohen Inzidenz postoperativer peripherer Gesichtsfelddefekte. Diese schlechteren funktionellen Ergebnisse werden in manchen klinischen Beobachtungsreihen bestritten [5], wurden aber durch andere Arbeitsgruppen im Grundsatz bestätigt. Eine mögliche Ursache ist in der Photosensitivität des Farbstoffes ICG zu suchen, verbunden mit einem signifikanten Anstieg eines oxidativen Stresses, der zu Seneszenz und Akkumulation extrazellulärer Matrix im Bereich des retinalen Pigmentepithels (RPE) führt [6, 7]. ICG erscheint als Färbemittel ferner nicht ideal, da der überwiegende Teil seines Absorptionsspektrums im NIR-Bereich liegt. Diese Tatsache bedingt, dass wir für einen ausreichenden Kontrast relativ hohe Konzentrationen dieses Farbstoffes benötigen, was das Risiko unerwünschter toxischer Effekte erhöht. Andere Farbstoffe mit günstigeren spekt-

ralen Eigenschaften, wie das Brilliantblau, können in deutlich niedrigeren Konzentrationen verwendet werden. Der wesentliche Grund für die noch heute weite Verbreitung des ICG ist der gute Kontrast nach Anfärbung mit ICG, der deutlich besser ist als nach Anwendung des zugelassenen Farbstoffes BBG [8]. Ein aus heutiger Sicht idealer Farbstoff bestünde demnach aus einer Synthese der Färbereigenschaften des ICG und der guten Biokompatibilität des BBG, also eines biokompatiblen Cyanfarbstoffes.

Es gibt jetzt neben dem ICG einen anderen Farbstoff, das Brilliantblau (BBG, Triarylmethan), das in einer Konzentration von 0,025 % zur Anfärbung der ILM zugelassen wurde. Weitere Zielstrukturen für die Farbstoffanwendung am Auge sind die Glaskörperfibrillen selbst und epimakuläre fibrozelluläre Membranen, welche mit Trypanblau kontrastiert werden können (TB). Mischungen verschiedener Farbstoffe sind erhältlich. Ziel der jetzigen, weiteren Forschung auf dem Gebiet der »Chromodissektion« ist die Entwicklung und Erprobung neuer Farbstoffe, die eine gezielte und selektive Anfärbung intraokularer und epiretinaler Strukturen ermöglichen und gleichzeitig möglichst keine toxischen Nebenwirkungen aufweisen. Bisher wurden überwiegend Absorptionsfarbstoffe untersucht, die immer in relativ höheren Konzentrationen in das Auge eingegeben werden müssen. Andere Farbstoffklassen bieten im Hinblick auf die Farbstoffkonzentration eventuell Vorteile. Dazu zählt die Gruppe der Fluoreszenzfarbstoffe. Erste Arbeiten mit dem Fluoreszenzfarbstoff Rhodamin haben uns gezeigt, dass eine Anfärbung der ILM und eine Visualisierung mittels Fluoreszenz durchaus möglich ist [9, 10].

Der entscheidende Vorteil von Fluoreszenzfarbstoffen gegenüber Absorptionsfarbstoffen besteht in der Möglichkeit bei hoher Fluoreszenzquantenausbeute die Konzentration eines solchen Farbstoffes erheblich zu reduzieren und damit toxische Schäden am Auge zu vermeiden.

Unsere Arbeitsgruppe hat sich intensiver um die Neusynthese eines Cyaninfarbstoffes bemüht. Es wurde eine Reihe von Farbstoffen neu synthetisiert [11] und hinsichtlich möglicher toxischer Effekte untersucht. Ausgehend vom ICG-Molekül können die Eigenschaften des Farbstoffes durch chemische Veränderungen modifiziert werden.

Durch die Veränderung des Moleküls gelang eine Verschiebung des Absorptionsmaximums in den Bereich der spektralen Empfindlichkeit des menschlichen Auges. Zum anderen zeigt der Farbstoff auch eine sehr starke Fluoreszenz in diesem Wellenlängenbereich, was die Färbereigenschaften erheblich verbessert. Am humanen Spenderauge konnte bereits gezeigt werden, dass sich dieser

Farbstoff zur Kontrastierung der ILM der Netzhaut eignet ohne in tiefere Netzhautschichten einzudringen und über eine sehr gute Biokompatibilität verfügt [12].

Inwieweit die Anfärbung von Basalmembranen des Auges die Rigidität dieser Strukturen verändert, ist gegenwärtig Gegenstand experimenteller Arbeiten, die mittels einer atomic force spectroscopy durchgeführt werden. Mögliche Einflüsse auf die Rigidität können erklären, warum sich intraoperativ angefärbte Membranen leichter von der Netzhautoberfläche entfernen lassen.

PHARMAKOLOGISCHE VITREOLYSE

Durch eine enzymatische Verflüssigung des Glaskörpergels und eine gleichzeitige enzymatische Lösung der Glaskörperfibrillen von der inneren, vitrealen Seite der ILM lassen sich pathologische vitreomakuläre Glaskörperadhäsionen lösen. Dies wurde in einer großen klinischen Studie kürzlich aufgezeigt [13]. Dieser Studie gingen zahlreiche experimentelle Arbeiten mit verschiedenen Substanzen voraus: Vielversprechend zur Induktion der hinteren Glaskörperabhebung im Kaninchenauge war zunächst das Plasmin, allerdings begleitet von einer transienten Reduktion der b-Welle im Elektretinogramm als möglicher negativer Effekt der Behandlung [14]. Autologes Plasmin wurde in klinischen Fallserien unter anderem bei Patienten mit refraktärem oder traktivem diabetischen Makulaödem [15] und auch als Adjuvans im Rahmen vitreoretinaler chirurgischer Eingriffe zur Behandlung des Makulaforamens oder auch der fortgeschrittenen Retinopathia praematurorum mit traktiver Ablatio eingesetzt [16, 17]. Problematisch für die Anwendung des Plasmins bleibt bis heute die komplexe Struktur und die fehlende allgemeine Verfügbarkeit. Andere Substanzen wie Hyaluronidase oder Dispase zeigten entweder nicht den gewünschten Effekt oder waren in experimentellen Studien mit Nebenwirkungen verbunden, die einen klinischen Einsatz am Menschen ausschließen [18, 19].

Grundsätzlich gilt, dass sich potentielle Komplikationen einer chirurgischen Vorgehensweise durch eine enzymatische Induktion der Glaskörperabhebung und Lösung von pathologischen Traktionen vermeiden lassen: Die ILM bleibt unberührt, die Möglichkeit eines Traumas im Bereich der Nervenfaserschicht wird reduziert und die pharmakologisch erreichte Glaskörperabhebung ist kompletter und auch atraumatischer erreicht als die mechanisch induzierte. In Zukunft erscheint eine Ergänzung in der Behandlung verschiedener potentiell visusbedrohender Erkrankungen wie der diabetischen Retinopathie oder der altersbedingten Makuladegeneration, in deren Verlauf

eine frühe pharmakologisch induzierte Glaskörperabhebung einen positiven Einfluss haben kann, sinnvoll [20]. Grundlegende klinische Studien hierzu sind aber noch ausstehend.

Am umfassendsten in klinischen Studien erprobt und mittlerweile auch für die Anwendung am Menschen zugelassen ist das Mikroplasmin, ein rekombinantes Protein, das die katalytische Domäne von humanem Plasmin enthält, im Vergleich zum humanen Plasmin aber deutlich stabiler ist und seine unspezifische proteolytische Aktivität vor allem gegen die Glykoproteine Fibronektin und Laminin richtet [21]. Der dosis- und zeitabhängige Effekt der Glaskörperverflüssigung und Glaskörperabhebung ohne morphologische Veränderungen der Netzhaut wurde in verschiedenen experimentellen und präklinischen Studien nachgewiesen [22, 23].

Eine anschließende Phase II Studie mit vier Behandlungsarmen mit 75, 125, und 175 µg Ocriplasmin oder einer initialen Gabe von 125 µg mit der Möglichkeit einer erneuten Injektion derselben Dosis bei Persistieren der Adhäsion nach einem Monat und einer Placebogruppe beobachtete nach 28 Tagen eine Lösung der Adhäsionen in 8% der Patienten der Placebogruppe, 25% der 75 µg, 44% der 125 µg und 27% der 175 µg Gruppe [24]. Nach dreimaliger Injektion von 125 µg stieg der Anteil auf 58% 28 Tage nach der letztmaligen Behandlung. Eine andere Studie untersuchte den Effekt einer einmaligen Injektion von 25 µg, 75 µg, oder 125 µg Microplasmin 7 Tage vor einem geplanten vitreoretinalen Eingriff bei vitreomakulärer Traktion [25] und beschrieb als Ergebnis einen dosisabhängigen Effekt auf die Abhebung des Glaskörpers mit 10% für die Placebogruppe, 14% für die 25 µg, 18% für die 75 µg und 31% für die 125 µg Gruppe. Zusammenfassend zeigten beide Phase II Studien am Menschen, dass bei sehr guter Biokompatibilität eine einzelne Injektion von Ocriplasmin in einer Konzentration von 125 µg oder drei in monatlichem Abstand applizierte Injektionen dieser Dosierung eine Lösung vitreomakulärer Traktionen bewirken können.

In zwei multizentrischen, randomisierten, doppelt verblindeten, Placebo kontrollierten Phase III Studien wurden der Effekt einer einzelnen Injektion von 125 µg Ocriplasmin bei insgesamt 652 Patienten (464 Patienten in der Behandlungsgruppe, 188 in der Placebogruppe) mit symptomatischen vitreomakulären Traktionen untersucht, als primärer Endpunkt war die Lösung der Traktion am Tag 28 nach der Injektion definiert [13]. zugeteilt. Sekundäre Endpunkte waren das Auftreten einer kompletten hinteren Glaskörperabhebung, der Verschluss eines bestehenden Makulaforamens ohne chirurgische Intervention, die Vermeidung eines vitreomakulären chirurgischen Eingriffes und die Veränderung der bestkorrigierten Seh-

schärfe. Eine Lösung der vitreomakulären Traktion wurde bei 26,5% der mit Ocriplasmin behandelten Patienten beobachtet, in der Placebogruppe lag dieser Anteil mit 10,1% signifikant darunter. Eine komplette hintere Glaskörperabhebung war häufiger in der Behandlungsgruppe als in der Placebogruppe (13,4% bzw. 3,7%). Ein Verschluss eines bestehenden Makulaforamens zeigte sich bei 40,6% der Patienten in der Behandlungsgruppe und nur 10,6% in der Placebogruppe ($p < 0.001$).

Das Konzept der pharmakologischen Vitreolyse kann entweder als Ergänzung oder in noch weiter zu definierenden Situationen als Alternative zur chirurgischen Behandlung bei Erkrankungen der vitreoretinalen Grenzfläche durch eine pars plana Vitrektomie angesehen werden. Nach konsequenter Forschung beginnend mit experimentellen Arbeiten bis hin zu multizentrischen, placebo kontrollierten Untersuchungen am Menschen steht uns dieses Konzept nun in Form eines für die intravitreale Injektion zugelassenen Präparates (Ocriplasmin) zur Verfügung und zwar für die intravitreale Injektion zur Behandlung von Patienten mit einer vitreomakulären Traktion $< 1500 \mu\text{m}$, auch im Zusammenhang mit einem Makulaforamen kleiner oder gleich $400 \mu\text{m}$ Durchmesser.

LITERATUR

1. Park D. W., Dugel P. U., Garda J., et al. Macular pucker removal with and without internal limiting membrane peeling: pilot study. *Ophthalmology* 2003; 110: 62–64.
2. Gandorfer A., Messmer E. M., Ulbig M. W., Kampik A. Resolution of diabetic macular edema after surgical removal of the posterior hyaloid and the inner limiting membrane. *Retina* 2000; 20: 126–133.
3. Kadonosono K., Itoh N., Uchio E., Nakamura S., Ohno S. Staining of the internal limiting membrane in macular hole surgery. *Arch Ophthalmol* 2000; 118: 1116–1118.
4. Haritoglou C., Gandorfer A., Gass C. A., Schaumberger M., Ulbig M. W., Kampik A. Indocyanine green-assisted peeling of the internal limiting membrane in macular hole surgery affects visual outcome: A clinicopathologic correlation. *Am J Ophthalmol* 2002; 134: 836–841.
5. Lanzetta P., Polito A., Del Borrello M. et al. Idiopathic macular hole surgery with low-concentration intracranial green-assisted peeling of the internal limiting membrane. *Am J Ophthalmol* 2006; 142: 771–6.
6. Haritoglou C., Freyer W., Priglinger S. G., Kampik A. Light absorbing properties of indocyanine green (ICG) in solution and after adsorption to the retinal surface – an ex-vivo approach. *Graefes Archive Clin Exp Ophthalmol* 2006; 244: 1194–1202.
7. Kernt M., Hirneiss C., Liegl R., Rueping J., Neubauer A. S., Ulbig M. W., Kampik A., Haritoglou C. Indocyanine Green (ICG) Increases Light-Induced Oxidative Stress, Senescence, and Accumulation of Extracellular Matrix Proteins in Human RPE Cells. *Acta Ophthalmol* 2012; 90 (6): 571–9.

8. Henrich P.B., Priglinger S.G., Haritoglou C., Josifova T., Ferreira P.R., Strauss R.W., Flammer J., Cattin P.C. Quantification of Contrast Recognizability During Brilliant Blue G (BBG) and Indocyanine Green (ICG) Assisted Chromovitrectomy. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2011; 52 (7): 4345–9.
9. Thaler S., Haritoglou C., Choragiewicz T.J., Messias A., Baryluk A., May, C.A., Fiedorowicz T.J., Zrenner, E., Schüttauf F. In vivo toxicity study of Rhodamine 6G in the rat retina. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2008; 49: 2120–6.
10. Haritoglou C., Kreutzer T., Tadayoni R., Langhals H., May C.A., Thaler S., Kampik A. Staining and peeling of the internal limiting membrane using a fluorescent dye (Rhodamine 6 G). *Br J Ophthalmol* 2008; 92: 1265–1268.
11. Langhals H., Varja A., Laubichler P., Kernt M., Eigl K., Haritoglou C. Cyanine dyes as optical contrast agents for ophthalmic surgery. *J Med Chem* 2011; 54 (11): 3903–25.
12. Haritoglou C., Kernt M., Laubichler P., Langhals H., Eibl K., Varja A., Thaler S., Kampik A. Synthesis, staining properties, and biocompatibility of a new cyanine dye for ILM peeling. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 2012; 250 (6): 829–38.
13. Stalmans P., Benz M.S., Gandorfer A., Kampik A., Girach A., Pakola S., Haller J.A.; MIVI-TRUST Study Group (2012) Enzymatic vitreolysis with ocriplasmin for vitreomacular traction and macular holes. *N Engl J Med*. 367 (7): 606–15.
14. Verstraeten T.C., Chapman C., Hartzler M., Winkler B.S., Trese M.T., Williams G.A. Pharmacologic induction of posterior vitreous detachment in the rabbit. *Arch Ophthalmol*. 1993; 111 (6): 849–54.
15. Diaz-Llopis M., Udaondo P., Arevalo F., Salom D., Garcia-Delpech S., Quijada A., Romero F.J. Intravitreal plasmin without associated vitrectomy as a treatment for refractory diabetic macular edema. *J Ocul Pharmacol Ther*. 2009; 25 (4): 379–84.
16. Sakuma T., Tanaka M., Inoue M., Mizota A., Souri M., Ichinose A. Efficacy of autologous plasmin for idiopathic macular hole surgery. *Eur J Ophthalmol*. 2005; 15 (6): 787–94.
17. Wu W.C., Drenser K.A., Lai M., Capone A., Trese M.T. Plasmin enzyme-assisted vitrectomy for primary and reoperated eyes with stage 5 retinopathy of prematurity. *Retina*. 2008; 28 (3 Suppl): S75–80.
18. Hikichi T., Kado M., Yoshida A. Intravitreal injection of hyaluronidase cannot induce posterior vitreous detachment in the rabbit. *Retina* 2000; 20 (2): 195–198.
19. Jorge R., Oyamabuchi E.K., Cardillo J.A., Gobbi A., Laicine E.M., Haddad A. (2003) Intravitreal injection of dispase causes retinal hemorrhages in rabbit and human eyes. *Curr Eye Res* 2003; 26 (2): 107–112.
20. Gandorfer A. Objective of pharmacologic vitreolysis. *Dev Ophthalmol*. 2009; 44: 1–6.
21. Bishop P.N. Vitreous as a substrate for vitreolysis. *Dev Ophthalmol* 2009; 44: 7–19.
22. de Smet M.D., Valmaggia C., Zarranz-Ventura J., Willekens B. Microplasmin: ex vivo characterization of its activity in porcine vitreous. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2009; 50 (2): 814–9.
23. Gandorfer A., Rohleder M., Sethi C., Eckle D., Welge-Lüssen U., Kampik A., Luthert P., Charteris D. Posterior vitreous detachment induced by microplasmin. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2004; 45 (2): 641–7.
24. Stalmans P., Delaey C., de Smet M.D., van Dijkman E., Pakola S. Intravitreal injection of microplasmin for treatment of vitreomacular adhesion: results of a prospective, randomized, sham-controlled phase II trial (the MIVI-IIT trial). *Retina*. 2010; 30 (7): 1122–7.
25. Benz M.S., Packo K.H., Gonzalez V., Pakola S., Bezner D., Haller J.A., Schwartz S.D. A placebo-controlled trial of microplasmin intravitreal injection to facilitate posterior vitreous detachment before vitrectomy. *Ophthalmology*. 2010; 117 (4): 791–7.



Prof. Dr. Christos Haritoglou, Jahrgang 1969, ist gegenwärtig Oberarzt an der Augenklinik der Ludwig-Maximilians-Universität. Nach Beendigung des Studiums der Humanmedizin an der Ludwig-Maximilians-Universität (LMU) in München 1997 begann er seine Facharztausbildung an der Augenklinik der LMU. Mit der Facharztanerkennung 2003 wurde er zum Oberarzt bestellt und schloss im Dezember 2004 sein Habilitationsverfahren zum Thema »Die innere Grenzmembran der Netzhaut in der Chirurgie der Makula« ab. 2010 wurde er vorzeitig zum ausserordentlichen Professor er-

nannt. Sein klinischer und wissenschaftlicher Schwerpunkt liegt im Bereich der pharmakologischen und operativen Behandlung verschiedener Netzhauterkrankungen und der Entwicklung innovativer chirurgischer Techniken sowie der Erarbeitung klinisch-pathologischer Korrelationen im Bereich der vitreoretinalen Grenzfläche. Er erhielt für seine Forschungsarbeit zahlreiche nationale und internationale Auszeichnungen und war an der Erstellung von über 200 Publikationen in peer-reviewten Zeitschriften und verschiedenen Editorials, Übersichtsarbeiten und Buchkapiteln beteiligt. Prof. Haritoglou ist Mitglied des Club Jules Gonin, der Macula Society, der Deutschen Ophthalmologischen Gesellschaft und anderer nationaler und internationaler Fachgesellschaften und ist Gutachter zahlreicher nationaler und internationaler Fachzeitschriften.

KONTAKT



Prof. Dr. Christos Haritoglou

Oberarzt
Augenklinik der
Ludwig-Maximilians-Universität
Mathildenstraße 8
80336 München
Telefon: 089 51603811
Telefax: 089 51605160
E-Mail:
christos.haritoglou@med.uni-muenchen.de



Prof. Dr. Anselm Kampik leitet die Augenklinik der Ludwig-Maximilians-Universität München seit 1993. Von 1987–1993 war er Ordinarius an der Augenklinik der Universität Würzburg. Am Wilmer Institute, Johns Hopkins University absolvierte er 1979 und 1980 ein Fellowship in Ophthalmopathologie und Retinologie und beschäftigt sich seither unter anderem mit Erkrankungen der vitreoretinalen Grenzfläche.

Seine Spezialgebiete reichen von der vitreoretinalen Chirurgie zu der gesamten Mikrochirurgie des Auges mit Interesse an der Bildgebung des Auges und der Zellbiologie am Auge. Er erhielt zahlreiche Auszeichnungen und ist bei diversen Publikationsorganen im Editorial Board vertreten, unter anderem bei Retina und dem American Journal of Ophthalmology. Über 490 Publikationen sind in PubMed gelistet. Er ist Herausgeber, bzw. Mitherausgeber bei 15 Büchern. Er ist derzeit Generalsekretär der DOG, war Präsident der DOG 1997 und ist derzeit Präsident der European Academy of Ophthalmology und Mitglied der Academia Ophthalmologica Internationalis. Seit 2000 ist er Mitglied der Programmkommission für die Augenärztliche Akademie Deutschland (AAD).

KONTAKT



Prof. Dr. Anselm Kampik

Augenklinik der
Ludwig-Maximilians-Universität
Mathildenstraße 8
80336 München

EINFACH. PRÄZISE. SICHER.



PLATINUM *mini* – der neue Preloader (2.2 mm Inzision)

Als Weiterentwicklung des bewährten Systems **PLATINUM** bietet POLYTECH im neuen Preloader **PLATINUM *mini*** die hydrophoben einteiligen **POLYLENS H11/Y11** (mit Blaulichtfilter)

- Für einfachste Handhabung
- Inzision 2.2 mm
- Minimierung der Entzündungsreaktionen nach Katarakt-Operationen durch Heparin-Modifizierung
- Auch als torische Variante erhältlich

Erfahren Sie mehr unter www.polytech-online.de



Polytech Ophthalmologie GmbH | Arheilger Weg 6 | 64380 Roßdorf | Germany

*Auch **Werbung** hat Ihre Grenzen: das Papierformat*

*und hier könnte **Ihre Anzeige** stehen!*

Informationsgesellschaft mbH • Finkenstraße 10 • 68623 Lampertheim • Telefon: 06206 939 220 • Telefax: 939 232

Adaptive Optiken – Scanning Laser Ophthalmoskopie, AOSLO

DR. RER. NAT. WOLF HARMENING

Universitäts-
Augenklinik Bonn

Mit der Erfindung des Ophthalmoskops 1851 durch Hermann von Helmholtz wird unser Verständnis des Sehapparates und dessen Erkrankungen maßgeblich durch Schlüsselentwicklungen in der ophthalmologischen Bildgebung bestimmt [1]. Der detaillierte Blick auf den Augenhintergrund stellt dabei jedes optische Verfahren vor ein spezielles Problem: die internen Optiken des Auges, Hornhaut und Linse, müssen als Lichtfokussierende Elemente mitbenutzt werden. Kleinste Unregelmäßigkeiten der intraokularen refraktiven Oberflächen erzeugen komplexe Wellenfrontfehler, die die Auflösung bildgebender Verfahren begrenzen, und durch typische Linsenkorrekturen (Defokus, Astigmatismus) nicht ausgeglichen werden können [2].

Neueste Fortschritte in der Wellenfrontmessung und -korrektur machen es heute möglich, einzelne Photorezeptoren der Netzhaut im lebenden Auge in Echtzeit darzustellen [3]. Dies wurde insbesondere durch den Einsatz von adaptiven Optiken ermöglicht – eine Technologie die der Astronomie entliehen wurde, wo sie die optische Auflösung von Teleskopen durch den Einsatz eines verformbaren Spiegels maximiert [4]. Das *adaptive optics scanning laser ophthalmoscope* (AOSLO) stellt eine spitzentechnologische Plattform dar, die es Mediziner und Grundlagenforschern in der Sehforschung ermöglicht, die Netzhaut mit extremer Detailschärfe sichtbar zu machen (**Abb. 1**) [5]. 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 [6, 7].

An der University of California, Berkeley, ist es nun gelungen den hochauflösenden bildgebenden Prozess im AOSLO ebenfalls für die gezielte Stimulation einzelner Sehzellen zu benutzen. Dazu wird eine zusätzlich zum bildgebenden Licht eingesetzte Wellenlänge durch akusto-optische Schalter im megahertz Bereich moduliert, und über adaptive Optiken zu einem extrem kleinen Punkt auf der Netzhaut fokussiert [8]. Eine in Echtzeit arbeitende, Software-gestützte Blickstabilisierung sorgt dafür, dass auch bei natürlich auftretenden Augenbewegungen genau definierte Stimulationspunkte getroffen werden können [9, 10]. Kleinste Dispersionseffekte im Auge (chromatischen Aberrationen) werden in einem bildgestützten Mess- und Korrekturverfahren ausgeglichen [11]. Durch die Kombination dieser Technologien konnte gezeigt werden, dass eine visuelle Funktionsprüfung nun zellgenau durchgeführt werden kann [12]. Dadurch ergibt sich die einmalige Gelegenheit für die Sehforschung, neu-

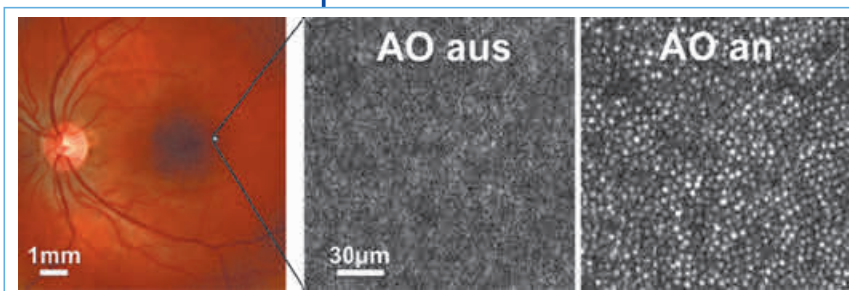


Abbildung 1

■ Adaptive Optiken (AO) machen die Photorezeptoren der Netzhaut sichtbar und dadurch mikroskopisch zugänglich.

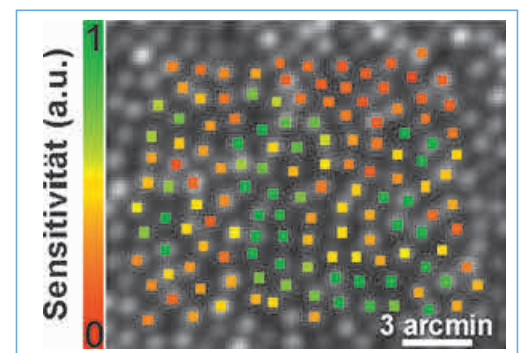


Abbildung 2

■ Einzelne oder Gruppen von Photorezeptoren können mit dem AOSLO auf ihre Funktion geprüft werden.

ronale Struktur und Funktion auf mikroskopischer Ebene direkt miteinander zu korrelieren (**Abb. 2**) [13–15]. 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.

LITERATUR

- Helmholtz H. von (1851) Beschreibung eines Augenspiegels zur Untersuchung der Netzhaut im lebenden Auge, A. Förstner'sche Verlagsbuchhandlung, Berlin.
- Smirnov M.S. (1961) Measurement of the wave aberration of the human eye. *Biofizika* 6, 776–95.
- Williams D.R. (2011) Imaging single cells in the living retina. *Vision Research* 51, 1379–96.
- Liang J., Williams D.R., Miller D.T. (1997) Supernormal vision and high-resolution retinal imaging through adaptive optics. *Journal of the Optical Society of America A* 14, 2884–2892.
- Roorda A., Romero-Borja F., Donnelly Iii W., Queener H., Hebert T., Campbell M. (2002) Adaptive optics scanning laser ophthalmoscopy. *Optics express* 10, 405–12.
- Talcott K.E., Ratnam K., Sundquist S.M., Lucero A.S., Lujan B.J., Tao W., Porco T.C., Roorda A., Duncan J.L. (2011) Longitudinal Study of Cone Photoreceptors during Retinal Degeneration and in Response to Ciliary Neurotrophic Factor Treatment. *Investigative Ophthalmology & Visual Science* 52, 2219–26.
- Godara P., Dubis A.M., Roorda A., Duncan J.L., Carroll J. (2010) Adaptive optics retinal imaging: emerging clinical applications. *Optometry and vision science: official publication of the American Academy of Optometry* 87, 930–41.
- Zhang Y., Poonja S., Roorda A. (2006) MEMS-based adaptive optics scanning laser ophthalmoscopy. *Optics letters* 31, 1268–1270.
- Arathorn D.W., Yang Q., Vogel C.R., Zhang Y., Tiruveedhula P., Roorda A. (2007) Retinally stabilized cone-targeted stimulus delivery. *Optics Express* 15, 13731–44.
- Sheehy C.K., Yang Q., Arathorn D.W., Tiruveedhula P., De Boer J.F., Roorda A. (2012) High-speed, image-based eye tracking with a scanning laser ophthalmoscope. *Biomedical Optics Express* 3, 2611.
- 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, 2066–2077.
- Tuten W.S., Tiruveedhula P., Roorda A. (2012) Adaptive optics scanning laser ophthalmoscope-based microperimetry. *Optometry and Vision Science* 89, 563–74.
- Sincich L.C., Zhang Y., Tiruveedhula P., Horton J.C., Roorda A. (2009) Resolving single cone inputs to visual receptive fields. *Nature Neuroscience* 12, 967–9.
- Roorda A. (2011) Adaptive optics for studying visual function: A comprehensive review. *Journal of Vision* 11, 1–21.
- Rossi E. a, Roorda A. (2010) The relationship between visual resolution and cone spacing in the human fovea. *Nature neuroscience* 13, 156–7.

Dr. rer. nat. Wolf Harmening, Jahrgang 1978, ist Nachwuchsgruppenleiter in der Augenklinik des Universitätsklinikums Bonn (Direktor: Prof. Dr. med. F.G.Holz). Nach der Schulausbildung am Helmholtz Gymnasium Bonn studierte er 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), kehrt er als Emmy Noether-Stipendiat (DFG) zurück nach Deutschland. Sein wissenschaftlicher Fokus liegt auf der physiologischen Optik und der Charakterisierung visueller Wahrnehmung im Menschen. Methodisch arbeitet er mit hochauflösenden, optischen und psychophysikalischen Verfahren.

FÖRDERUNGEN UND AUSZEICHNUNGEN

Während seines Studiums wurde Dr. Harmening durch eine intramurales Stipendium der RWTH für hochqualifizierte Doktoranden finanziert. Er gewann zahlreiche Stipendien zum Besuch internationaler Kongresse. Seine Dissertation (summa cum laude) wurde mit der Borchers Plakette ausgezeichnet. Für einen Forschungsaufenthalt in den USA gewann er sowohl das Feodor-Lynen Stipendium der Humboldt-Stiftung, sowie ein Forschungsstipendium der DFG. Er war Finalist im NRW Rückkehrerprogramm des Ministeriums für Innovation, Wissenschaft und Forschung 2012. Seine Forschung an der Universitäts-Augenklinik Bonn wird nun durch das Emmy Noether-Programm der DFG gefördert.

Dr. rer. nat. Wolf Harmening
 Universitäts-Augenklinik Bonn
 Ernst-Abbe-Straße 2
 53127 Bonn
 Telefon: 0228 28715882
 Telefax: 0228 28714817
 E-Mail: wmharmening@gmail.com



KONTAKT



Pathogenese und zukünftige therapeutische Ansätze bei der altersabhängigen Makuladegeneration

PRIV.-DOZ. DR. RER. NAT. PETER HEIDUSCHKA, DR. MED. ANNE ALEX,
DR. MED. CHRISTOPH CLEMENS, DR. MED. FLORIAN ALTEN,
PROF. DR. MED. NICOLE ETER

Universitäts-
Augenklinik
Münster

Die altersabhängige Makuladegeneration (AMD) ist die häufigste Ursache für die Erblindung der über 50jährigen Bevölkerung in den westlichen Industriestaaten, wobei die Prävalenz exponentiell ab einem Alter von 70 Jahren ansteigt. [Ambati et al., 2003; van Leeuwen et al., 2003; Bressler, 2004; Lim et al., 2012] Bei nahezu 90% der Patienten liegt die trockene Form der AMD vor, und die geographische Atrophie (GA) als die fortgeschrittene Form ist für 80% aller Fälle der AMD im Spätstadium und 20% der durch die AMD bedingten gesetzlichen Blindheit verantwortlich. [Klein et al., 2007] Besonders schnell schreitet der Verlust der Sehfähigkeit bei der feuchten, neovaskulären Form der AMD voran, die unbehandelt zur Blindheit führen kann. [Brown et al., 2010]

Der *vascular endothelial growth factor A* (VEGF-A) fördert stark die Angiogenese und die vaskuläre Permeabilität, und seine wichtige Rolle bei der Pathogenese der neovaskulären AMD ist gut belegt. [Kliffen et al., 1997; Ferrara et al., 2003] Seit dem Jahr 2005 hat der Einsatz der intravitreal applizierten anti-VEGF-Wirkstoffe die Behandlung der neovaskulären AMD revolutioniert, und in der Zwischenzeit sind diese anti-VEGF-Wirkstoffe auch bei weiteren proliferativen Netzhauterkrankungen in Anwendung. [Stewart, 2012]

In bis zu ca. 30% der Fälle ist die Therapieeffizienz jedoch unzufriedenstellend und längerfristig nicht stabilisierend. Multifaktorielle pathogenetische Ursachen können hierbei eine Rolle spielen. Die übermäßige Produktion von VEGF, die eine treibende Kraft der Neovaskularisation ist,

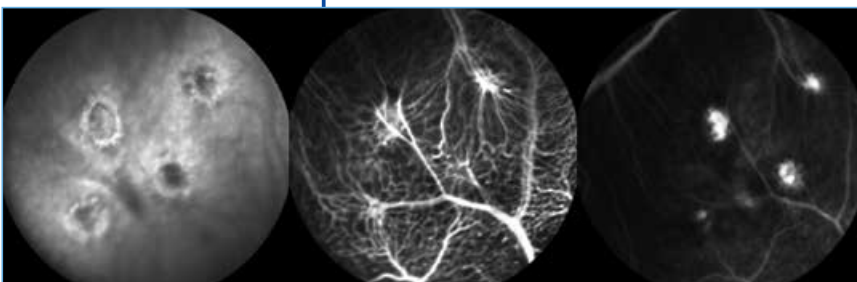
hat tiefere Ursachen, die oftmals noch nicht ausreichend verstanden sind und somit noch nicht therapiert werden können. Mit der AMD zusammenhängende genetische Faktoren (Francis & Klein, 2011) und die Rolle des Immunsystems (Nussenblatt & Ferris, 2007) sind ebenfalls in ihrer Komplexität erst teilweise bekannt. Außerdem scheinen bei der neovaskulären AMD auch andere Mechanismen als nur eine erhöhte VEGF-Produktion eine Rolle zu spielen. Gegenwärtig steht das PDGF-B im Fokus, ein Wachstumsfaktor, der von den Endothelzellen der Blutgefäße sezerniert wird und die Perizyten rekrutiert, die ihrerseits die im Rahmen einer Neovaskularisation neu entstandenen Blutgefäße stabilisieren, auch gegenüber einem Entzug von VEGF. [Jo et al., 2006]

An unserer Augenklinik richten wir demzufolge unsere Grundlagenforschung auf ungeklärte Fragen der pathologischen Neovaskularisation des Augenhintergrundes aus, um neue, die anti-VEGF-Wirkstoffe ergänzende Therapieansätze zu finden, die gegen andere, parallel verlaufende Pathomechanismen der Neovaskularisation gerichtet sind und andere Zielstrukturen zu einem früheren Zeitpunkt in der Krankheitsentstehung beeinflussen. Im Mittelpunkt steht die Untersuchung der choroidalen Neovaskularisation (CNV) im Rahmen der feuchten AMD, aber auch retinale Neovaskularisationen bei Frühgeborenenretinopathie und diabetischer Retinopathie dienen als Model der Angiogenese. Folgende Schwerpunkte werden untersucht:

1. die Rolle von Immunzellen bei der AMD
2. die pharmakologische Beeinflussung von Endothelzellen und der pathologischen Neovaskularisation
3. die Rolle von potentiell toxischen Substanzen bei der AMD,
4. Eigenschaften und Verhalten anderer gebietsständiger Zellen im Gebiet der Neovaskularisation, z. B. von Perizyten,

Abbildung 1

■ Beispiel der Darstellung von Laserherden im Mausauge im Infrarot-SLO-Bild sowie der Früh- und Spätphase der Fluoreszenzangiographie.



5. Weiterentwicklung der *in-vivo*-Bildgebung mittels FAG, OCT und Fundusfotographie

Die Erforschung der zugrundeliegenden Mechanismen der neovaskulären AMD ist nicht einfach, weder klinisch noch experimentell. Die vorhandenen Tiermodelle bilden jeweils nur einige Aspekte dieser Krankheit nach. Dennoch werden solche Tiermodelle ausgiebig in der Forschung genutzt. [Grossniklaus et al., 2010; Pennesi et al., 2012] Wir wenden vor allem das Modell der Laser-induzierten choroidalen Neovaskularisation bei Mäusen an. Wenngleich dieses experimentelle Modell nicht genau der CNV beim Patienten entspricht, ist es zum Studium verschiedener Aspekte sehr nützlich und wird deshalb von vielen Arbeitsgruppen angewandt. Durch die Laserbehandlung wird die äußere Blut-Retina-Schranke zerstört und eine fokale Entzündung induziert, was zu einem Einwachsen choroidaler Gefäße führt. So bildet dieses Tiermodell zugleich zwei pathogenetische Hauptmerkmale der feuchten AMD nach.

Die Gebiete der Laser-induzierten CNV lassen sich funduskopisch, mittels der optischen Kohärenztomographie (OCT) und der Fluoreszenzangiographie (FA) darstellen und semiquantitativ erfassen (**Abb. 1**). Erleichtert wird dies durch die Nutzung transgener Tiere, bei denen bestimmte Zellpopulationen spezifisch fluoreszieren. Wir verwenden Mäuse, bei denen ein Allel im Gen für CX₃CR1 (u. a. Mikroglia-Zellen, dendritische Zellen und Makrophagen) oder für α SMA (Perizyten) durch das Gen für GFP (*green fluorescent protein*) ersetzt wird. Deshalb können diese Zellen im Auge des lebenden Tieres durch ihre Autofluoreszenz identifiziert werden (**Abb. 2**), und ihr Verhalten nach der Laserstimulation kann *in vivo* verfolgt werden.

Mikroglia-Zellen befinden sich als die immun-kompetenten Zellen des Zentralnervensystems auch in der Netzhaut. Sie überwachen den Zustand vor allem der Nervenzellen und Photorezeptoren und greifen im Falle einer Unregelmäßigkeit ein. Perizyten befinden sich an den retinalen Blutgefäßen und umschließen diese mit ihren Fortsätzen. Sie tauschen mit den Endothelzellen Wachstumsfaktoren aus, stabilisieren somit die Blutgefäße und bilden einen Teil der inneren Blut-Retina-Schranke.

Bei CX₃CR1^{GFP/+}-Tieren konnten wir zeigen, dass die fluoreszenten Immunzellen innerhalb von wenigen Stunden nach einer Laserbehandlung in den Laserherd einwandern. Mittels Durchflusszytometrie konnten die einzelnen Immunzellpopulationen anhand ihrer charakteristischen Oberflächenmoleküle unterschieden werden. Während in der Aderhaut keine Mikrogliazellen auftreten, sind sie in der Retina in hoher Anzahl vertreten.

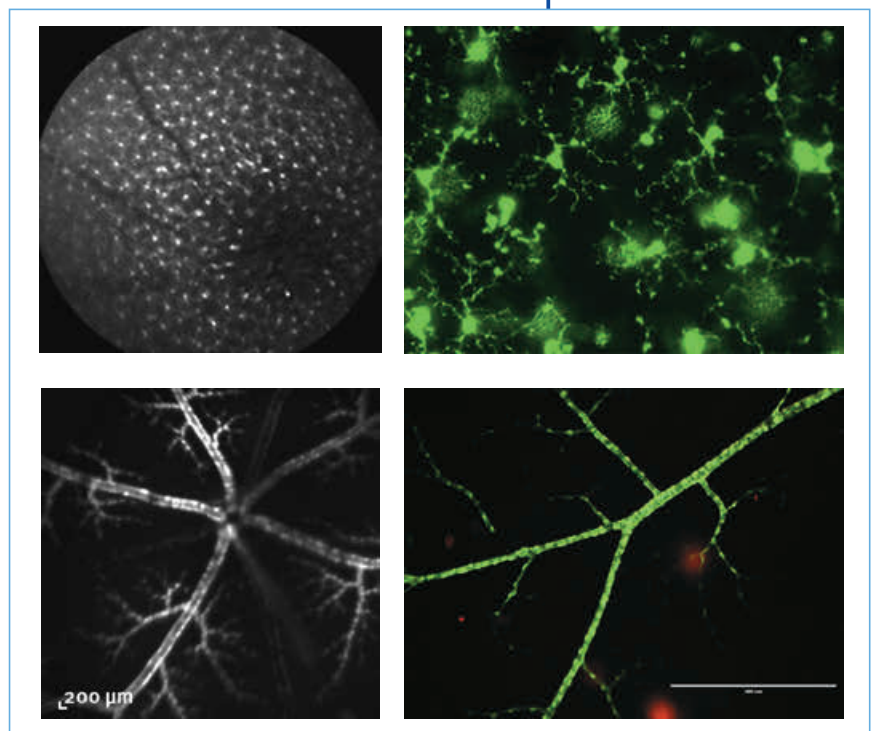
Dendritische Zellen und Makrophagen tauchen nur in relativ geringer Menge in der Retina auf, während sie in der Aderhaut in großer Menge vorhanden sind, mit einem Maximum bei zwei Tagen nach der Laserbehandlung. [Eter et al., 2008; Eter, 2010] Immunhistochemisch ließ sich ebenfalls das Einwandern von VEGF-positiven Mikrogliazellen in den Laserherd zeigen [in Vorbereitung].

Basierend auf diesen Ergebnissen untersuchen wir aktuell die Rolle dieser Immunzellen und residenter retinaler Zellen bei der VEGF-Produktion. Auf Grund der starken initialen Immunreaktion interessierte uns die Bedeutung des CCR2-Rezeptors im Hinblick auf diese Immunzellen [Krause et al., 2013]. Ergebnisse hierzu befinden sich gerade in der Publikation und zeigen vielversprechende Bedeutung dieses Immunzellrezeptors auf die VEGF-produzierenden Makrophagen.

Untersuchungen therapeutischer Ansätze basieren häufig auf Beobachtungen in der Onkologie. Polyphenole zeigen dort vielfältige Effekte, unter anderem schränken sie wirkungsvoll proangiogene Veränderungen und den oxidativen Streß ein. *In vitro* zeigten wir an kultivierten RPE-Zellen, dass die drei Polyphenole Resveratrol (aus Rotwein), Epigallocatechingallat (aus grünem Tee) und Curcumin (aus der Wurzel *Curcuma longa*) die Proliferation und VEGF-Produktion dieser Zellen negativ beeinflussen [Alex et al. 2010]. Folgestudien an retinalen Endothelzellen sind ebenfalls vielversprechend [Alex et al., in Vorbereitung]. Die *in-vivo*-Anwendung der Polyphenole im Maus-

Abbildung 2

■ GFP-positiv Mikrogliazellen (obere Reihe) und Pericyten (untere Reihe) im Auge *in vivo* (links) oder *ex vivo* im retinalen Ganzpräparat (rechts).



modell stellt eine Herausforderung dar, da die Bioverfügbarkeit der Substanzen gering ist. Trotzdem kann eine verminderte Einwanderung von Immunzellen in den Laserherd beobachtet werden. [Alex et al., 2013]

Zur medikamentösen Behandlung retinaler Ödeme untersuchen wir den Stellenwert des retinalen Renin-Angiotensin-Aldosteron-Systems (RAAS). Die Untersuchung der Effekte der pharmakologische Beeinflussung der entsprechenden Rezeptoren durch Agonisten und Antagonisten des RAAS im CNV-Modell befindet sich aktuell im Anfangsstadium.

TRANSLATION

Die Untersuchungen im Labor haben unmittelbaren Einfluss auf klinische Fragestellungen. Auch hier gilt es, Faktoren für die Pathogenese der trockenen und feuchten AMD zu identifizieren. Neben der Frage der Genese retikulärer Pseudodrusen (RPD) untersuchten wir die funktionellen Auswirkungen dieses Phänotyps. Mittels multifokaler Elektroretinographie konnten wir zeigen, dass RPD im Unterschied zu Phänotypen der frühen AMD keine funktionellen Auswirkungen auf die Netzhaut haben. [Alten et al., 2012]

Weitere Untersuchungen ergaben aber, dass die Choroidea eine wichtige Rolle bei der Entstehung von RPD spielt. Wir konnten eine topographische Beziehung lokalisierte Areale der RPD zu reduzierten choroidalen Volumina sowie zum Auftreten choroidaler Wasserscheiden, als Marker von choroidaler Minderperfusion, darstellen. [Alten et al., 2013]

Eine weitere wichtige klinische Fragestellung ist die Reaktion verschiedener Subtypen retinaler Pigmentepithelabhebungen auf anti-VEGF-Behandlungen. Retinale Pigmentepithelabhebungen, eine Unterform der AMD, waren bei fast jeder multizentrischen Therapiestudie zuvor ausgeschlossen. Wir untersuchen phänotypische Charakteristika dieser Entität auf klinisch-therapeutische Implikationen. So konnten wir erstmals zeigen, dass hyperreflektive Veränderungen in der konfokalen Scanning-Laser-Ophthalmoskopie basierten Nah-Infrarot-Aufnahme (NIR) einem Einriss des retinalen Pigmentepithels (RPE) unmittelbar vorausgehen. Diese Signale werden derzeit in einem größeren Patientenkollektiv validiert und dienen möglicherweise als prädiktives Merkmal von Pigmentepitheleinrissen. In einer weiteren Arbeit konnten der Stellenwert der Fundusautofluoreszenz-Bildgebung (FAF) auf die klinische Relevanz der Darstellung und Quantifizierung der Fläche von RPE-Einrissen untersucht werden und charakteristische Merkmale multilobulärer Rissläsionen determiniert werden. Die Beurteilung von RPE-

Läsionen mittels FAF-basierter manueller und semi-automatischer Messung ist hierbei präzise, reproduzierbar und der manuellen NIR-basierten Messung überlegen. [Clemens et al., 2013; Clemens et al., 2013].

AUSBLICK

Ein wichtiger therapeutischer Ansatz in der Prophylaxe der AMD scheint eine direkte Beeinflussung der Mikrogliazellen zu sein. Wir führten *in-vitro*-Versuche durch, um den Einfluss verschiedener Substanzen, die bei der Pathogenese der AMD eine Rolle spielen könnten, auf die Proliferation der Mikrogliazellen, ihr Phagozytoseverhalten, die Expression von Aktivierungsmarkern und die Sekretion verschiedener Faktoren wie z. B. VEGF-A und TNF- α zu untersuchen.

Das Verhalten der Mikroglia bei der Laser-induzierten CNV steht im Fokus eines weiteren Forschungsprojektes. Hier geht es um Signalmoleküle, die die Mikroglia in den subretinalen Raum locken, sowie Chemokine, die von den Mikrogliazellen selbst produziert werden. Weiterhin werden derzeit Faktoren und Wechselwirkungen bei länger andauernden Neovaskularisationen untersucht, in der Hoffnung, von VEGF unabhängige Wege des Gefäßwachstums und Ödembildung zu verstehen, um neue Behandlungswege der feuchten AMD zu erschließen.

LITERATUR

1. Alex A. F., Spitznas M., Tittel A. P., Kurts C., Eter N. Inhibitory effect of epigallocatechin gallate (EGCG), resveratrol, and curcumin on proliferation of human retinal pigment epithelial cells in vitro. *Curr Eye Res.* 2010; 35 (11): 1021–1033.
2. Alex A. F., Spitznas M., Kurts C., Eter N. Inhibitory effects of resveratrol, epigallocatechin gallate (EGCG), and curcumin on the proliferation of human retinal endothelial cells in vitro. ARVO 2013, Poster No. 1946, Seattle.
3. Alten F., Heiduschka P., Clemens C. R., Eter N. Multifocal electroretinography in eyes with reticular pseudodrusen. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2012; 53: 6263–6270.
4. Alten F., Clemens C. R., Heiduschka P., Eter N. Localized reticular pseudodrusen and their topographic relation to choroidal watershed zones and changes in choroidal volumes. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2013; 54: 3250–3257.
5. Ambati J., Ambati B. K., Yoo S. H., Janchulev S., Adamis A. P. Age-related macular degeneration: etiology, pathogenesis, and therapeutic strategies. *Surv Ophthalmol.* 2003; 48 (3): 257–293.
6. Bressler N. M. Age-related macular degeneration is the leading cause of blindness. *JAMA* 2004; 291: 1900–1901.
7. Brown G., Brown M. M. Let us wake the nation on the treatment for age-related macular degeneration. *Curr Opin Ophthalmol* 2010; 21: 169–171.

8. Chiang A., Regillo C.D. Preferred therapies for neovascular age-related macular degeneration. *Curr Opin Ophthalmol* 2011; 22: 199–204.
9. Chong V. Biological, Preclinical and Clinical Characteristics of Inhibitors of Vascular Endothelial Growth Factors. *Ophthalmologica* 2012; 227 (suppl. 1): 2–10.
10. Clemens C.R., Alten F., Baumgart C., Heiduschka P., Eter N. Quantification of retinal pigment epithelium tear area in age-related macular degeneration. *Retina*. 2013 Jun 5. [Epub ahead of print]
11. Clemens C.R., Bastian N., Alten F., Milojcic C., Heiduschka P., Eter N. Prediction of retinal pigment epithelium tear in serous vascularized pigment epithelium detachment. *Acta Ophthalmol*. 2013 Jul 2. [Epub ahead of print]
12. Eter N. Molecular imaging in the eye. *Br J Ophthalmol*. 2010; 94 (11): 1420–1426.
13. Eter N., Engel D.R., Meyer L., Helb H.M., Roth F., Maurer J., Holz F.G., Kurts C. In vivo visualization of dendritic cells, macrophages, and microglial cells responding to laser-induced damage in the fundus of the eye. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2008; 49 (8): 3649–3658.
14. Ferrara N., Gerber H.P., LeCouter J. The biology of VEGF and its receptors. *Nat Med* 2003; 9: 669–676.
15. Francis P.J., Klein M.L. Update on the role of genetics in the onset of age-related macular degeneration. *Clin Ophthalmol* 2011; 5: 1127–1133.
16. Jo N., Mailhos C., Ju M., Cheung E., Bradley J., Nishijima K., Robinson G.S., Adamis A.P., Shima D.T. Inhibition of platelet-derived growth factor B signaling enhances the efficacy of anti-vascular endothelial growth factor therapy in multiple models of ocular neovascularization. *Am J Pathol* 2006; 168: 2036–2053.
17. Grossniklaus H.E., Kang S.J., Berglin L. Animal models of choroidal and retinal neovascularization. *Progr Ret Eye Res* 2010; 29: 500–519.
18. Klein R., Klein B.E., Knudtson M.D., Meuer S.M., Swift M., Gangnon R.E. Fifteen-year cumulative incidence of age-related macular degeneration: the Beaver Dam Eye Study. *Ophthalmology*. 2007; 114 (2): 253–262.
19. Krause T., Alex A.F., Engel D.R., Kurts C., Eter N. CCR2-dependent recruitment of VEGF-producing macrophages promotes neovascularization after laser injury. ARVO 2013, Poster No. 328, Seattle.
20. Kliffen M., Sharma H.S., Mooy C.M., et al. Increased expression of angiogenic growth factors in age-related maculopathy. *Br J Ophthalmol* 1997; 81: 154–162.
21. Lim L.S., Mitchell P., Seddon J.M., Holz F.G., Wong T.Y. Age-related macular degeneration. *Lancet* 2012; 379: 1728–1738.
22. Nussenblatt R.B., Ferris III, F. Age-related macular degeneration and the immune response: implications for therapy. *Am J Ophthalmol* 2007; 144: 618–626.
23. Stewart M.W. The expanding role of vascular endothelial growth factor inhibitors in ophthalmology. *Mayo Clin Proc*. 2012; 87 (1): 77–88.
24. Lally D.R., Gerstenblith A.T., Regillo C.D. Preferred therapies for neovascular age-related macular degeneration. *Curr Opin Ophthalmol* 2012; 23: 182–188.
25. Pennesi M.E., Neuringer M., Courtney R.J. Animal models of age related macular degeneration. *Mol Aspects Med* 2012; 33: 487–509.
26. van Leeuwen R., Klaver C.C., Vingerling J.R., Hofman A., de Jong P.T. Epidemiology of age-related maculopathy: a review. *Eur J Epidemiol*. 2003; 18 (9): 845–854.
27. Veritti D., Sarao V., Lanzetta P. Neovascular age-related macular degeneration. *Ophthalmologica* 2012; 227 (Suppl. 1): 11–20.

Herr Priv.-Doz. Dr. rer. nat. Peter Heiduschka, Jahrgang 1960, ist Leiter des Forschungslabors der Universitäts-Augenklinik Münster (Direktorin: Univ.-Prof. Dr. med. Nicole Eter). Herr Heiduschka studierte 1981–1985 Chemie und Mathematik in Halle und promovierte dort 1988 in der Sektion Biologie/Chemie zum Thema »enzymkatalysierte Peptidsynthese«. Er begann seine Forschungstätigkeit zunächst im Fachbereich Chemie in Halle, und wechselte 1992 zunächst als Stipendiat der DFG, später als wissenschaftlicher Assistent an das Institut für physikalische und theoretische Chemie der Universität Tübingen. Von 1995 bis 1997 war er als wiss. Assistent im Labor der Universitäts-Augenklinik Tübingen tätig, und arbeitete dort an Prozessen der De- und Regeneration des Sehnervs. Von 1997 bis 2003 wechselte er an die Abteilung für Experimentelle Ophthalmologie der Universitäts-Augenklinik Münster,

wo er sich 2002 zum Thema »zelluläre und funktionelle Aspekte der Neuroprotektion und Regeneration im zentralen Nervensystem am Beispiel des visuellen Systems der Ratte« habilitierte. Nach 2-jähriger Tätigkeit als Laborleiter in einer Forschungsabteilung der Novartis Pharma AG/Basel wechselte er erneut an die Universitäts-Augenklinik Tübingen, von der aus er 2010 als Laborleiter nach Münster zurückkehrte.

Priv.-Doz. Dr. rer. nat. Peter Heiduschka
 Universitäts-Augenklinik Münster
 Domagkstraße 15
 48149 Münster
 Telefon: 0251 83-57532
 Telefax: 0251 83-56003
 E-Mail: heidusch@uni-muenster.de



KONTAKT





Frau Prof. Dr. med. Nicole Eter, Jahrgang 1969, ist Direktorin der Universitäts-Augenklinik Münster. Nach Studium der Humanmedizin und Promotion am Institut für klinische Biochemie der Universität Bonn arbeitete Sie als AIP und Assistenzärztin an der Universitäts-Augenklinik Bonn und erhielt 1999 die Anerkennung als Fachärztin für Augenheilkunde. Sie wurde im gleichen Jahr zur Oberärztin ernannt. Es folgte 2002 die Habilitation sowie die Ernennung zur leitenden Oberärztin und stellvertretenden Klinikdirektorin. Von Dezem-

ber 2002 bis November 2003 leitete Frau Eter nach Ausscheiden des Lehrstuhlinhabers kommissarisch die Universitäts-Augenklinik in Bonn bis zur Wiederbesetzung des Lehrstuhls. 2007 erfolgte die Ernennung zur außerplanmäßigen Professorin. 2010 wurde Frau Eter auf den Lehrstuhl für Augenheilkunde der Universität Münster berufen.

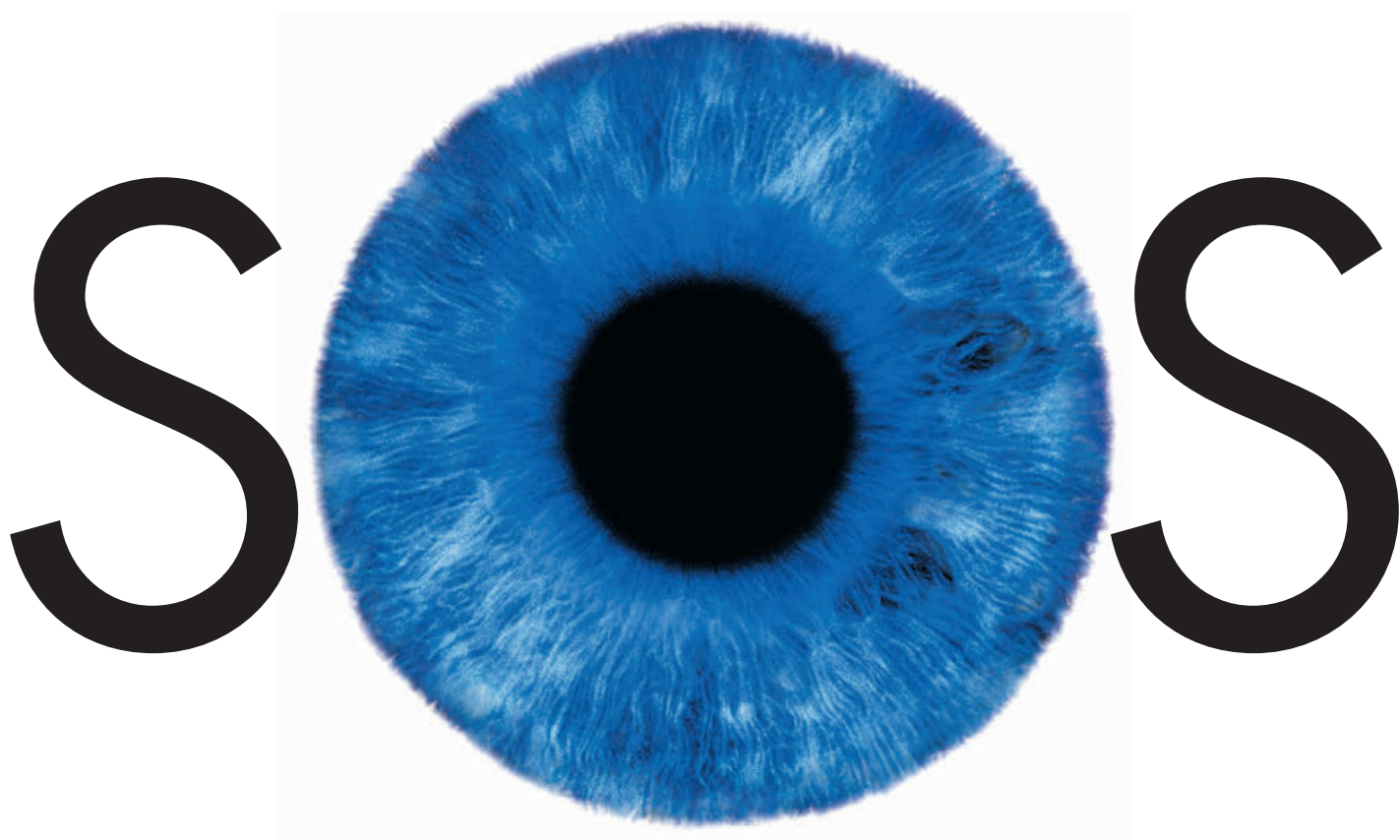
Der klinische Fokus von Frau Prof. Eter liegt auf der konservativen und chirurgischen Therapie des vorderen und hinteren Augenabschnittes. Zu ihren wissenschaftlichen Schwerpunkten gehören die Pathophysiologie und Therapie der altersabhängigen Makuladegeneration, die Möglichkeiten des »High-resolution imaging« bei Pigmentepithelabhebungen, das »In vivo molecular imaging« retinaler Strukturen, die Anti-Angiogeneseforschung im Tiermodell und die Nanotechnologie am Augenhintergrund.

KONTAKT



Univ.-Prof. Dr. med. Nicole Eter
 Direktorin der Klinik
 Universitäts-Augenklinik Münster
 Domagkstraße 15
 48149 Münster
 Telefon: 0251 83-56004
 Telefax: 0251 83-56003
 E-Mail: eter@uni-muenster.de

SAVE OUR SIGHT



Sehen ist unsere Vision



www.pfizer.de

Interaktion von Pathophysiologie und Plastizität im menschlichen Sehsystem

PROF. DR. RER. NAT. MICHAEL HOFFMANN

Sektion für Klinische und Experimentelle Sinnesphysiologie

Klinik für Augenheilkunde,
Otto-von-Guericke
Universität,
Magdeburg

Die Kenntnis der Wechselwirkungen von Pathophysiologie und Plastizität im menschlichen Sehsystem ist von großer Tragweite für die Optimierung zukünftiger therapeutischer Ansätze in der Ophthalmologie. So hat eine Restauration des visuellen Eingangs, beispielsweise nach Schädigung der Retina, nur dann den gewünschten Effekt, wenn das nachgeschaltete Sehsystem noch in der Lage ist, den wiederhergestellten Eingang zu verarbeiten. Umfangreiche neuronale Plastizität kann jedoch beispielsweise zu einer Umwidmung eines deafferentierten Substrates führen (Morland, Baseler, Hoffmann, Sharpe, & Wandell, 2001). Bei einer Reaktivierung des retinalen Eingangs wären also sensorische Konflikte und somit Einschränkungen des therapeutischen Erfolges zu erwarten. Die Detail-Charakterisierung des Status des menschlichen Sehsystems wäre also insbesondere in Hinblick auf neuartige Behandlungsoptionen bedeutsam. Die erforderlichen Untersuchungsansätze lassen sich aus dem Methodenkanon der modernen Hirn- und Sehforschung ableiten. Ihre Anpassung auf ophthalmologische Fragestellungen stellt nicht nur eine Optimierung der Diagnostik und der Prognose und Objektivierung von Therapieerfolgen in Aussicht, sie führt auch zu einer wesentlichen Vertiefung unseres Verständnisses von Entwicklungs- und Reorganisationsprozessen in menschlichen sensorischen Systemen. Im Folgenden sind Arbeiten zur Optimierung der nicht-invasiven Funktionsüberprüfung des menschlichen Sehsystems und ihrer Anwendung auf ophthalmologische Fragestellungen, hier am Beispiel von Chiasma-Abnormalitäten, dargestellt.

METHODEN ZUR OBJEKTIVEN UNTERSUCHUNG DES MENSCHLICHEN SEHSYSTEMS

OPTIMIERUNG ELEKTROPHYSIOLOGISCHER ANSÄTZE

Die nicht-invasive Elektrophysiologie, das heißt insbesondere die Messungen von Elektroretinogrammen (ERGs) und visuell evozierten Potentialen (VEPs), hat schon seit langem einen festen

Platz im Methodenspektrum der Ophthalmologie. Durch die Kombination mit der multifokalen Technik (Sutter & Tran, 1992) ist sie um die objektive orts aufgelöste Funktions- und Gesichtsfeldüberprüfung auf retinaler und kortikaler Ebene erweitert worden. Die multifokale Elektrophysiologie leistet einen wesentlichen Beitrag zur Erforschung von Physiologie und Pathophysiologie des Sehens (Hoffmann, 2008). Erschwert werden diese Untersuchungen durch nicht-neuronale Nebeneffekte, die Pathophysiologien des neuronalen Substrates begleiten, wie beispielsweise Medientrüben, Refraktionsfehler oder Fixationsungenauigkeiten. Wir haben eine Serie von Studien durchgeführt, um klar zwischen diesen Effekten und neuronalen Defekten differenzieren zu können (z. B. Herbig, Hölzl, Reusch, & Hoffmann, 2013; Hoffmann, Lorenz, Preisung, & Seufert, 2006; Hoffmann & Seufert, 2005; Pieh, Hoffmann, & Bach, 2005). Ferner haben wir multifokale Simultanableitungen von Retina und visuellem Kortex zur Funktionsüberprüfung entlang der Sehbahn etabliert (Hoffmann & Flechner, 2008). Diese Methodenoptimierungen der multifokalen Elektrophysiologie erhöht die Aussagekraft bei der Funktionsüberprüfung und ermöglicht die Aufdeckung von Pathomechanismen, die Analyse von plastischen Prozessen sowie die Identifikation kompensatorischer Strategien im menschlichen Sehsystem.

RETINOTOPE KARTIERUNG DES VISUELLEN KORTEX MIT fMRT

Moderne MRT-Ansätze zur Untersuchung des menschlichen Gehirns wie funktionelle Bildgebung (fMRT), Detailanalysen der Hirnanatomie mit voxelbasierter Morphometrie und Fiber-Tracing, haben einen festen Platz in der Riege der Instrumente zur Hirnforschung. Bemerkenswerterweise sind diese Techniken bislang nicht in den Methodenkanon der Ophthalmologie integriert worden. Der menschliche visuelle Kortex umfasst über 20 Areale, die sich durch ihre funktionelle Spezialisierung bei der Verarbeitung des visuellen Eingangs unterscheiden. Diese Areale sind im allgemeinen retinotop organisiert, benachbarte

Förderung:

Diese Arbeiten wurden u. a. durch die DFG gefördert (H02002/3, H02002/4-1/2, H02002/6-1, H02002/9-1, H02002/10-1/2)

Orte im Gesichtsfeld sind also auch in den visuellen Arealen an benachbarten Orten repräsentiert. Die fMRT-basierte retinotopie Kartierung des visuellen Kortex (Engel, et al., 1994; Sereno, et al., 1995), hat sich als ein Schlüssel zur Identifikation visueller Areale im Menschen erwiesen und ist somit zu einem wesentlichen Werkzeug zur Untersuchung des menschlichen visuellen Kortex geworden (**Abbildung 1A**). In separaten Messungen werden dabei die Repräsentationen der Exzentrizitäten (**Abbildung 1B**) und die der polaren Winkel kartiert. **Abbildung 2** zeigt darüber hinaus anhand der während einer Exzentrizitäts- bzw. Polarwinkelkartierung gemessenen axialen Schnittbilder, wie die hochaufgelöste funktionelle Bildgebung ($\leq 1.1^3 \text{ mm}^3$) von der Messung bei der ultra-hohen Magnetfeldstärke von 7 Tesla profitiert (Hoffmann, et al., 2009) und somit aussagekräftige Detailanalysen der Wechselwirkungen von Pathophysiologie und Plastizität in Aussicht stellt. Diese fMRT-Methodik ermöglicht nicht nur die Identifikation und Funktionsbeschreibung einer Vielzahl visueller Areale, sondern auch die Untersuchung der Plastizität der kortikalen Karten bei angeborenen und erworbenen Sehbahnabnormalitäten (Morland, et al., 2001).

ANWENDUNGEN IN DER OPHTHALMOLOGIE – KONSEQUENZEN KONGENITALER FEHLBILDUNGEN DES CHIASMA OPTICUMS AUF DIE ENTWICKLUNG DER SEHBAHN

CHARAKTERTISTIKA UND NACHWEIS VON ALBINISMUS UND ACHIASMIE

Kongenitale Sehbahnabnormalitäten bieten einen einzigartigen Zugang zum Verständnis der Prinzipien, welche der Entwicklung und Plastizität des menschlichen Sehsystems zu Grunde liegen (Hoffmann, Schmidtborn, & Morland, 2007). Bei Albinismus und Achiasmie führen eine verstärkte beziehungsweise verringerte Kreuzung der Sehnerven am Chiasma opticum dazu, dass

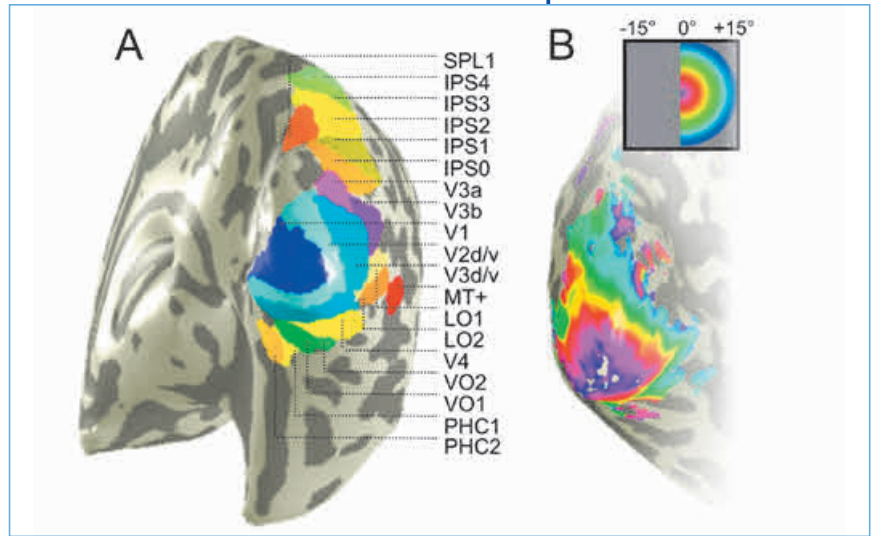


Abbildung 1
 ■ **Projektion von Kartierungen auf aufgeblasenen Hemisphären eines Normalprobanden.**
A Ergebnis aus Exzentrizitäts- und Polarwinkelkartierung. Jedem der 19 retinotopen Areale im Okzipital- und Parietallappen ist eine Farbe zugewiesen (SPL1: Areal im superioren Parietallappen; IPS0-4: Areale im intraparietalen Sulcus; V1-4: frühe visuelle Areale im Okzipitalappen; MT+: medio-temporaler Komplex; LO1-2: Areale im lateralen Okzipitalappen; VO1-2: Areale im ventralen Okzipitalappen; PHC1-2: Areale im parahippocampalen Kortex.). **B** Okzipitalapertur mit Exzentrizitätskarte (Falschfarbendarstellung) und fovealer Repräsentation an okzipitalem Pol. Nach Hoffmann et al. 2011.

jede Hemisphäre zusätzlich zur Information aus der gegenüberliegenden Gesichtsfeldhälfte, auch einen beträchtlichen Eingang aus der gleichseitigen Gesichtsfeldhälfte erhält. Albinismus ist nicht immer von einem auffälligen Pigmentdefizit begleitet und bei Achiasmie ist normale Pigmentierung die Regel. Insbesondere in diesen Fällen stellt daher der elektrophysiologische Nachweis abnormaler Sehnervenprojektionen mit VEPs (Apkarian, 1983; Hoffmann et al. 2005) eine bedeutsame Hilfestellung bei der Differentialdiagnostik von Patienten mit kongenitaler Visusminderung und Nystagmus dar. Wir haben diesen Ansatz zur Erhöhung seiner Sensitivität auf die Messung von multifokalen VEPs übertragen (Hoffmann, 2008) und gezeigt, dass bei Überträgern unterschiedlicher Albinismustypen und bei Patienten mit generellen Lateralisierungsabnormalitäten Sehnervenfehlprojektionen, selbst geringen Ausmaßes, nicht ausgeprägt sind (Hoffmann, et al., 2006; Hoffmann, et al., 2011; Hoffmann, Wolynski, Meltendorf, Behrens-Baumann, & Kasman-Kellner, 2008). Dies ist ein wichtiger Beleg der Spezifität dieses empfindlichen und differentialdiagnostisch bedeutsamen elektrophysiologischen Verfahrens zur Sehbahnbeurteilung.

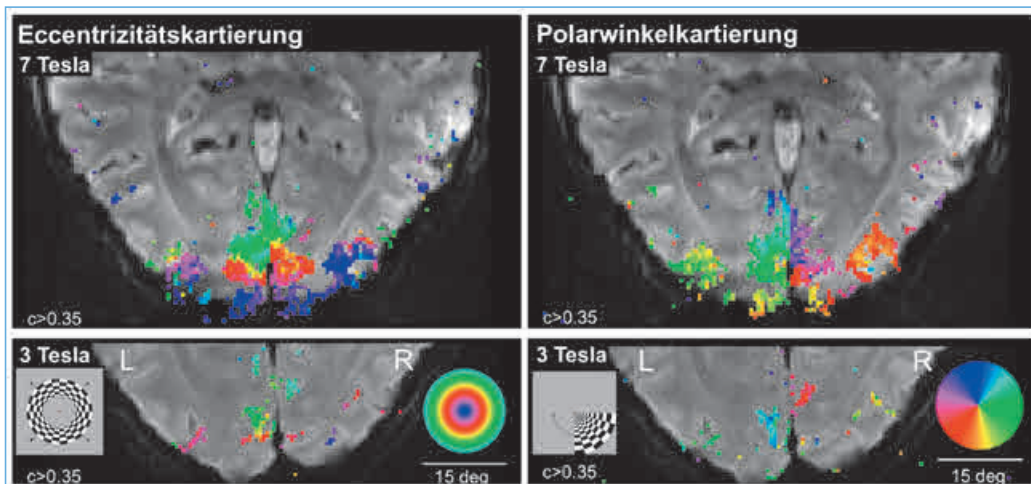


Abbildung 2
 ■ **Aktivierungsmuster in den gemessenen Schnittbildern bei Exzentrizitäts- und Polarwinkelkartierung.** Hochaufgelöste Bildgebung bei einer Voxelgröße von 1^3 mm^3 führt bei 7 Tesla (oben) Magnetfeldstärke zu zuverlässigeren Signalen als bei 3 Tesla (unten). Nach Hoffmann et al. 2009.

AUSWIRKUNGEN AUF DIE FUNKTIONELLE ORGANISATION DES VISUELLEN KORTEX

Bei Achiasmie und Albinismus treten zwar eine Reihe okulärer Symptome in variabler Ausprägung auf, wie Nystagmus, Strabismus, Stereosehchwäche, Visus-Reduktion und, zusätzlich bei Albinismus, okuläre Hypopigmentierung und foveale Hypoplasie, andere wesentliche Sehfunktionen sind aber erhalten. So treten keine spezifischen Gesichtsfeldausfälle auf und auch das Mustersehen ist, im Rahmen der Visusbeeinträchtigung, funktionsfähig (Hoffmann, Seufert, & Schmidtborn, 2007; Klemen, Hoffmann, & Chambers, 2012; Wolynski, Kanowski, Meltendorf, Behrens-Baumann, & Hoffmann, 2010). Das Vorliegen abnormaler kortikaler Repräsentationen hat also erstaunlich geringe Effekte auf die visuelle Wahrnehmung. Entsprechend wurde auch bei einer zu starken Sehnervenkreuzung bei Albinismus oder einer zu schwachen bei Achiasmie ein Netzwerk retinotop organisierter Areale nachgewiesen, das dem Normalfall in wesentlichen Anteilen entspricht (Davies-Thompson, Scheel, Jane Lanyon, & Sinclair Barton, 2013; Hoffmann, et al., 2012; Hoffmann, Tolhurst, Moore, & Morland, 2003; Muckli, Naumer, & Singer, 2009). Allerdings liegt hier aufgrund der Sehnervenfekreuzung in den einzelnen visuellen Arealen, zusätzlich zur retinotopen Karte der gegenüberliegenden Gesichtsfeldhälfte, eine retinotop Karte der gleichseitigen Hälfte vor (**Abbildung 3**). Obschon diese Karten einander überlagert sind, werden sie beide unabhängig voneinander für die visuelle Wahrnehmung genutzt (Hoffmann, et al., 2012; Klemen, et al., 2012). Diese Ergebnisse lassen darauf schließen, dass die ursprünglichen anatomischen geniculo-striären Verbindungen auch bei kongenitalen Projektionsfehlern erhalten sind. Die resultierende atypische Organisation des visuellen Kortex wird also, vermutlich durch erfah-

rungsbedingte Änderungen der intrakortikalen Verbindungen (Sinha & Meng, 2012), der normalen visuellen Funktion zugänglich gemacht. Dies unterstreicht das Potential des Zusammenspiels von Stabilität und Plastizität insbesondere während der Entwicklung des menschlichen Sehsystems.

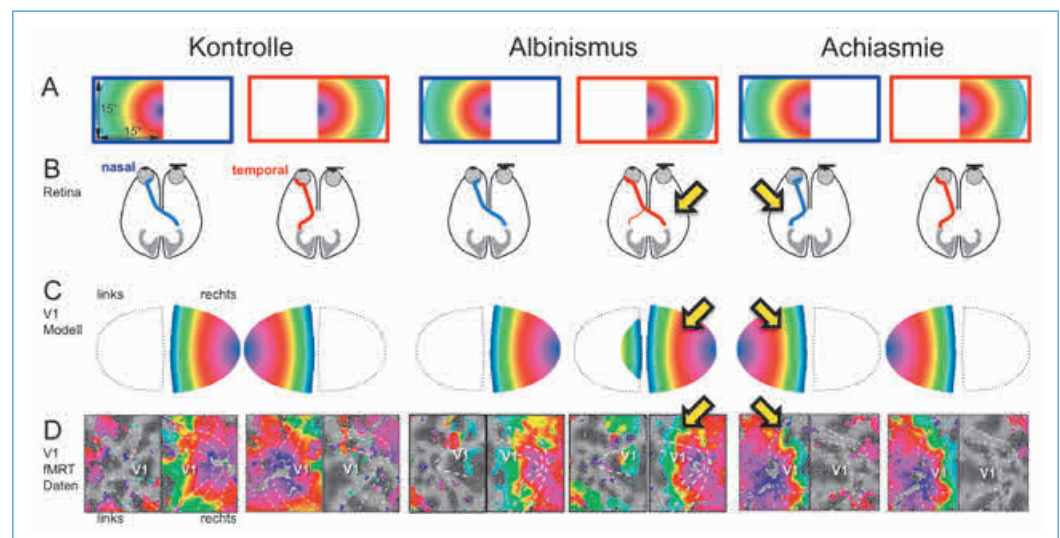
AUSWIRKUNGEN AUF DIE SEHBAHNANATOMIE

Die quantitative Untersuchung von Morphologie und Einfaltung des visuellen Kortex bei von Albinismus-Betroffenen belegt einerseits Veränderungen der Kortexmorphologie, die mit dem durch die Fovea-Hypoplasie bedingten geringeren Eingang aus der Fovea in Zusammenhang gebracht werden, und andererseits eine Verdickung des anterioren primären visuellen Kortex (Bridge, et al., 2012; von dem Hagen, Houston, Hoffmann, Jeffery, & Morland, 2005). Letzteres wurde auch bei frühkindlicher Blindheit nachgewiesen und wird dort als Zeichen der fehlenden Reifung des visuellen Kortex gedeutet (Jiang, et al., 2009). Die Bestimmung von Korrelaten anatomischer Verbindungen in der Sehbahn ist durch Fiber-Tracking bei der Diffusionsbildgebung möglich. So wurde in einer Fallstudie zur Achiasmie belegt, dass trotz kongenitalen Fehlens des Chiasma opticum die Konnektivität über Tractus opticus, Sehstrahlung und posteriorem Corpus callosum weitgehend normal ist (Hoffmann, et al., 2012). Dieses Ergebnis unterstreicht das Fehlen größerer Veränderungen der postchiasmatischen Sehbahn-anatomie bei Anlagestörungen des Chiasma opticum. Der chiasmatische Projektionsfehler wird also nicht durch allgemeine großformatige Veränderungen nachgeschalteter Verbindungen korrigiert.

Abbildung 3

■ Exzentrizitätskarten von Probanden mit partieller (Kontrolle), verstärkter (Albinismus) und reduzierter Sehnervenkreuzung (Achiasmie).

A Falschfarbendarstellung des Reizes (expandierende Ringe), **B** Projektionsschema und Karten **C** im V1-Modell und **D** im Okzipitallappen. Die Daten wurden bei einer Magnetfeldstärke von 7 Tesla mit $2,0^3 \text{ mm}^3$ Auflösung erhoben. Ergänzt nach Hoffmann et al. 2012.



BANDBREITE NEURONALER PLASTIZITÄT

Bei erworbenen Funktionsabnormalitäten, wie beispielsweise Makuladegenerationen scheint der Spielraum für plastische Vorgänge deutlich geringer zu sein als bei kongenitalen Abnormalitäten (Wandell & Smirnakis, 2009). Die Interaktion von Pathophysiologie und Plastizität im menschlichen System ist also kein stereotyper Mechanismus, sondern hängt unter anderem vom zeitlichen Ablauf der pathologischen Sehbahnveränderungen ab. Somit werden zukünftige Detailanalysen eines breiteren Spektrums an Ophthalmopathologien mit Spannung erwartet. Sie ermöglichen einerseits die Aufdeckung grundlegender Aspekte der Selbstorganisation des Sehsystems, andererseits versprechen sie wesentliche Informationen für die Beurteilung der Erfolgsaussichten zukünftiger Therapieansätze schon im Vorfeld.

LITERATUR

1. Apkarian, P. (1983). A decisive electrophysiological test for human albinism. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol*, 55 (5), 513–531.
2. Bridge, H., von dem Hagen, E. A., Davies, G., Chambers, C., Gouws, A., Hoffmann, M., et al. (2012). Changes in brain morphology in albinism reflect reduced visual acuity. *Cortex*.
3. Davies-Thompson, J., Scheel, M., Jane Lanyon, L., & Sinclair Barton, J. J. (2013). Functional organisation of visual pathways in a patient with no optic chiasm. *Neuropsychologia*, 51 (7), 1260–1272.
4. Engel, S. A., Rumelhart, D. E., Wandell, B. A., Lee, A. T., Glover, G. H., Chichilnisky, E. J., et al. (1994). fMRI of human visual cortex. *Nature*, 369 (6481), 525.
5. Herbig, A., Hölzl, G. C., Reupsch, J., & Hoffmann, M. B. (2013). Differential effects of optic media opacities on mfERGs and mfVEPs. *Clin Neurophysiol*, 124 (6), 1225–1231.
6. Hoffmann, M. B. (2008). Investigating visual function with multifocal visual evoked potentials. In B. Lorenz & F.-X. Borruat (Eds.), *Essentials in Ophthalmology: Pediatric Ophthalmology, Neuro-ophthalmology, Genetics* (Vol. 7/2, pp. 138–157). Berlin-Heidelberg-New York: Springer.
7. Hoffmann, M. B., & Flechner, J. J. (2008). Slow pattern-reversal stimulation facilitates the assessment of retinal function with multifocal recordings. *Clin Neurophysiol*, 119 (2), 409–417.
8. Hoffmann, M. B., Kaule, F. R., Levin, N., Masuda, Y., Kumar, A., Gottlob, I., et al. (2012). Plasticity and stability of the visual system in human achiasma. *Neuron*, 75 (3), 393–401.
9. Hoffmann M. B., Lorenz B., Morland A. B. Schmidtborn L. C. (2005). Misrouting of the optic nerves in albinism: Estimation of the extent with visual evoked potentials. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 46 (10), 3906–3912.
10. Hoffmann, M. B., Lorenz, B., Preising, M., & Seufert, P. S. (2006). Assessment of cortical visual field representations with multifocal VEPs in control subjects, patients with albinism, and female carriers of ocular albinism. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 47 (7), 3195–3201.
11. Hoffmann, M. B., Schmidtborn, L. C., & Morland, A. B. (2007). [Abnormal representations in the visual cortex of patients with albinism: diagnostic aid and model for the investigation of the self-organisation of the visual cortex]. *Ophthalmologe*, 104 (8), 666–673.
12. Hoffmann, M. B., & Seufert, P. S. (2005). Simulated nystagmus reduces pattern-reversal more strongly than pattern-onset multifocal visual evoked potentials. *Clin Neurophysiol*, 116 (7), 1723–1732.
13. Hoffmann, M. B., Seufert, P. S., & Schmidtborn, L. C. (2007). Perceptual relevance of abnormal visual field representations – static visual field perimetry in human albinism. *Br J Ophthalmol*, 91, 509–513.
14. Hoffmann, M. B., Stadler, J., Kanowski, M., & Speck, O. (2009). Retinotopic mapping of the human visual cortex at a magnetic field strength of 7T. *Clin Neurophysiol*, 120 (1), 108–116.
15. Hoffmann, M. B., Tolhurst, D. J., Moore, A. T., & Morland, A. B. (2003). Organization of the visual cortex in human albinism. *J Neurosci*, 23 (26), 8921–8930.
16. Hoffmann, M. B., Wolynski, B., Bach, M., Meltendorf, S., Behrens-Baumann, W., & Golla, F. (2011). Optic nerve projections in patients with primary ciliary dyskinesia. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 52 (7), 4617–4625.
17. Hoffmann, M. B., Kaule, F., Grzeschik, R., Behrens-Baumann, W., & Wolynski, B. (2011). Retinotopic mapping of the human visual cortex with functional magnetic resonance imaging – basic principles, current developments and ophthalmological perspectives. *Klin Monbl Augenheilkd*, 228, 613–620.
18. Hoffmann, M. B., Wolynski, B., Meltendorf, S., Behrens-Baumann, W., & Kasmann-Kellner, B. (2008). Multifocal visual evoked potentials reveal normal optic nerve projections in human carriers of oculocutaneous albinism type 1a. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 49 (6), 2756–2764.
19. Jiang, J., Zhu, W., Shi, F., Liu, Y., Li, J., Qin, W., et al. (2009). Thick visual cortex in the early blind. *J Neurosci*, 29 (7), 2205–2211.
20. Klemen, J., Hoffmann, M. B., & Chambers, C. D. (2012). Cortical plasticity in the face of congenitally altered input into V1. *Cortex*, 48 (10), 1362–1365.
21. Morland, A. B., Baseler, H. A., Hoffmann, M. B., Sharpe, L. T., & Wandell, B. A. (2001). Abnormal retinotopic representations in human visual cortex revealed by fMRI. *Acta Psychol (Amst)*, 107 (1–3), 229–247.
22. Muckli, L., Naumer, M. J., & Singer, W. (2009). Bilateral visual field maps in a patient with only one hemisphere. *Proc Natl Acad Sci USA*, 106 (31), 13034–13039.
23. Pieh, C., Hoffmann, M. B., & Bach, M. (2005). The influence of defocus on multifocal visual evoked potentials. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 243: 38–42
24. Sereno, M. I., Dale, A. M., Reppas, J. B., Kwong, K. K., Belliveau, J. W., Brady, T. J., et al. (1995). Borders of multiple visual areas in humans revealed by functional magnetic resonance imaging. *Science*, 268 (5212), 889–893.
25. Sinha, P., & Meng, M. (2012). Superimposed hemifields in primary visual cortex of achiasmic individuals. *Neuron*, 75 (3), 353–355.

26. Sutter, E. E., & Tran, D. (1992). The field topography of ERG components in man – I. The photopic luminance response. *Vision Res*, 32, 433–446.
27. von dem Hagen, E. A., Houston, G. C., Hoffmann, M. B., Jeffery, G., & Morland, A. B. (2005). Retinal abnormalities in human albinism translate into a reduction of grey matter in the occipital cortex. *Eur J Neurosci*, 22(10), 2475–2480.
28. Wandell, B. A., & Smirnakis, S. M. (2009). Plasticity and stability of visual field maps in adult primary visual cortex. *Nat Rev Neurosci*, 10 (12), 873–884.
29. Wolynski, B., Kanowski, M., Meltendorf, S., Behrens-Baumann, W., & Hoffmann, M. B. (2010). Self-organisation in the human visual system – visuo-motor processing with congenitally abnormal V1 input. *Neuropsychologia*, 48 (13), 3834–3845.



Prof. Dr. rer. nat. Michael Hoffmann, Jahrgang 1967, studierte Biologie an den Universitäten Münster, Tübingen und Brighton (UK) und leitet seit 2004 die Sektion für Klinische und Experimentelle Sinnesphysiologie der Universitäts-Augenklinik Magdeburg. Nach seiner Diplomarbeit, die er in der Forschungsstelle für Experimentelle Ophthalmologie der Universitäts-Augenklinik Tübingen anfertigte, war er als Promovend bis Ende 1998 und danach als PostDoc an der Universitäts-Augenklinik Freiburg tätig. Im Juli 1999 ging Michael Hoffmann als Wissenschaftlicher Mitarbeiter nach London, UK, zunächst an das Department of Biophysics des Imperial College und danach an das Department of Psychology der Royal Holloway University

London. Nach seiner Rückkehr 2002 nach Deutschland arbeitete er DFG-gefördert als Wissenschaftlicher Mitarbeiter, Projektleiter und stellvertretender Leiter der Sektion für Funktionelle Sehforschung an der Klinik für Augenheilkunde der Universität Freiburg bis zu seinem Wechsel an die Augenklinik der Otto-von-Guericke-Universität im Juli 2004, wo er sich 2007 für das Fach Neurobiologie habilitierte. Dort ist er Leiter der Sektion für Klinische und Experimentelle Sinnesphysiologie mit derzeit 13 Mitarbeitern. Er bearbeitet mit Wahrnehmungsuntersuchungen und elektrophysiologischen und kernspintomographischen Methoden zwei Kernbereiche. Zum einen betreut er die klinische Funktionsdiagnostik an Patienten mit ophthalmologischen, neuroophthalmologischen und neurologischen Erkrankungen. Zum anderen betreibt er Grundlagenforschung am gesunden und am erkrankten Sehsystem des Menschen, um das Verständnis von Physiologie, Pathophysiologie und Plastizität des Sehens zu vertiefen. Unterstützt werden diese vornehmlich DFG-geförderten Projekte durch zahlreiche nationale und internationale Kooperationen und die Etablierung und Weiterentwicklung modernster nicht-invasiver Neuroimaging-Methoden. Er ist Autor zahlreicher Publikationen und Gutacher für über 20 wissenschaftliche Fachzeitschriften.

KONTAKT



Prof. Michael Hoffmann PhD
 Visual Processing Laboratory
 (Sektion für klinische und experimentelle Sinnesphysiologie)
 Universitätsaugenklinik
 Otto-von-Guericke-Universität
 Leipziger Straße 44
 39120 Magdeburg
 Telefon: 0391 67-13585
 Telefax: 0391 67-13570
 E-Mail: michael.hoffmann@med.ovgu.de

WISSEN *Lebendige* SCHAFT

Themenschwerpunkte

- Apoptose
- AIDS-/HIV-Behandlung
- Alzheimer
- Diagnose- und Behandlungsstrategien
- Onkologie
- Neurologie
- HTG
- Diabetes

MEDIZINFORSCHUNG DEUTSCHLAND

Eine Publikation der
ALPHA INFORMATIONSGESELLSCHAFT mbH
Flukenstr. 10 | 68623 Lampertheim

Anti(lymph)angiogenese als neues Therapie-konzept bei Erkrankungen der Hornhaut und der Augenoberfläche

DR. MED. DENIZ HOS, PRIV.-DOZ. DR. MED. LUDWIG M. HEINDL, PRIV.-DOZ. DR. MED. PHILIPP STEVEN, DR. MED. KONRAD R. KOCH, DR. RER.-NAT. BIRGIT REGENFUSS, DR. MED. FRANZISKA BUCHER, DR. MED. SIMONA L. SCHLERETH, DR. RER.-NAT. FELIX BOCK, PROF. DR. MED. CLAUS CURSIEFEN

Universitäts-
augenklinik
Köln

Die Hornhaut ist eines der wenigen blut- und lymphgefäßfreien Gewebe des Körpers. Dies ist zur Aufrechterhaltung der Hornhauttransparenz und damit für eine gute Sehschärfe essentiell. Dennoch kann es im Rahmen verschiedener Erkrankungen zu einer Einsprossung von pathologischen Blut- und auch Lymphgefäßen in die Hornhaut kommen, was nicht nur zu einer Reduktion der Sehschärfe durch Verminderung der Transparenz führt, sondern auch das Risiko einer immunologisch vermittelten Abstoßungsreaktion nach anschließender Hornhauttransplantation signifikant erhöht [2, 3].

Inzwischen wissen wir, dass klinisch nicht sichtbare Lymphgefäße von entscheidender Bedeutung für die Induktion von Abstoßungsreaktionen nach Transplantation sind [2, 4, 5]. Weiterhin spielen pathologische Blut- und Lymphgefäße ebenfalls eine wichtige Rolle bei chronischen Entzündungsprozessen der Augenoberfläche, z. B.

dem trockenen Auge [6], intraokulär bei der sympathischen Ophthalmie [7] und dem neovaskulären Glaukom sowie bei der Metastasierung von Tumoren der Augenoberfläche (z. B. dem malignen Melanom oder dem Plattenepithelkarzinom der Bindehaut) [8–10].

Neue therapeutische Ansätze zur Blockade pathologischer Blut- und Lymphgefäße erscheinen vielversprechend bei Patienten für welche bisher keine Behandlungsoptionen vorlagen [5]. Der folgende Artikel möchte unsere aktuellen Bemühungen zur Etablierung neuer anti(lymph)angiogener Therapiestrategien bei Erkrankungen der Hornhaut und der Augenoberfläche zusammenfassen.

Haupt Schwerpunkte der präklinischen und klinischen Studien sind dabei:

1. die Modulierung von Immunreaktionen nach Hornhauttransplantation durch anti(lymph)angiogene Therapie vor und nach Transplantation,
2. die Etablierung neuer Therapiekonzepte gegen Tumormetastasierung und Rezidivbildung bei Tumoren der Augenoberfläche (vor allem beim malignen Melanom und Plattenepithelkarzinom der Bindehaut), sowie
3. antiangiogene und antilymphangiogene Therapieansätze bei Entzündungen der Augenoberfläche, vor allem beim chronischen trockenen Auge.

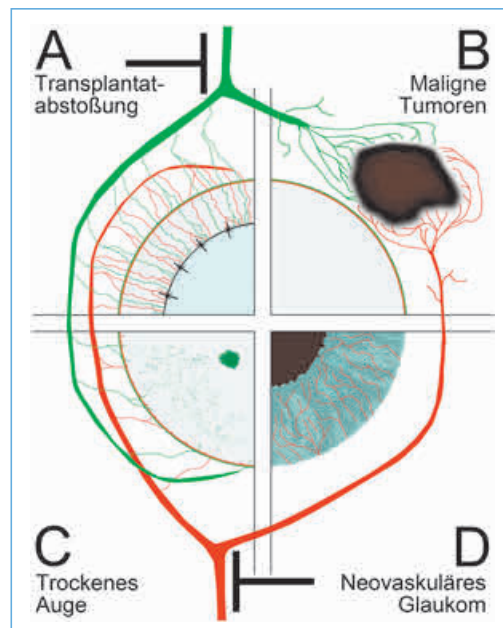
VERBESSERUNG DES TRANSPLANTATÜBERLEBENS DURCH ANTI(LYMPH)ANGIOGENE THERAPIE

In experimentellen Studien konnten wir zeigen, dass es im Rahmen verschiedenster Entzündungsvorgänge an der Hornhaut zu einer häufig parallelen Einsprossung von Blutgefäßen und

Abbildung 1

■ Klinisches Spektrum von Hornhaut- und Augenoberflächenerkrankungen mit pathologischer Angiogenese (rot) und Lymphangiogenese (grün):

- A)** Immunologische Transplantatabstoßung nach Hornhauttransplantation
B) Tumormetastasierung und Rezidivbildung bei Tumoren der Augenoberfläche (malignes Melanom, Plattenepithelkarzinom)
C) Entzündungen der Augenoberfläche, vor allem beim trockenen Auge
D) Neovaskuläres Glaukom



klinisch nicht sichtbaren Lymphgefäßen in die Hornhaut kommt [11–16]. Immunologisch bilden diese den afferenten und efferenten Arm des Immunreflexbogens und erhöhen somit signifikant das Risiko von Abstoßungsreaktionen nach erfolgter Transplantation [2, 17, 18]. Während bereits seit langem bekannt war, dass Blutgefäße das Risiko von Immunreaktionen nach Transplantation deutlich erhöhen, war die Rolle von Lymphgefäßen im Kontext der Transplantatabstoßung unklar, da diese bis vor kurzem nicht eindeutig nachweisbar waren [11]. Inzwischen ist es allerdings möglich, mittels lymphendothelspezifischer Marker diese Lymphgefäße in Hornhäuten mit pathologischer Vaskularisation zu detektieren [11]. Mittlerweise gibt es sogar Möglichkeiten, korneale Lymphgefäße z. B. mittels konfokaler Mikroskopie oder Zweiphotonenmikroskopie *in vivo* darzustellen [19–21].

Im Mausmodell der Hornhauttransplantation konnten wir zeigen, dass eine antiangiogene und antilymphangiogene Therapie das Transplantatüberleben signifikant verbessert [22–24]. Dies gilt sowohl für die avaskuläre Normalrisikosituation als auch für die Hochrisikosituation mit pathologisch prävascularisierten Empfängerhornhäuten. In beiden Szenarien konnte eine parallele antiangiogene und antilymphangiogene Therapie das Transplantatüberleben deutlich verbessern [22–25]. Darauf aufbauend konnten wir inzwischen zeigen, dass vor allem Lymphgefäße von herausragender Bedeutung für das Auftreten von Immunreaktionen nach erfolgter Keratoplastik sind und dass selbst die alleinige Blockade von Lymphgefäßen vor und nach Keratoplastik das Transplantatüberleben signifikant verbessert [4, 26]. Inzwischen sind wir dabei, dieses neue Therapiekonzept der Immunmodulation durch antiangiogene und antilymphangiogene Therapie auch in die Klinik zu übertragen [5, 27]. Dabei gibt es drei Ansatzpunkte für eine anti(lymph)angiogene Therapie im Transplantationskontext:

- 1. Primäre Prävention:** Hier ist das Ziel, die Einsprossung von Blut- und Lymphgefäßen in die Hornhaut bei entzündlichen Erkrankungen primär zu hemmen. So kann z. B. im Rahmen einer Herpeskeratitis mit aggressiver Neovaskularisation eine parallel zur antiviralen Therapie erfolgende anti(lymph)angiogene Therapie mittels VEGF-Blockern die Gefäß einsprossung in die Hornhaut verhindern [28–31]. Diesen Therapieansatz nennen wir primäre Prävention.
- 2. Sekundäre Prävention:** Auch nach bereits stattgefundenener Neovaskularisation, z. B. im Rahmen einer Herpeskeratitis, kann vor der geplanten Hornhauttransplantation durch eine gezielte Blut- und Lymphgefäßrückbildung versucht werden, den Hochrisikostatus zu

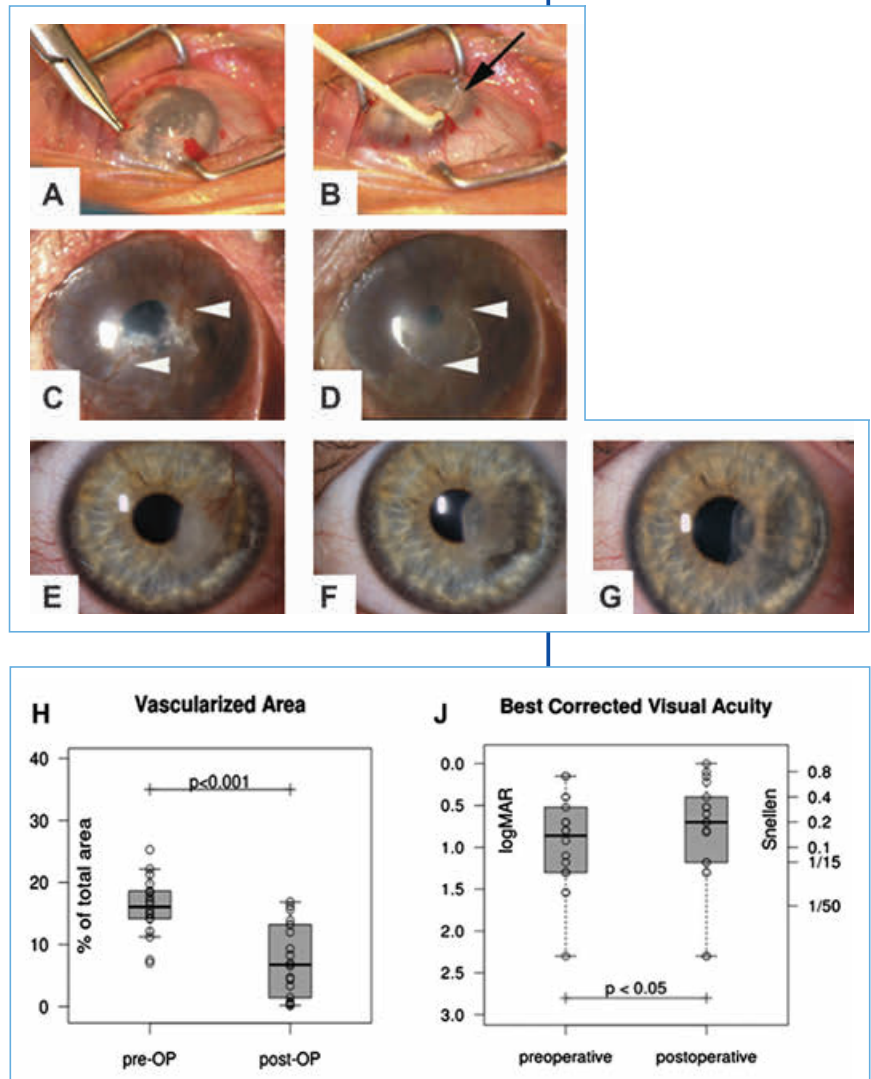


Abbildung 2

■ Regression pathologischer stromaler Blutgefäße durch Feinnadelkauterisierung kombiniert mit subkonjunktivaler und topischer Avastin-Therapie zur Präkonditionierung von Hochrisikoaugen vor Hornhauttransplantation. Damit wird das Risiko einer Immunreaktion nach anschließender Keratoplastik vermindert. Mit einer 10-0 Nylon Nadel werden tiefstromale Gefäße mittels unipolarer Diathermie verödet (**A, B**), subkonjunktival appliziertes Avastin fördert eine weitere Regression dieser obliterierten Gefäße (**C**: vor Kauterisierung; **D**: nach Kauterisierung). **E**: Korneale Neovaskularisation aufgrund einer herpetischen Keratitis. **F**: zwei Monate nach Feinnadelkauterisierung kombiniert mit subkonjunktivaler und topischer Avastin-Therapie zeigt sich eine Hornhautnarbe ohne perfundierte Gefäße. **G**: 15 Monate später zeigt sich ein deutliches Aufklaren der Hornhautnarbe. **H**: Feinnadelkauterisierung kombiniert mit Avastin-Therapie führt zu einer signifikanten Reduktion kornealer Neovaskularisation. Das Diagramm zeigt die prä- und postoperativ vaskularisierte Fläche. **J**: Bestkorrigierter Visus (BCVA) nach Feinnadelkauterisierung kombiniert mit anti-VEGF bei Patienten mit murenen kornealen Gefäßen. Gezeigt ist der prä- und postoperative BCVA (logMAR) aller Patienten. (Wilcoxon-Vorzeichen-Rang-Test). Aus Koenig et al. [1]

minimieren. Diese sekundäre Prävention (Angioregression) kann z. B. durch Feinnadelkauterisierung pathologischer Hornhautgefäße in Kombination mit topischer anti-VEGF-Therapie erfolgen [1].

3. **Tertiäre Prävention:** Dies bedeutet die Verhinderung von Gefäßeinsprossungen, welche erst nach erfolgter Hornhauttransplantation auftreten und dadurch das Risiko einer Immunreaktion erhöhen [23]. Hier kommen erneut anti(lymph)angiogene Therapieansätze zum Einsatz.

Im Rahmen der klinischen Translation dieses **neuen Therapiekonzeptes einer Immunmodulation durch antiangiogene und antilymphangiogene Therapie** konnten wir bereits einige neue Behandlungsmöglichkeiten etablieren:

1. Off-Label-Anwendung von anti-VEGF-Präparaten: In Fallserien und größeren Verlaufsstudien konnten wir zeigen, dass eine topische und subkonjunktivale Gabe von anti-VEGF-Präparaten (Bevacizumab, Ranibizumab, Pegaptanib) korneale (Lymph)angiogenese stoppen kann [28, 30, 32–35]. Diese Präparate sind derzeit allerdings alle Off-Label zu verwenden.
2. Antisense-Oligonukleotide gegen IRS-1: Im Rahmen einer bereits abgeschlossenen Phase-2 Studie und einer sich in der Endphase befindenden Phase-3 Studie konnten wir zeigen, dass topische Antisense-Oligonukleotide gegen IRS-1 (insulin receptor substrate -1) bei betroffenen Patienten korneale Angiogenese signifikant hemmen [29, 36]. Damit besteht die Hoffnung, dass in näherer Zukunft zugelassene antiangiogene Präparate zum Einsatz an der Hornhaut zur Verfügung stehen werden.
3. Thermische Verödung kornealer Gefäße mittels Feinnadelkauterisierung kombiniert mit anti-VEGF-Therapie oder auch mittels photodynamischer Therapie (PDT) sind neue innovative Möglichkeiten, um auch mature Hornhautgefäße zur Regression zu bringen [1].

Zusammenfassend befindet sich das neue Therapiekonzept einer Immunmodulation durch anti(lymph)angiogene Therapie zur Verbesserung des Transplantatüberlebens im Stadium der Translation aus dem Labor in die Klinik.

VERHINDERUNG VON TUMORREZIDIVEN UND TUMORMETASTASIERUNG DURCH ANTYLYMPHANGIOGENE THERAPIE

In ophthalmopathologischen Forschungsarbeiten haben wir kürzlich erstmals gezeigt, dass es bei verschiedenen Tumorentitäten der Augenoberfläche (malignes Melanom der Bindehaut, Plattenepithelkarzinom der Bindehaut) zu einer tumorinduzierten Lymphangiogenese kommt [8, 9]

Desweiteren konnten wir zeigen, dass es bei Tumoren der Aderhaut mit extraokulärer Ausbreitung ebenfalls zu einer sekundären Invasion von Lymphgefäßen in das eigentlich lymphgefäßfreie Augeninnere kommen kann [10]. Klinisch-pathologische Korrelationen ergaben, dass das Tumorstadium signifikant mit der Lymphangiogenese assoziiert ist und dass eine höhere intra- bzw. peritumorale Lymphgefäßdichte signifikant mit dem Risiko eines Tumorrezidives und dem Risiko einer Tumormetastasierung korreliert [37–39]. Dies bedeutet, dass der histopathologische Nachweis intra- bzw. peritumorale Lymphangiogenese die Prognose eines malignen Melanoms oder eines Plattenepithelkarzinoms der Augenoberfläche verschlechtert [37–39]. Darauf aufbauend analysieren wir derzeit in präklinischen und klinischen Studien, inwiefern eine antiangiogene und antilymphangiogene Therapie bei Tumoren der Augenoberfläche das Risiko einer Tumorrezidivbildung bzw. einer Tumormetastasierung vermindern kann. Die Durchführung dieser Studien erfolgt in enger Zusammenarbeit mit dem Zentrum für Integrierte Onkologie Köln-Bonn (CIO), welches durch die Deutsche Forschungsgemeinschaft und Deutsche Krebshilfe unterstützt wird. Im Rahmen dieser Studien hoffen wir, neue standardisierte adjuvante Therapiekonzepte zur Verhinderung der Rezidivbildung und Metastasierung von malignen Tumoren der Augenoberfläche und der Aderhaut zu etablieren [5].

ANTIENZÜNDLICHE THERAPIE AN DER AUGENOBERFLÄCHE DURCH ANTYLYMPHANGIOGENESE

Inzwischen ist bekannt, dass bei verschiedenen Erkrankungen der Augenoberfläche und des Tränenfilms wie z.B. dem trockenen Auge eine chronische Entzündungsreaktion von entscheidender pathogenetischer Bedeutung ist [40, 41]. Im Mausmodell des trockenen Auges konnte gezeigt werden, dass auch hier eine pathologische (Lymph)gefäßeinsprossung in die Hornhaut für die Induktion und Aufrechterhaltung von Entzündungsprozessen und Chronifizierung des trockenen Auges von Bedeutung ist [6]. Anti(lymph)angiogene Therapie kann hier sowohl die Ausbildung als auch die Progression eines trockenen Auges verhindern [42]. In diesem Zusammenhang gibt es bereits erste Off-Label Anwendungen von anti-VEGF-Präparaten bei Patienten mit schwerem trockenem Auge, welche zu einer subjektiven und objektiven Befundbesserung geführt haben. Zukünftiges Ziel ist es, die zugrundeliegenden molekularen und zellulären Mechanismen der entzündungsassoziierten Lymphangiogenese und deren Rolle in der Vermittlung des chronischen trockenen Auges genauer zu charakterisieren und mittels neuer anti(lymph)angiogener Behandlungsstrategien vor allem therapierefraktären Patienten

mit mittelschweren und schweren Formen des trockenen Auges zu helfen [5].

Zusammenfassend bleibt festzuhalten, dass pathologische Blut- und Lymphgefäße bei verschiedenen Erkrankungen der Hornhaut und der Augenoberfläche eine entscheidende Rolle spielen [5]. Mit den neu zur Verfügung stehenden spezifischen anti(lymph)angiogenen Medikamenten, die derzeit Off-Label oder im Rahmen klinischer Studien getestet werden, besteht nun die Möglichkeit, diese durch pathologische (Lymph)angiogenese vermittelten Erkrankungen gezielter zu behandeln [5]. Dies eröffnet uns schon jetzt und zukünftig noch weitere neue innovative Therapiekonzepte bei Erkrankungen, welche bisherigen Therapien nur mäßig oder gar nicht zugänglich waren.

LITERATUR

- Koenig Y., Bock F., Kruse F.E., Stock K., Cursiefen C. Angioregressive pretreatment of mature corneal blood vessels before keratoplasty: fine-needle vessel coagulation combined with anti-VEGFs. *Cornea* 2012; 31: 887–892.
- Cursiefen C., Chen L., Dana M.R., Streilein J.W. Corneal lymphangiogenesis: evidence, mechanisms, and implications for corneal transplant immunology. *Cornea* 2003; 22: 273–281.
- Cursiefen C. Immune privilege and angiogenic privilege of the cornea. *Chemical immunology and allergy* 2007; 92: 50–57.
- Dietrich T., Bock F., Yuen D., et al. Cutting edge: lymphatic vessels, not blood vessels, primarily mediate immune rejections after transplantation. *Journal of immunology* 2010; 184: 535–539.
- Bock F., Maruyama K., Regenfuss B., et al. Novel anti(lymph)angiogenic treatment strategies for corneal and ocular surface diseases. *Progress in retinal and eye research* 2013; 34: 89–124.
- Goyal S., Chauhan S.K., El Annan J., Nallasamy N., Zhang Q., Dana R. Evidence of corneal lymphangiogenesis in dry eye disease: a potential link to adaptive immunity? *Archives of ophthalmology* 2010; 128: 819–824.
- Wessel J.M., Hofmann-Rummelt C., Kruse F.E., Cursiefen C., Heindl L.M. Invasion of lymphatic vessels into the eye after open globe injuries. *Investigative ophthalmology & visual science* 2012; 53: 3717–3725.
- Heindl L.M., Hofmann-Rummelt C., Adler W., et al. Tumor-associated lymphangiogenesis in the development of conjunctival melanoma. *Investigative ophthalmology & visual science* 2011; 52: 7074–7083.
- Heindl L.M., Hofmann-Rummelt C., Adler W., et al. Tumor-associated lymphangiogenesis in the development of conjunctival squamous cell carcinoma. *Ophthalmology* 2010; 117: 649–658.
- Heindl L.M., Hofmann T.N., Knorr H.L., et al. Intraocular lymphangiogenesis in malignant melanomas of the ciliary body with extraocular extension. *Investigative ophthalmology & visual science* 2009; 50: 1988–1995.
- Cursiefen C., Schlotzer-Schrehardt U., Kuchle M., et al. Lymphatic vessels in vascularized human corneas: immunohistochemical investigation using LYVE-1 and podoplanin. *Investigative ophthalmology & visual science* 2002; 43: 2127–2135.
- Cursiefen C., Maruyama K., Jackson D.G., Streilein J.W., Kruse F.E. Time course of angiogenesis and lymphangiogenesis after brief corneal inflammation. *Cornea* 2006; 25: 443–447.
- Cursiefen C., Kuchle M., Naumann G.O. Angiogenesis in corneal diseases: histopathologic evaluation of 254 human corneal buttons with neovascularization. *Cornea* 1998; 17: 611–613.
- Cursiefen C., Chen L., Borges L.P., et al. VEGF-A stimulates lymphangiogenesis and hemangiogenesis in inflammatory neovascularization via macrophage recruitment. *The Journal of clinical investigation* 2004; 113: 1040–1050.
- Cursiefen C., Chen L., Saint-Geniez M., et al. Nonvascular VEGF receptor 3 expression by corneal epithelium maintains avascularity and vision. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 2006; 103: 11405–11410.
- Cursiefen C., Maruyama K., Bock F., et al. Thrombospondin 1 inhibits inflammatory lymphangiogenesis by CD36 ligation on monocytes. *The Journal of experimental medicine* 2011; 208: 1083–1092.
- Bachmann B., Taylor R.S., Cursiefen C. Corneal neovascularization as a risk factor for graft failure and rejection after keratoplasty: an evidence-based meta-analysis. *Ophthalmology* 2010; 117: 1300–1305 e1307.
- Hos D., Bachmann B., Bock F., Onderka J., Cursiefen C. Age-related changes in murine limbal lymphatic vessels and corneal lymphangiogenesis. *Experimental eye research* 2008; 87: 427–432.
- Steven P., Bock F., Huttmann G., Cursiefen C. Intravital two-photon microscopy of immune cell dynamics in corneal lymphatic vessels. *PLoS one* 2011; 6:e26253.
- Gehlsen U., Huttmann G., Steven P. Intravital multi-dimensional real-time imaging of the conjunctival immune system. *Developments in ophthalmology* 2010; 45: 40–48.
- Steven P., Muller M., Koop N., Rose C., Huttmann G. Comparison of Cornea Module and Dermalinspect for noninvasive imaging of ocular surface pathologies. *Journal of biomedical optics* 2009; 14: 064040.
- Cursiefen C., Cao J., Chen L., et al. Inhibition of hemangiogenesis and lymphangiogenesis after normal-risk corneal transplantation by neutralizing VEGF promotes graft survival. *Investigative ophthalmology & visual science* 2004; 45: 2666–2673.
- Bachmann B.O., Bock F., Wiegand S.J., et al. Promotion of graft survival by vascular endothelial growth factor a neutralization after high-risk corneal transplantation. *Archives of ophthalmology* 2008; 126: 71–77.
- Hos D., Bock F., Dietrich T., et al. Inflammatory corneal (lymph)angiogenesis is blocked by VEGFR-tyrosine kinase inhibitor ZK 261991, resulting in improved graft survival after corneal transplantation. *Investigative ophthalmology & visual science* 2008; 49: 1836–1842.

DRITTMITTEL-FÖRDERUNG:

Deutsche Forschungsgemeinschaft DFG (Cu 47/4-1; Cu 47/6-1; SFB 643/TP B10; STE 1928/2-1; HE 6743/2-1);

Europäische Union (FP7 Projekt »STRONG« und COST Projekt BM1302 »Joining Forces in Corneal Regeneration«);

Interdisziplinäres Zentrum für klinische Forschungen (IZKF) Erlangen (A9);

Sektion Ophthalmopathologie (Deutsche Ophthalmologische Gesellschaft);

Ruth und Helmut Lingen Stiftung Köln;

Industrie (Gene Signal Frankreich; Alcon USA);

Bayer Graduate School for Clinical Pharmacology, Universität zu Köln;

Gerok-Programm, Universität zu Köln

25. Bachmann B. O., Luetjen-Drecoll E., Bock F., et al. Transient postoperative vascular endothelial growth factor (VEGF)-neutralisation improves graft survival in corneas with partly regressed inflammatory neovascularisation. *The British journal of ophthalmology* 2009; 93: 1075–1080.
26. Bock F., Onderka J., Dietrich T., Bachmann B., Pytowski B., Cursiefen C. Blockade of VEGFR3-signalling specifically inhibits lymphangiogenesis in inflammatory corneal neovascularisation. *Graefe's archive for clinical and experimental ophthalmology = Albrecht von Graefes Archiv für klinische und experimentelle Ophthalmologie* 2008; 246: 115–119.
27. Cursiefen C., Colin J., Dana R., et al. Consensus statement on indications for anti-angiogenic therapy in the management of corneal diseases associated with neovascularisation: outcome of an expert roundtable. *The British journal of ophthalmology* 2012; 96: 3–9.
28. Bock F., König Y., Kruse F., Baier M., Cursiefen C. Bevacizumab (Avastin) eye drops inhibit corneal neovascularization. *Graefe's archive for clinical and experimental ophthalmology = Albrecht von Graefes Archiv für klinische und experimentelle Ophthalmologie* 2008; 246: 281–284.
29. Cursiefen C., Bock F., Horn F.K., et al. GS-101 antisense oligonucleotide eye drops inhibit corneal neovascularization: interim results of a randomized phase II trial. *Ophthalmology* 2009; 116: 1630–1637.
30. Koenig Y., Bock F., Horn F., Kruse F., Straub K., Cursiefen C. Short- and long-term safety profile and efficacy of topical bevacizumab (Avastin) eye drops against corneal neovascularization. *Graefe's archive for clinical and experimental ophthalmology = Albrecht von Graefes Archiv für klinische und experimentelle Ophthalmologie* 2009; 247: 1375–1382.
31. Hos D., Saban D.R., Bock F., et al. Suppression of inflammatory corneal lymphangiogenesis by application of topical corticosteroids. *Archives of ophthalmology* 2011; 129: 445–452.
32. Bock F., Onderka J., Dietrich T., et al. Bevacizumab as a potent inhibitor of inflammatory corneal angiogenesis and lymphangiogenesis. *Investigative ophthalmology & visual science* 2007; 48: 2545–2552.
33. Bucher F., Parthasarathy A., Bergua A., et al. Topical Ranibizumab inhibits inflammatory corneal hem- and lymphangiogenesis. *Acta ophthalmologica* 2012.
34. Ferrari G., Dastjerdi M.H., Okanobo A., et al. Topical Ranibizumab as a Treatment of Corneal Neovascularization. *Cornea* 2013.
35. Bock F., Onderka J., Rummelt C., et al. Safety profile of topical VEGF neutralization at the cornea. *Investigative ophthalmology & visual science* 2009; 50: 2095–2102.
36. Hos D., Regenfuss B., Bock F., Onderka J., Cursiefen C. Blockade of insulin receptor substrate-1 inhibits corneal lymphangiogenesis. *Investigative ophthalmology & visual science* 2011; 52: 5778–5785.
37. Heindl L.M., Hofmann T.N., Adler W., et al. Intraocular tumor-associated lymphangiogenesis a novel prognostic factor for ciliary body melanomas with extraocular extension? *Ophthalmology* 2010; 117: 334–342.
38. Heindl L.M., Hofmann T.N., Schrod 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.
39. Heindl L.M., Hofmann-Rummelt C., Adler W., et al. Prognostic significance of tumor-associated lymphangiogenesis in malignant melanomas of the conjunctiva. *Ophthalmology* 2011; 118: 2351–2360.
40. Barabino S., Chen Y., Chauhan S., Dana R. Ocular surface immunity: homeostatic mechanisms and their disruption in dry eye disease. *Progress in retinal and eye research* 2012; 31: 271–285.
41. Steven P., Gebert A. Conjunctiva-associated lymphoid tissue – current knowledge, animal models and experimental prospects. *Ophthalmic research* 2009; 42: 2–8.
42. Goyal S., Chauhan S.K., Dana R. Blockade of prolymphangiogenic vascular endothelial growth factor C in dry eye disease. *Archives of ophthalmology* 2012; 130: 84–89.

KONTAKT



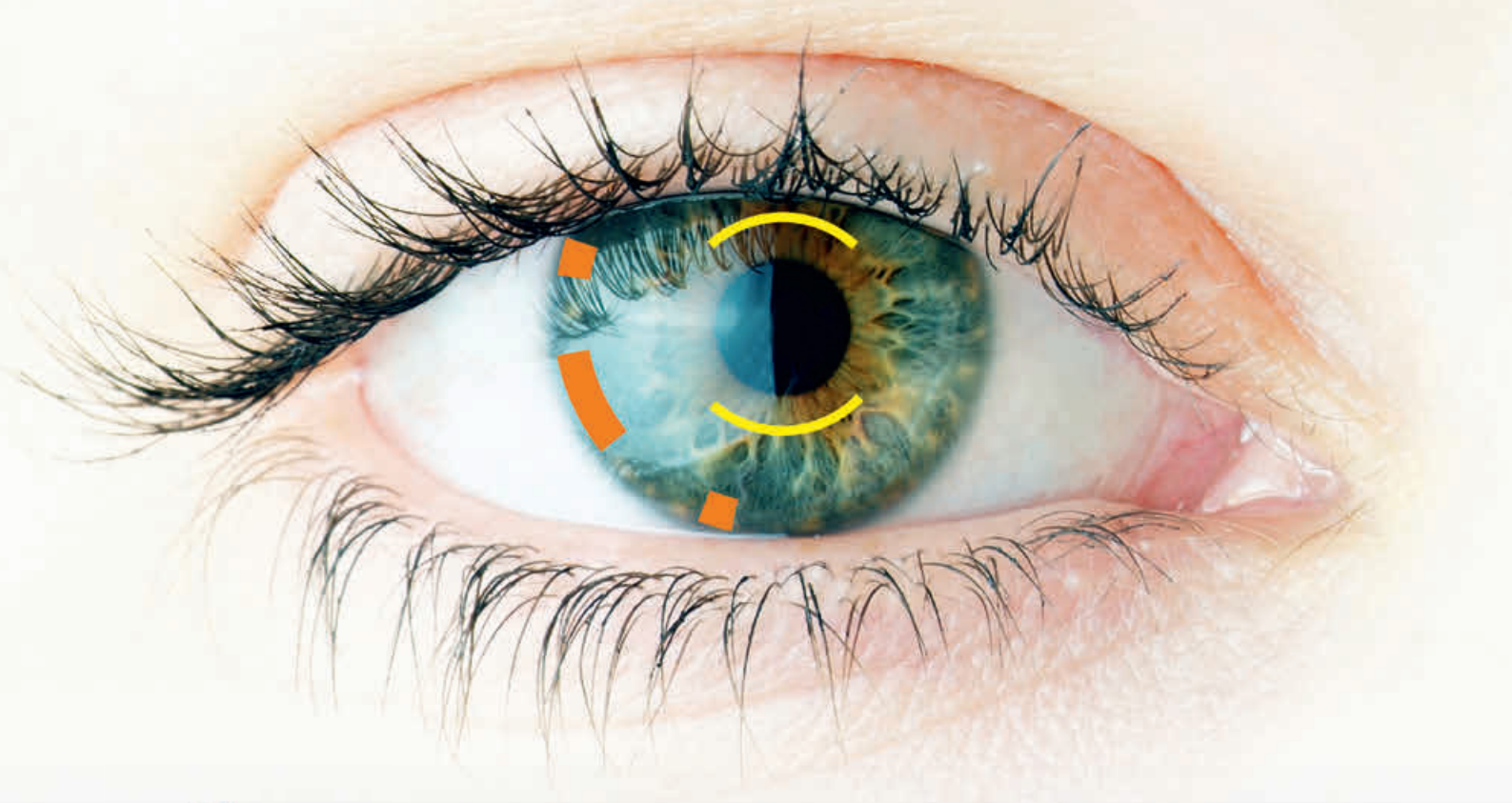
Prof. Dr. med. Claus Cursiefen

Geschäftsführender Direktor
des Zentrums für Augenheilkunde
Universität zu Köln
Kerpener Straße 62
50924 Köln

Telefon: 0221 478-4300

Telefax: 0221 478-5094

E-Mail: Claus.Cursiefen@uk-koeln.de



The power of one
Two types of incisions – one module

Kataraktchirurgie mit dem Femtosekundenlaser

CLEAR CORNEAL & RELAXING INCISIONS

- Inzisionen individuell auf das Patientenaug e einstellbar
- Mehr Präzision und Reproduzierbarkeit dank Schweizer Laser Technologie
- Intrastromale Inzisionen möglich



Ausschliesslich verfügbar für
FEMTO LDV Z6 PowerPlus

FEMTO LDV
Z Models

www.femtoldv.com

ziemer 
OPHTHALMOLOGY

Fluoreszenzlebensdauer-Ophthalmoskopie (FLIO) zur molekularen Bildgebung am Augenhintergrund

SUSANNE JENTSCH, SVEN PETERS, DR. MED. KAI WILDNER,
PRIV.-DOZ. DR. MED. REGINE AUGSTEN,
PRIV.-DOZ. DR. RER. NAT. DIETRICH SCHWEITZER,
DR. RER. NAT. MARTIN HAMMER

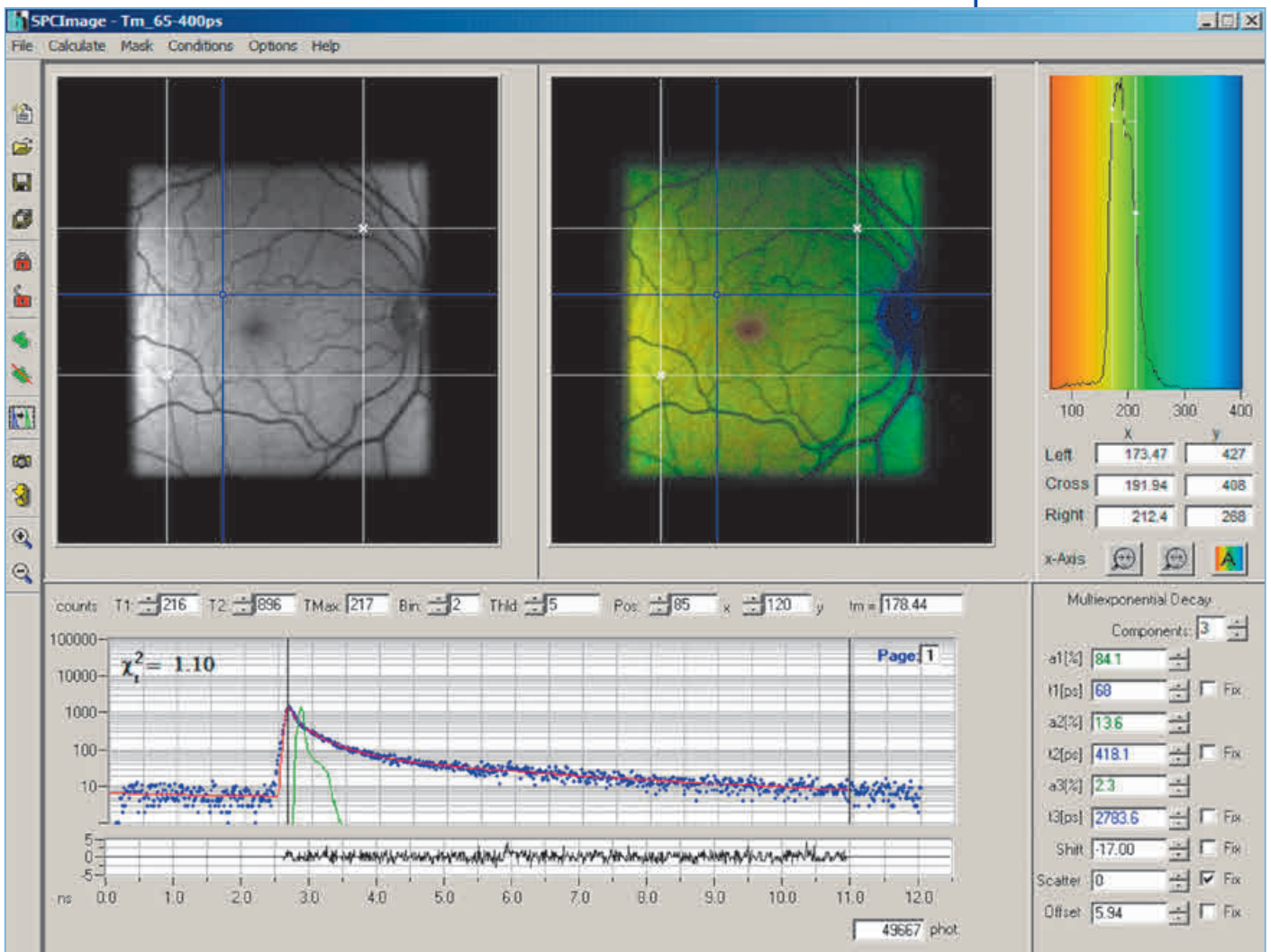
Universitätsklinikum
Jena
Klinik für
Augenheilkunde

Bildgebende diagnostische Verfahren, wie OCT und Fundusautofluoreszenz werden zur Darstellung morphologischer Veränderungen des Augenhintergrundes angewendet. Neue Diagnostiktechniken haben das Ziel funktionelle Veränderungen am Augenhintergrund sehr frühzeitig zu erkennen. Hierzu gehören z.B. die Oxymetrie des retinalen Gefäßsystems [1–4] oder die Bestimmung der Makulapigmentdichte [5, 6] die eine Aussage über das antioxidative Schutzsystem der Retina, insbesondere der Makula ermöglicht [7, 8]. Als eine neue Technik zur Charakterisierung des retinalen Metabolismus haben wir die Messung und bildliche Darstellung der Autofluoreszenzlebensdauer entwickelt. Da das Fluoreszenzabklingverhalten im Bereich von Pico- bis Nanosekunden ein charakteristischer Parameter sowohl von Coenzymen des Energiestoffwechsels (NADH, FAD) als auch von Stoffwechsellprodukten (Lipofuszin, glykosilierte Proteine) ist, erlaubt diese Technik eine molekulare Bildgebung [9]. Anwendung findet sie bereits in klinischen Bereichen, wie der Dermatologie, zur Diagnostik verschiedener Hautläsionen [10] und von Melanomen [11] sowie in klinisch-experimentellen Bereichen zur Unterscheidung präkanzerogener und kanzerogener Veränderungen in Zell- und Gewebeprobe, z. B. der uterinen Zervix [12] oder des Darms [13]. Bei den kanzerogenen Veränderungen wird vor allem ein erhöhter oder veränderter Metabolismus der Zellen beobachtet, der über das Verhältnis der Fluoreszenzintensität der Redoxpaare der Coenzyme $\text{NAD}^+/\text{NADH}_2$ und FAD^+/FADH (Redox Ratio) und deren veränderte Fluoreszenzlebensdauer charakterisiert werden kann [14, 15]. Weiterhin haben Kollagene, Elastin und Melanin spezifische Abklingzeiten [16–18]. Alle genannten Fluorophore können in Netzhaut, RPE, Chorioidea und Sklera vorkommen und zur Fluoreszenz beitragen. Ihre quantitative Erfassung kann helfen, physiologische und pathophysiologische Stoffwechsellvorgänge am Augenhintergrund besser zu verstehen.

Die zeitaufgelöste Messung der Autofluoreszenz der Retina in-vivo ist eine neuartige Methode, die

von Schweitzer et al. an der Universitätsaugenklinik Jena entwickelt wurde [18, 19]. Sie wird als Fluoreszenzlebensdauer-Ophthalmoskopie (FLIO) bezeichnet und nutzt das Messprinzip der zeitkorrelierten Einzelphotonenzählung (time correlated single photon counting; TCSPC) [9]. Das verwendete Grundgerät ist ein konfokales Scanning-Laser-Ophthalmoskop (HRA2, Heidelberg Engineering, Heidelberg) mit modifizierter Anregungslichtquelle 448nm (Puls laser BLD 440, Becker & Hickl, Berlin) und einer Detektionseinheit mit zwei Spektralkanälen (Kanal 1: 490–560nm, Kanal 2: 560–700nm). Als Detektoren wurden Photomultiplier (R3809U-50 MCP-PMT, Hamamatsu, Herrsching) in Kombination mit einer Elektronik für zeitkorrelierte Registrierung einzelner Photonen (SPC150 Becker & Hickl, Berlin) verwendet [18]. Die Datenauswertung erfolgte mit der Software SPC Image 3.5 (Becker & Hickl, Berlin). Die zeitabhängige Fluoreszenzintensität wurde 3-exponentiell für jeden Bildpixel approximiert. Daraus ergaben sich die Fluoreszenzlebensdauern T_1 bis T_3 und die dazugehörigen Amplituden A_1 bis A_3 sowie die mittlere Lebensdauer T_m . In **Abbildung 1** ist in der Mitte das farbcodierte Bild der Fluoreszenzlebensdauer T_m dargestellt (65–400ps). Typischerweise sind die Fluoreszenzlebensdauern im Bereich der Makula sehr kurz (rot), während die Abklingzeiten der Papille und Gefäße sehr lang sind (blau). Rechts daneben ist die Häufigkeitsverteilung der ermittelten Abklingzeit T_m für den weiß gerahmten Bereich dargestellt. Unten ist die gemessene Photonenverteilung (blau punktiert) für das Abklingverhalten der Fluoreszenzintensität eines ausgewählten Pixels dargestellt sowie die approximierte 3-exponentielle Modelfunktion (rot).

In Bildbereichen gleicher Größe (100 x 70 Pixel) und Lokalisation wurden Häufigkeitsverteilungen dieser Parameter (Lifetimes, Amplituden) bestimmt und für die verschiedenen Krankheitsbilder mit gleichaltrigen Normalpersonen mittels Holm-Bonferroni-Algorithmus verglichen. Damit konnten Intervalle in diesen Parametern bestimmt



werden, bei denen sich die Gruppen mit retinaler Erkrankung von den Gesunden signifikant unterscheiden.

Es wurden verschiedene Krankheitsbilder, wie altersbedingte Makuladegeneration (AMD: N=44), Diabetes mellitus mit und ohne Retinopathie (RD 1: N=57, RD 0: N=18), primäres Offenwinkelglaukom (POWG: N=14) und Alzheimer-Patienten (AD: N=11) mittels zeitaufgelöster Autofluoreszenz untersucht sowie gesunde Probanden (N=47). Im Frühstadium der AMD war eine Verlängerung der Lebensdauer T2 im kurzwelligeren Kanal 1 im Vergleich zu gesunden Probanden nachweisbar [20]. Patienten mit trockener AMD zeigten im Kanal 2 eine Verlängerung der Fluoreszenzlebensdauer T1, T2, der mittleren Fluoreszenzlebensdauer Tm sowie Änderungen der Amplituden A1 und A2 verglichen mit Normalpersonen. Dies könnte auf eine Verringerung der normalen Melaninkonzentration sowie eine Lipofuszinakkumulation bei Patienten mit trockener AMD hinweisen (Wildner et al. Veröffentlichung in Vorbereitung). In einem Beispiel sind in **Abbildung 2** zum einen lokale Änderungen im Bereich der Drusen und zum

anderen globale Verlängerung der Fluoreszenzlebensdauer Tm über das gesamte Bild des AMD-Patienten zu sehen im Vergleich zur Kontrollperson.

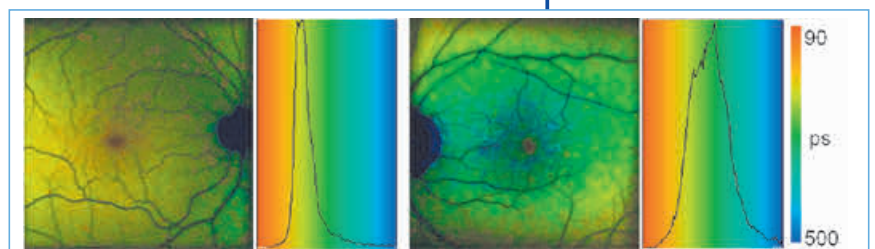
Patienten mit Diabetes mellitus ohne RD (RD 0) zeigten eine verlängerte Fluoreszenzlebensdauer T2 im Kanal 1 (490–560 nm). Diese Lebensdauerverlängerung war mit milder und mäßiger nicht-proliferativer RD (RD 1) noch stärker ausgeprägt. Ursachen könnten Änderungen im NADH-Stoffwechsel sowie die Anreicherung von AGEs sein [21]. Im Vergleich von Patienten mit primärem Offenwinkelglaukom und Gesunden konnte in einer ersten Vorstudie eine Verringerung der

Abbildung 1

■ FLIO-Auswertung der mittleren Fluoreszenzlebensdauer Tm im Kanal 1 einer Kontrollperson mit SPC Image.

Abbildung 2

■ Fluoreszenzlebensdauer Tm im Kanal 2 (560–700 nm) für Normalperson (links) und trockene AMD (rechts) mittels FLIO (triexponentielle Approximation), Farbcodierung in ps.



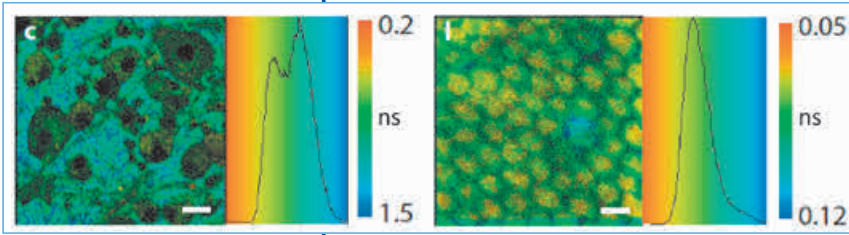


Abbildung 3

■ FLIM-Aufnahme mittels 2-Photonen-Mikroskopie der mittleren Abklingzeit T_m (biexponentell) der Ganglienzellschicht im Kanal 1 (links) und des RPE im Kanal 2 (rechts); Balken 20 μm [24].

Fluoreszenzlebensdauer T_3 im Kanal 1 und Kanal 2 ermittelt werden. Bei Alzheimerpatienten (AD) zeigte sich ein linearer Zusammenhang zwischen zunehmendem Schweregrad ((Mini-Mental-Status-Test; MMST-Score) und dem relativen Anteil Q_2 (Produkt der Fluoreszenzlebensdauer und der Amplitude der zweiten fluoreszierenden Komponente (T_2, A_2) bezogen auf die Gesamtintensität der Fluoreszenz) im langwelligen Kanal 2 ($R=-0.757, p=0.007$). Weiterhin zeigte sich ein signifikanter Zusammenhang zwischen dem in der Zerebrospinalflüssigkeit bestimmten phosphoryliertem Tauprotein (p-tau-181), welches als krankheitsspezifischer Marker der Alzheimerdemenz beschrieben wird [22], und Q_2 im Kanal 2 ($R=0.919, p=0.009$) [Jentsch et al. Veröffentlichung in Review].

Zur besseren Interpretation der zellulären Stoffwechselfvorgänge und der Anreicherung krankheitsspezifischer Substanzen werden an der Universitätsaugenklinik Jena außerdem ex-vivo-Untersuchungen der zeitaufgelösten Autofluoreszenz an Zell- und Gewebekulturen von Spenderaugen oder Schweineaugen durchgeführt. Die FLIO-Apparatur nutzt die 1-Photonen-Anregung. Damit ist das gemessene Fluoreszenzsignal des Augenhintergrundes ein Summensignal aus allen zusammenhängenden Schichten (Retina, RPE, Bruch Membran, Choroidea). Deshalb wurden zunächst isolierte anatomischen Strukturen (RPE, Retina, Linse, Kornea usw.) des Schweineauges

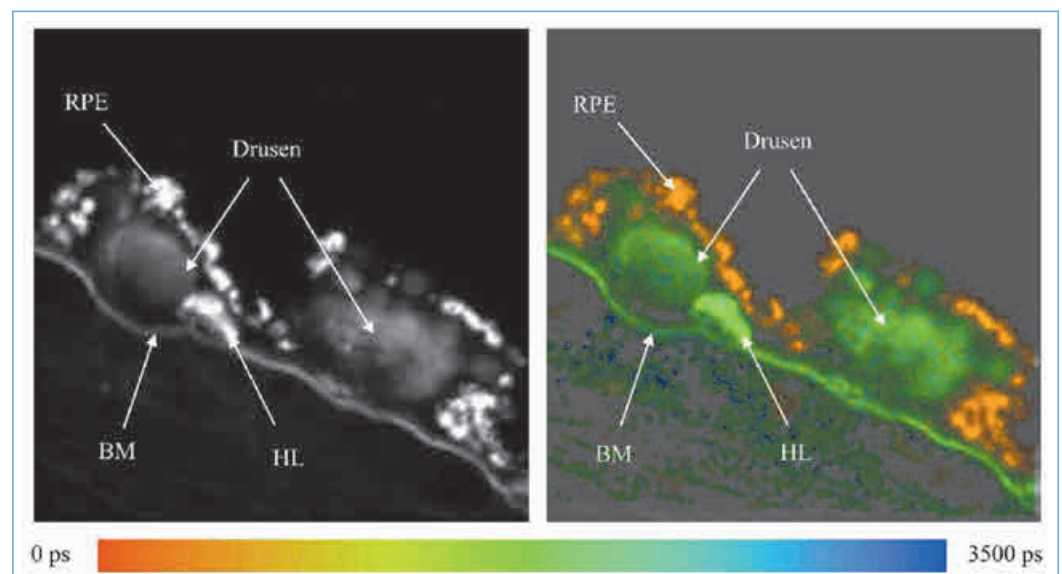
mit der FLIO-Anordnung gemessen, um die Fluoreszenzlebensdauer jeder Struktur des Auges zu bestimmen [23]. Weiterhin steht der Universitätsaugenklinik Jena neben der FLIO-Apparatur für die in-vivo-Messung am Patienten noch ein 2-Photonen-Mikroskop (2-Ph-M) mit Fluorescence Lifetime Imaging (FLIM)-Technik durch die Kooperation mit dem Institut für Biomedizinische Technik der TU Ilmenau zur Verfügung. Der Vorteil der 2-Photonen-Anregung des Mikroskops ist die gezielte Anregung einzelner Schichten in einem kompletten Gewebekomplex. Durch die ebenfalls in dem 2-Ph-M integrierte FLIM-Technik kann somit aus einem Gewebekomplex von Retina, RPE und Choroidea eines Schweineauges die Fluoreszenzlebensdauer jeder einzelnen Schicht bestimmt werden. Aus diesen Untersuchungen an nativen Schweineaugen konnten sehr kurze Lebensdauern für das RPE (50–120 ps; **Abbildung 3**; [24]) bestimmt werden, welche der Lebensdauer T_1 der in-vivo-Messungen entsprechen, sowie mittlere Lebensdauern um 400 ps für die einzelnen retinalen Schichten (Nervenfaserschicht, Ganglienzellschicht (**Abbildung 3**), Rezeptorinnensegmente usw. [24]), die der Lebensdauer T_2 der in-vivo-Messungen entsprechen.

Weiterhin wurden FLIM-Messungen mit 1-Photonen-Mikroskopie an fixierten Schnittpräparaten von AMD-Spenderaugen durchgeführt. Diese Untersuchungen konnten zeigen, dass sich das RPE deutlich von der Bruch' Membran, Drusen und Choroidea durch eine sehr kurze Fluoreszenzlebensdauer unterscheidet. Die Fluoreszenzlebensdauer der Drusen ist dagegen deutlich länger, wobei hyper- und hypofluoreszente Drusen gefunden wurden (**Abbildung 4**, [25]).

Die zeitaufgelöste Autofluoreszenz ist bei retinalen Erkrankungen im Vergleich zur gesunden Kontrollgruppe verändert und kann im Zusam-

Abbildung 4

■ Fluoreszenzintensität (links) und FLIM-Aufnahme der mittleren Lebensdauer T_m (biexponentiell; rechts) eines AMD-Schnittpräparates mittels 1-Photonen-Mikroskopie (BM, Bruch' Membran; HL, Hyperfluoreszenz Läsion).



menhang mit der Akkumulation von krankheits-spezifischen Substanzen wie Lipofuszin oder AGEs sowie Änderungen des Energiestoffwechsels interpretiert werden. Ein wesentlicher Vorteil von Beurteilungen des Metabolismus mittels Autofluoreszenz besteht im Gegensatz zur Verwendung von fluoreszierenden Markern darin, dass grundsätzlich keine biochemische Beeinflussung der zu untersuchenden Vorgänge erfolgt. Durch die Möglichkeit der kombinierten Anwendung der Fluoreszenzlebensdauer-Ophthalmoskopie (FLIO) bei Patienten und der ex-vivo-Untersuchung mit 2-Photonen-Mikroskopie und FLIM stehen Untersuchungstechniken zur Verfügung, um die Autofluoreszenz des Augenhintergrundes und ihrer Veränderung durch Erkrankungen zu interpretieren.

LITERATUR

1. Beach, J.M., et al., Oximetry of retinal vessels by dual-wavelength imaging: calibration and influence of pigmentation. *J Appl Physiol*, 1999. 86 (2): p. 748–58.
2. Garhofer, G., et al., Use of the retinal vessel analyzer in ocular blood flow research. *Acta Ophthalmol*, 2009.
3. Hammer, M., et al., Retinal venous oxygen saturation increases by flicker light stimulation. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2011. 52 (1): p. 274–7.
4. Schweitzer, D., et al., In Vivo Measurement of the Oxygen Saturation of Retinal Vessels in Healthy Volunteers. *IEEE Trans. Biomed. Eng.*, 1999. 46: p. 1454–1465.
5. Howells, O., F. Eperjesi, and H. Bartlett, Measuring macular pigment optical density in vivo: a review of techniques. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*, 2011. 249 (3): p. 315–47.
6. Schweitzer, D., et al., Simple and objective method for routine detection of the macular pigment xanthophyll. *J Biomed Opt*, 2010. 15 (6): p. 061714.
7. Beatty, S., et al., The role of oxidative stress in the pathogenesis of age-related macular degeneration. *Surv Ophthalmol*, 2000. 45 (2): p. 115–34.
8. Landrum, J.T. and R.A. Bone, Lutein, zeaxanthin, and the macular pigment. *Arch Biochem Biophys*, 2001. 385 (1): p. 28–40.
9. Lakowicz, J.R., Principles of fluorescence spectroscopy. 3rd ed. 2006, New York: Springer. xxvi, 954 p.
10. Koenig, K. and I. Riemann, High-resolution multiphoton tomography of human skin with subcellular spatial resolution and picosecond time resolution. *Journal of Biomedical Optics*, 2003. 8 (3): p. 432–439.
11. Dimitrow, E., et al., Spectral fluorescence lifetime detection and selective melanin imaging by multiphoton laser tomography for melanoma diagnosis. *Experimental Dermatology*, 2009. 18 (6): p. 509–515.
12. Li, D., W. Zheng, and J.Y. Qu, Two-photon autofluorescence microscopy of multicolor excitation. *Opt. Lett.*, 2009. 34 (2): p. 202–204.
13. Mycek, M.A., K.T. Schomacker, and N.S. Nishioka, Colonic polyp differentiation using time-resolved autofluorescence spectroscopy. *Gastrointest Endosc*, 1998. 48 (4): p. 390–4.
14. Heikal, A.A., Intracellular coenzymes as natural biomarkers for metabolic activities and mitochondrial anomalies. *Biomark Med*, 2010. 4 (2): p. 241–63.
15. Skala, M.C., et al., In vivo multiphoton microscopy of NADH and FAD redox states, fluorescence lifetimes, and cellular morphology in precancerous epithelia. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2007. 104 (49): p. 19494–19499.
16. Berezin, M.Y. and S. Achilefu, Fluorescence lifetime measurements and biological imaging. *Chem Rev*, 2010. 110 (5): p. 2641–84.
17. Chorvat, D. and A. Chorvatova, Multi-wavelength fluorescence lifetime spectroscopy: a new approach to the study of endogenous fluorescence in living cells and tissues. *Laser Physics Letters*, 2009. 6 (3): p. 175–193.
18. Schweitzer, D., Metabolic Mapping, in *Medical Retina: Focus on Retinal Imaging*, F. Holz, Editor. 2010, Springer Berlin Heidelberg Berlin, Heidelberg.
19. Schweitzer, D., et al., Towards metabolic mapping of the human retina. *Microsc Res Tech*, 2007. 70 (5): p. 410–9.
20. Schweitzer, D., et al., Comparison of parameters of time-resolved autofluorescence between healthy subjects and patients suffering from early AMD. *Ophthalmologie*, 2009. 106 (8): p. 714–722.
21. Schweitzer, D., et al., Detection of early metabolic alterations in the ocular fundus of diabetic patients by time-resolved autofluorescence of endogenous fluorophores. 2011. Optical Society of America.
22. Andreasen, N., Evaluation of CSF-tau and CSF-Abeta42 as Diagnostic Markers for Alzheimer Disease in Clinical Practice. *Archives of Neurology*, 2001. 58 (3): p. 373–379.
23. Schweitzer, D., et al., Spectral and time-resolved studies on ocular structures. 2007. Munich, Germany: SPIE.
24. Peters, S., M. Hammer, and D. Schweitzer, Two-photon excited fluorescence microscopy application for ex vivo investigation of ocular fundus samples, in *European Conference on Biomedical Optics (ECBO) Munich, Germany*, P. So and E. Beaulrepaire, Editors. 2011, Optical Society of America. p. 808605.
25. Schweitzer, D., et al., Time-resolved autofluorescence imaging of human donor retina tissue from donors with significant extramacular drusen. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2012. 53 (7): p. 3376–86.



KONTAKT

Dipl.-Ing. (FH) Susanne Jentsch
 Universitätsklinikum Jena
 Klinik für Augenheilkunde
 Bachstraße 18
 07743 Jena
 Telefon: 03641 933270
 Telefax: 03641 933270
 E-Mail: Susanne.Jentsch@med.uni-jena.de



Immunologische Veränderungen im Glaukom Modell

DR. STEPHANIE C. JOACHIM, SANDRA KUEHN¹, SABRINA REINEHR,
PROF. DR. H. BURKHARD DICK

Universitäts-
Augenlinik der
Ruhr-Universität
Bochum
KnappschaftsKranken-
haus, Bochum

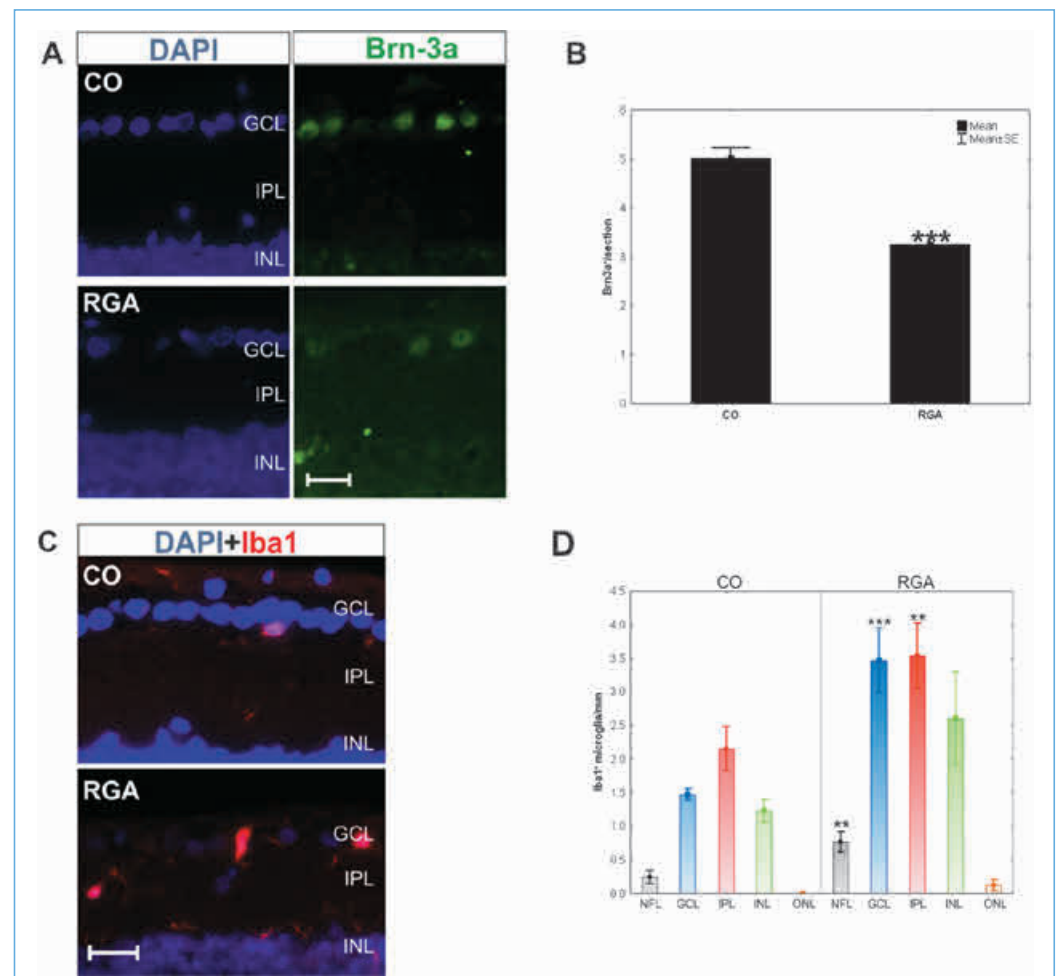
Das Glaukom ist eine neurodegenerative Erkrankung, welche durch einen kontinuierlichen Verlust retinaler Ganglienzellen (RGZ) und der Sehnervenfasern gekennzeichnet ist. Eine verbesserte Kenntnis der Pathogenese der Erkrankung ist notwendig, um in Zukunft eine Behandlung der Ursachen und nicht nur der Symptome zu entwickeln. Ein erhöhter Augeninnendruck (IOD) gilt zwar als Hauptrisikofaktor, doch werden bei etwa 30% der Patienten normale Druckwerte gemessen [1]. Die Druckerhöhung kann folglich nicht alle Aspekte der Erkrankung erklären, die genaue Ur-

sache ist bisher unklar. Um den oder die auslösenden Faktoren zu ermitteln wurde in den letzten Jahren verstärkt auf zellulärer und molekularer Ebene geforscht. Dabei rückte auch das Immunsystem in den Fokus der Ursachenermittlung, u.a. konnten veränderte Antikörpermuster gegen Retina und Sehnerv bei Glaukom Patienten nachgewiesen werden [2, 3].

Um eine mögliche direkte Beteiligung der Antikörper am Prozess der Ganglienzelldegeneration nachzuweisen, wurden immunologische Verän-

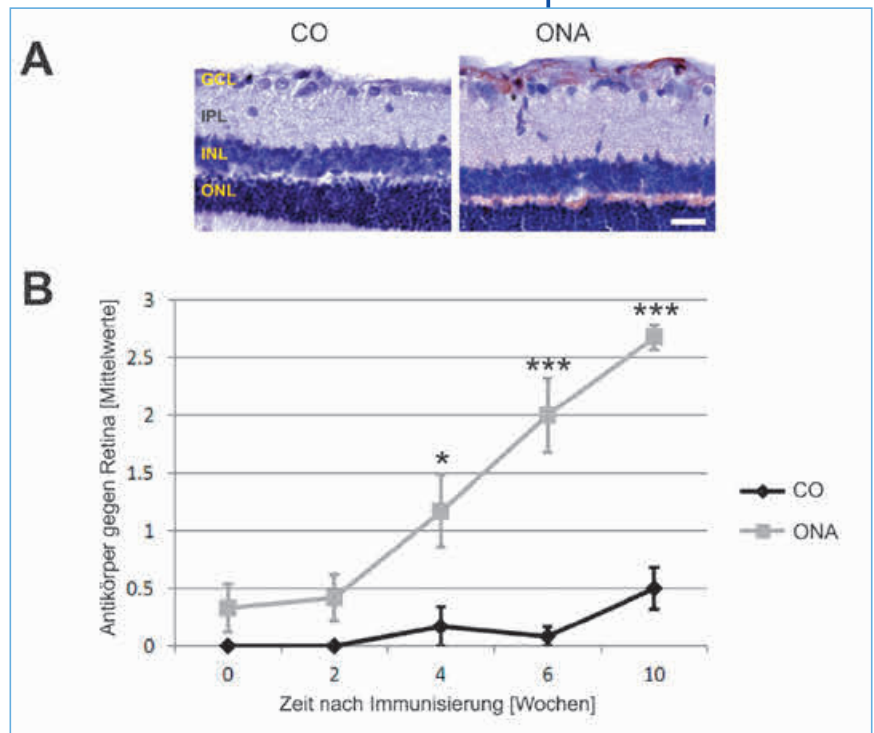
Abbildung 1

A) Nach sechs Wochen kam es in der immunisierten Gruppe (RGA) zum Verlust retinaler Ganglienzellen (Marker: Brn3a) im Vergleich zur Kontrolle (CO). **B)** Dies konnte in einer statistischen Auswertung bestätigt werden. **C)** Zum gleichen Zeitpunkt kam es zu einer Vermehrung von Iba1, einem mikroglialen Marker, in den Retinae der immunisierten Tiere (RGA). **D)** In den drei innersten Schichten der Retina wurde eine signifikante höhere Anzahl von Mikroglia ermittelt (** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$, Mittelwerte \pm SEM, Maßstab: 20 μ m, NFL=Nervenfaserschicht, GCL=Ganglienzellschicht, IPL=innere plexiforme Schicht, INL=innere Körnerschicht, ONL=äußere Körnerschicht).



derungen im Tiermodell untersucht. Dazu wurden die Tiere mit einem Homogenat der retinalen Ganglienzellschicht (RGA) immunisiert [4]. Der IOD der Tiere blieb unverändert ($p > 0,05$), während nach vier Wochen signifikant weniger retinale Ganglienzellen ermittelt wurden ($p = 0,0001$; **Abbildung 1 A und B**). Auch die Sehnerven wiesen Anzeichen der Degeneration auf, bei den immunisierten Tieren kam es zur Demyelinisierung ($p = 0,002$). Weiterhin wurde in diesem Modell eine kontinuierliche Zunahme an autoreaktiven Antikörpern gegen Retina ($p = 0,01$) und Sehnerv ($p = 0,003$) beobachtet. Auch wurden Antikörperablagerungen in der Ganglienzellschicht der Retina nachgewiesen ($p = 0,02$). Häufig waren diese Antikörper mit Mikrogliazellen co-lokalisiert. Mikroglia sind die natürlichen phagozytären Immunzellen in Gehirn und Retina. Diese Immunzellen waren nach Immunisierung vermehrt in der Retina nachweisbar ($p = 0,003$; **Abbildung 1C und D**). Die meisten Mikrogliazellen waren in der Ganglienzellschicht zu finden ($p = 0,003$), was die Vermutung eines degenerativen Einflusses der Mikroglia auf die Ganglienzellen unterstützt. Eine weitere Analyse verschiedener mikroglialer Marker mittels Antikörper-Microarray bestätigte eine Migration und/oder Proliferation der Mikrogliazellen durch die Immunisierung. Sowohl Iba1 ($p = 0,03$) als auch MHC I ($p = 0,01$) und MHC II ($p = 0,06$) wurden verstärkt in der Retina exprimiert. Zusätzlich zu dieser mikroglialen Expansion kam es auch zu einer makroglialen Aktivierung ($p = 0,006$).

Diese glialen Veränderungen wurden in einer weiteren Studie genauer untersucht. Wir verglichen die Immunreaktion bei Tieren, die mit einem Sehnervhomogenat (ONA) immunisiert wurden, mit der von Tieren die mit aufgereinigtem S100 Protein, welches hauptsächlich von glialen Zellen exprimiert wird [5], immunisiert wurden. Bei beiden Gruppen kam es nach vier Wochen zum signifikantem RGZ Verlust ($p < 0,05$) [6], während nach zwei Wochen noch kein RGZ Untergang nachweisbar war ($p = 0,8$) [7]. Dementsprechend scheinen in diesem Zeitraum degenerative Prozesse stattzufinden. Daher untersuchten wir die zeitabhängigen glialen Veränderungen und konnten einen entsprechenden Verlauf nachweisen. Es waren deutlich mehr aktive Mikroglia zwei Wochen nach Immunisierung in den Retinae beider immunisierter Gruppen vorhanden. Nach vier Wochen waren die Mikrogliazellen der immunisierten Tiere wieder in dem »steady state level« zurück und nicht mehr aktiv. Während es nach vier Wochen in Retina und Sehnerv der Sehnervhomogenat Gruppe zu einer Gliose der Makrogliazellen kam, war dies in der S100 Gruppe nicht der Fall [8]. Es scheint so zu sein, dass Mikrogliazellen einen Anteil an den degenerativen Prozessen haben, in Folge dessen RGZ absterben. In diesem Tiermodell sind die Mikrogliazellen bereits aktiv, während die RGZ noch unbeschädigt sind. Die



Makrogliazellen scheinen keinen großen Effekt auf diese Reaktion auszuüben, möglicherweise sind sie mehr an sekundären Prozessen beteiligt. In unserem Modell waren erst zu einem späten Zeitpunkt Veränderungen der Makrogliazellen nachweisbar. Auch scheinen diese abhängig von der Art der Immunisierung zu sein. Um genauere Aussagen über den zeitlichen Ablauf und die Antigenabhängigkeit der Gliareaktion machen zu können, führen wir momentan weitere Untersuchungen, unter anderem zu Veränderungen der Zytokine in der Retina, durch.

Weiterhin untersuchten wir den Langzeitverlauf der Immunantwort in diesem Tiermodell [9]. Dazu wurde die Bildung von Autoantikörpern zu verschiedenen Zeitpunkten nach Immunisierung analysiert. Auch in dieser Studie kam es zehn Wochen nach Immunisierung mit dem Sehnervhomogenat zu einem signifikanten RGZ Verlust ($p = 0,00003$). Außerdem zeigte sich ein deutlicher Schaden an den Sehnerven dieser Tiere. Wir konnten eine kontinuierliche Zunahme der Autoantikörper gegen Retina und Sehnerv beobachten. Vier Wochen nach Immunisierung zeigten sich deutlich mehr Autoantikörper-Bindungen gegen Retinae in der immunisierten Gruppe. Im Studienverlauf nahmen diese Autoantikörper kontinuierlich zu (**Abbildung 2 A**) und waren deutlich höher als in der Kontrollgruppe ($p = 0,00001$; **Abbildung 2 B**). Zusätzlich wurden nach zehn Wochen die IgG-Level im Kammerwasser der Tiere untersucht. Es zeigte sich eine deutliche IgG-Erhöhung im Kammerwasser der immunisierten Tiere ($p = 0,006$).

Abbildung 2

A) Exemplarische Bilder der Retinae nach 10 Wochen. Bei den mit Sehnervhomogenat (ONA) immunisierten Tieren sieht man eine deutliche Bindung der Autoantikörper (braun), nicht so bei den Kontrolltieren (CO).

B) Graphische Darstellung der Autoantikörper Level im Studienverlauf. Nach vier, sechs und zehn Wochen wurden signifikant höhere Autoantikörperwerte in der immunisierten Gruppe (ONA) beobachtet (* $p < 0,05$; *** $p < 0,001$; Mittelwerte \pm SEM, Maßstab: 50 µm, GCL=Ganglienzellschicht, IPL=innere plexiforme Schicht, INL=innere Körnerschicht, ONL=äußere Körnerschicht).

Es stellt sich die Frage, ob diese Autoantikörper einen direkten Einfluss auf die Ganglienzellen haben oder ob sie weitere Kaskaden aktivieren, die dann letztendlich zum Untergang der RGZ führen. Eine Möglichkeit wäre, dass es durch die Antikörper zur Aktivierung des Komplementsystems kommt. Das Komplementsystem ist Teil des angeborenen Immunsystems und kann über verschiedene Wege ausgelöst werden, u. a. auch durch IgG Antikörper [10]. Erste Hinweise auf eine mögliche Beteiligung beim Glaukom gibt es auch an Spenderaugen von Glaukomekranken, bei denen eine Erhöhung von Komplementfaktoren nachweisbar war [11]. Unsere Arbeitsgruppe untersucht momentan den Zusammenhang des Komplementsystems mit dem Zelluntergang im Immunisierungs-Glaukommodell. Zunächst wurden Proteine analysiert, die bei allen Aktivierungswegen durchlaufen werden. Zum einen handelt es sich hier um C3 und zum anderen um den Membranangriffskomplex. Dieser Angriffskomplex wird am Ende der Kaskade aktiviert und führt zur Lyse und damit zum Tod der Zielzelle. Erste Ergebnisse zeigten einen signifikanten Anstieg von C3 und des Membranangriffskomplexes in der Ganglienzellschicht ($p < 0,05$) und dies schon sieben Tage nach Immunisierung [7]. Weitere Studien sollen genaueren Aufschluss über den Zusammenhang des Komplementsystems mit dem Zelluntergang geben.

LITERATUR

1. Cartwright M.J., Grajewski A.L., Friedberg M.L., Anderson D.R., Richards D.W. (1992) Immune-related disease and normal-tension glaucoma. A case-control study. *Arch Ophthalmol* 110: 500–502.
2. Grus F.H., Joachim S.C., Hoffmann E.M., Pfeiffer N. (2004) Complex autoantibody repertoires in patients with glaucoma. *Mol Vis* 10: 132–137.
3. Joachim S.C., Pfeiffer N., Grus F.H. (2005) Autoantibodies in patients with glaucoma: a comparison of IgG serum antibodies against retinal, optic nerve, and optic nerve head antigens. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 243: 817–823.
4. Joachim S.C., Gramlich O.W., Laspas P., Schmid H., Beck S., von Pein H.D., Dick H.B., Pfeiffer N., Grus F.H. (2012) Retinal ganglion cell loss is accompanied by antibody depositions and increased levels of microglia after immunization with retinal antigens. *PLoS One* 7: e40616.
5. Ellis E.F., Willoughby K.A., Sparks S.A., Chen T. (2007) S100B protein is released from rat neonatal neurons, astrocytes, and microglia by in vitro trauma and anti-S100 increases trauma-induced delayed neuronal injury and negates the protective effect of exogenous S100B on neurons. *J Neurochem* 101: 1463–1470.
6. Kuehn S., Noristani R., Kuehn M., Dick H.B., Joachim S.C. (2013) T-cell and cytokine investigations in an experimental model of retinal ganglion cell loss. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 54: 2025.
7. Reinehr S., Becker S., Kuehn S., Casola C., Noristani R., Dick H.B., Joachim S.C. (2013) Activation of the complement system in an autoimmune model of glaucoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 54: 753.
8. Noristani R., Kuehn S., Kuehn M., Schiwiek J.E., Grus F.H., Dick H.B., Joachim S.C. (2012) Glia Alterations In An Experimental Autoimmune Glaucoma Model. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 53: 2024.
9. Joachim S.C., Reinehr S., Kuehn S., Laspas P., Gramlich O.W., Kuehn M., Tischoff I., von Pein H.D., Dick H.B., Grus F.H. (2013) Immune response against ocular tissues after immunization with optic nerve antigens in a model of autoimmune glaucoma. *Mol Vis* 19: 1804–1814.
10. Sontheimer R.D., Racila E., Racila D.M. (2005) C1q: its functions within the innate and adaptive immune responses and its role in lupus autoimmunity. *J Invest Dermatol* 125: 14–23.
11. Tezel G., Yang X., Luo C., Kain A.D., Powell D.W., Kuehn M.H., Kaplan H.J. (2010) Oxidative stress and the regulation of complement activation in human glaucoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 51: 5071–5082.

Dr. med. Stephanie Joachim, Jahrgang 1976, leitet das Forschungslabor an der Universitäts-Augenklinik (Direktor: Prof. Dr. med. Burkhard Dick) der Ruhr-Universität Bochum. Frau Joachim studierte Medizin an der Universität Ulm und 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 das Forschungslabor an der Universitäts-Augenklinik in Bochum. Der wissenschaftliche Fokus ihrer Arbeitsgruppe liegt auf degenerativen Erkrankungen der Retina, insbesondere werden der Pathomechanismus des Glaukoms und der retinalen Ischämie untersucht.

FÖRDERUNGEN UND AUSZEICHNUNGEN

Dr. Joachim erhielt 2011 den Wissenschaftspreis des Vereins Rheinisch-Westfälischer Augenärzte für das Projekt »Bedeutung von Antikörper Ablagerungen beim Glaukom«. Im selben Jahr wurde sie auch mit dem Förderpreis der Sophia & Fritz Heinemann-Stiftung ausgezeichnet.

Ihre Projekte werden durch die Deutsche Forschungsgemeinschaft und die Forschungsförderung der Ruhr-Universität Bochum (FoRUM) gefördert. 2012 erhielt Fr. Dr. Joachim zusätzlich den Fakultätspreis für klinische Forschung durch die Ruhr-Universität Bochum. Für das Projekt »Untersuchung der Ursachen des Sehverlustes im Tiermodell der Multiplen Sklerose« wird Fr. Dr. Joachim außerdem durch eine Förderung des Mercator Research Centers unterstützt.

Fr. Dr. Joachim ist Mitglied der Deutschen Ophthalmologischen Gesellschaft und Gutachterin für zahlreiche internationale, wissenschaftliche Fachzeitschriften.



Dr. Stephanie C. Joachim

Leiterin des Forschungslabors
Universitäts-Augenklinik
der Ruhr-Universität Bochum
Knappschafts Krankenhaus
In der Schornau 23–25
44892 Bochum
Telefon: 0234 299-3156
Telefax: 0234 299-3157
E-Mail: stephanie.joachim@kk-bochum.de

KONTAKT



Gentherapie bei AMD und bidirektionale Elektrostimulation der Netzhaut

DR. RER. NAT. SANDRA JOHNNEN¹, PROF. DR. MED. GABRIELE THUMANN^{1,2},
 PROF. DR. MED. PETER WALTER¹

1 Klinik und Poliklinik für Augenheilkunde,
 Uniklinik RWTH Aachen

2 Hôpitaux Universitaires de Genève,
 Service d'Ophtalmologie

Degenerative Veränderungen der Netzhaut gehören zu den Haupterblindungsursachen der alternden Bevölkerung weltweit, wobei in den westlichen Industrienationen die altersbedingte Makuladegeneration (AMD) am häufigsten verbreitet ist. [1] Etwa 10–20% der Patienten sind an der exsudativen Form der AMD erkrankt, wo durch das Einwachsen von Blutgefäßen durch die Bruch'sche Membran und das retinale Pigmentepithel (RPE) in die Netzhaut eine choroidale Neovaskularisation (CNV) entsteht, die aufgrund von subretinalen Blutungen zum Visusverlust führt. [2] Auf molekularer Ebene ist die CNV durch eine erhöhte Konzentration des pro-angiogenen *Vascular Endothelial Growth Factor* (VEGF) ge-

kennzeichnet. [3, 4] Die aktuelle Therapie beruht auf der Blockade durch das humanisierte Anti-VEGF Antikörperfragment Ranibizumab (Lucentis®), die zur Stabilisierung der Sehschärfe führt, aber bei nur einem Drittel der Patienten eine Visusverbesserung zur Folge hat. [5] Zudem bedarf es zumeist monatlicher intravitrealer Applikationen, die mögliche Endophthalmitiden und einen erhöhten Augeninnendruck als Nebenwirkungen sowie die Non-Compliance des Patienten zur Folge haben können. [6] Unser Therapieansatz, der die genannten Komplikationen umgeht, besteht in der Transplantation von genetisch modifizierten Pigmentepithelzellen, die den *Pigment Epithelium-Derived Factor* (PEDF) verstärkt ex-

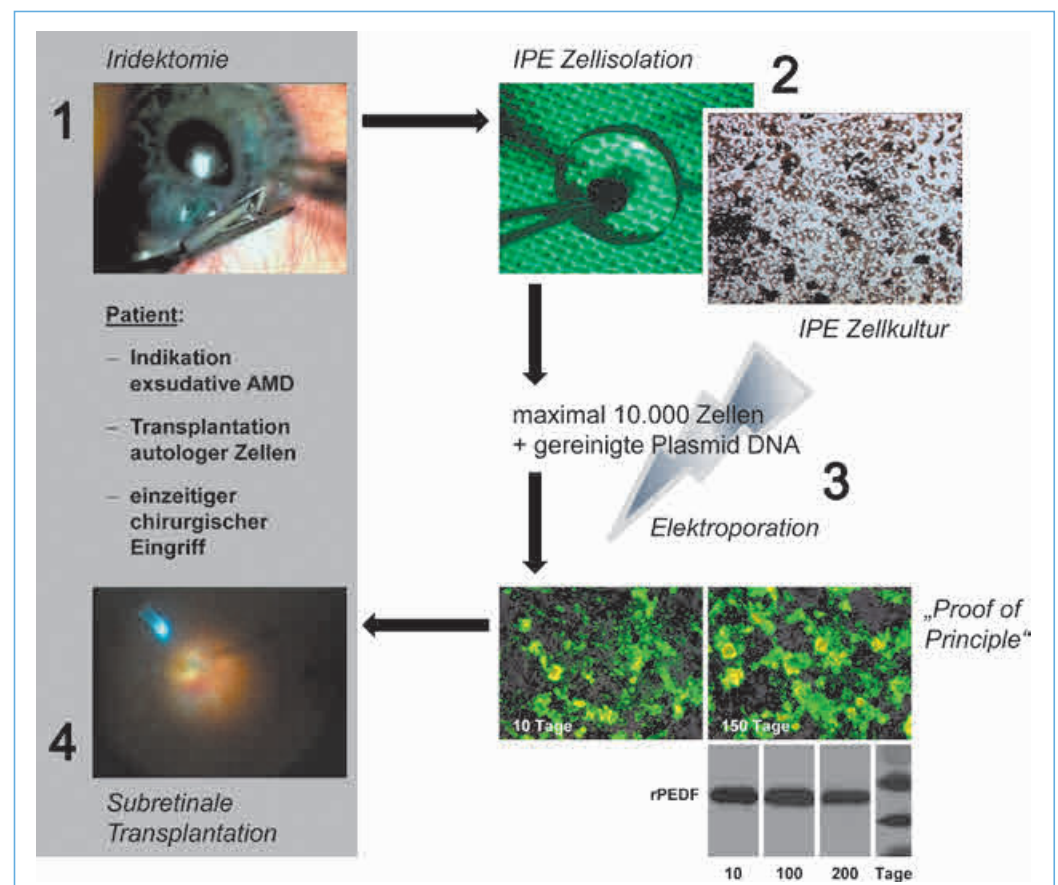


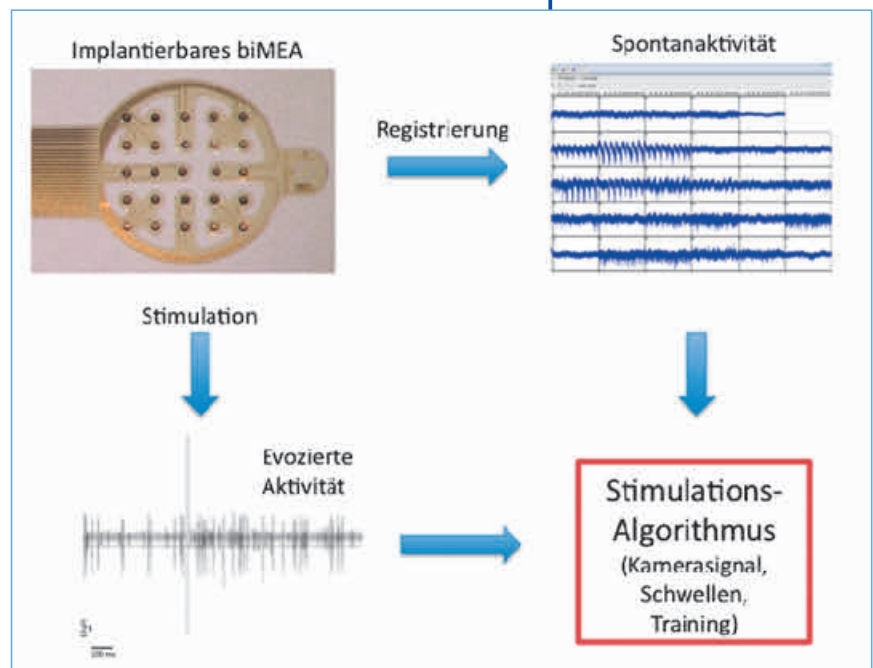
Abbildung 1
■ Gentherapeutische Behandlung von Patienten mit exsudativer AMD.
 Präklinische Versuche mit primären IPE Zellen zeigen die gute Effizienz und stabile Sekretion des rekombinanten PEDF.

primieren. PEDF ist ein im RPE natürlich vorkommender Angiogenese-Inhibitor, [7] der zusätzlich neurotrophe, neuroprotektive und anti-tumorogene Eigenschaften besitzt. [8–10] In einer klinischen Phase I Studie, in die 28 Patienten mit neovaskulärer AMD einbezogen waren, wurde die anti-angiogene Aktivität des PEDF nachgewiesen; die intravitreale Applikation erfolgte über einen adenoviralen Vektor, was bei 25 % der Patienten intraokulare Entzündungsreaktionen hervorrief. [11]

Im Gegensatz dazu wurde in Aachen unter Leitung von G. Thumann ein gentherapeutisches Konzept entwickelt, das jetzt in einem Kooperationsprojekt von den Augenkliniken in Genf (G. Thumann) und Aachen (S. Johnen) fortgesetzt wird. Dieses Konzept beinhaltet die Isolation, die *ex vivo* Transfektion und anschließende subretinale Transplantation von patienteneigenen retinalen (RPE) oder iridalen (IPE) Pigmentepithelzellen während eines einzeitigen chirurgischen Eingriffs (**Abbildung 1**). Bei der Transfektion wird das Plasmid-kodierte rekombinante PEDF durch Elektroporation in die Zellen eingebracht und mit Hilfe des nicht-viralen *Sleeping Beauty (SB)* Transposonsystems in das Genom integriert. Hierbei katalysiert die auf einem separaten Plasmid kodierte *SB* Transposase das Ausschneiden der Transposon-spezifischen *PEDF* Expressionskassette aus dem Plasmid und deren nachfolgende stabile genomische Integration, wodurch – anders als bei klassischen Plasmid-basierten nicht-viralen Ansätzen – eine langanhaltende und effiziente Genexpression gewährleistet wird. [12] Weitere Vorteile gegenüber viralen Vektoren sind die reduzierte Immunogenität [13] und ein verbessertes Sicherheits- und Toxizitätsprofil. [14] In den Vereinigten Staaten wird das *SB* Transposonsystem bereits in klinischen Studien zur *ex vivo* Modifikation von T Zellen für die Behandlung von Patienten mit B-lymphoiden Malignomen erprobt. [15, 16]

Wir haben in wiederholten Experimenten gezeigt, dass geringe Zahlen von maximal 10.000 primären humanen Pigmentepithelzellen, wie sie nach einer Iridektomie oder RPE Aspiration zur Verfügung stehen, effizient mit einer Transfektionsrate von ca. 30 % elektroporiert werden können, wobei die elektrischen Impulse die zelltypspezifische kopfsteinpflasterartige Morphologie nicht beeinflussen. Kontinuität und Stabilität der rekombinanten PEDF Proteinseznernierung wurde über einen Zeitraum von mindestens einem Jahr gezeigt. Der Nachweis der stabilen genomischen Integration des *PEDF* Transgens wurde mittels quantitativer *Real-Time* PCR erbracht.

Zwecks weiterer Optimierung der *ex vivo* Transfektion untersuchen wir derzeit verschiedene Modifikationen, wie bspw. die Verwendung eines Expressionssystems ohne Antibiotika-Resistenz-



gen, den Einsatz einer transient exprimierten *SB* Transposase oder die Integration des Transgens in definierte Regionen des Genoms. Diese Versuche sind Teil des von der Europäischen Union im 7. Forschungsrahmenprogramm finanzierten Projektes TargetAMD, dessen Ziel zwei unabhängige klinische Phase Ib/IIa Studien sind, die die subretinale Transplantation von *SB*-modifizierten, *PEDF*-überexprimierenden autologen IPE bzw. RPE Zellen zur Behandlung von Patienten mit exsudativer AMD untersuchen.

Neben der AMD gelten die diffusen Dystrophien der Netzhaut als weitere wichtige Erblindungsursache. Retinitis pigmentosa (RP) betrifft 0,025 % der Bevölkerung [17] und ist charakterisiert durch eine progrediente Degeneration der Photorezeptoren, ausgelöst durch eine Vielzahl von Mutationen. [18, 19] In den letzten Jahren wurden Elektrostimulationsansätze erfolgreich verfolgt, wo nach Implantation von Multielektrodenarrays eine Restsehfunktion bei blinden RP Patienten wiederhergestellt werden konnte. Die mit den heutigen Systemen wiedererlangte Restfunktion liegt im Bereich einer Sehschärfe von ca. 0,01–0,04. Alle Systeme beruhen darauf, dass mittels Reizelektroden, die entweder auf (epiretinal) [20–22] oder unter (subretinal) [23, 24] der Netzhaut platziert sind, Stimulationspulse abgegeben werden, die retinale Zellen in der Umgebung dieser Elektroden aktivieren sollen.

Untersuchungen der letzten Jahre haben gezeigt, dass es im Verlauf der Netzhautdegeneration zu erheblichen Reorganisationen kommt. So findet im letzten Stadium eine starke Migration der noch verbliebenen Zellen statt. Bipolarzellen verlagern

Abbildung 2

■ Konzept bidirektionaler Retina Implantate.

Bisher bestimmen sich die Parameter des Stimulationsalgorithmus durch das Kamerasignal, die Reizschwellen sowie durch Trainingsergebnisse. In unserem Konzept fließen zusätzlich Messdaten eines biMEA-Implantates zur elektrischen Spontanaktivität und evozierten Aktivität der Netzhaut ein.

sich vorzugsweise nach innen, wohingegen Ganglienzellen in die äußere Netzhautschicht wandern. In Folge dessen entstehen in der degenerierten Netzhaut neuartige Zellverbindungen, sogenannte Mikroneurone, bestehend aus knäuelartigen Verschaltungen verschiedener Dendriten. [25–27] Die Stimulationskonzepte bisheriger Retina Implant (RI) Systeme basieren allerdings alle auf dem einfachen Modell fehlender Photorezeptoren und einer ansonsten normalen Netzhaut. Unsere Arbeitsgruppe hat deshalb vorgeschlagen, RI Systeme mit einer zusätzlichen Analysekapazität auszustatten. Über das implantierte Multielektrodenarray soll nicht nur die Stimulation, sondern auch eine Ableitung der neuronalen Aktivität innerhalb der Netzhaut erfolgen. Mit Hilfe solcher Ableitungen lässt sich erkennen, ob unter der Reizelektrode lebende retinale Neuronen liegen und welche Eigenschaften diese Neurone besitzen. Diese Daten sollen anschließend in die Berechnung des Stimulationsalgorithmus einfließen.

Gegenwärtig arbeiten wir an explantierten Netzhäuten der *Retinal Degeneration 10* (rd10) Maus [28, 29] und der *Royal College of Surgeons* (RCS) Ratte [30–32] als RP Modellsystem. Elektrophysiologisch sind beide Tiermodelle durch einen Verlust des ERGs gekennzeichnet und im OCT ist eine Verdünnung der Netzhaut überwiegend im Bereich der äußeren Körnerschicht zu erkennen. Nach der Isolation lässt sich mit Hilfe eines Multielektrodenarray (MEA) Systems die lokale Spontanaktivität der inneren Netzhaut registrieren. Dabei zeigt sich, dass an einigen Elektroden keine Spontanaktivität nachweisbar ist. Andere Elektroden zeigen eine kontinuierliche Aktivität mit einer konstanten Aktionspotentialfrequenz. In einer dritten Gruppe findet man Burst-Signale in Form sich in konstanter Frequenz wiederholender Aktionspotentialgruppen (Inter-Burst-Intervall: ca. 4 Hz) und erkennt langsame Oszillationen. Im Gegensatz dazu ist bei isolierten Netzhäuten von Wildtyp-Mäusen und -Ratten eine kontinuierliche Spikerate zu erkennen, wohingegen langsame Oszillationen nicht vorzufinden sind. Ein Vergleich der Elektrostimulationseffekte der inneren Netzhaut bei Wildtyp- und rd10 Mäusen zeigt, dass die Stimulation im rd10 Modell zwar gelingt, die Ansprechraten allerdings deutlich geringer sind als in der Wildtyp-Maus.

Unsere weitergehenden Untersuchungen beschäftigen sich mit der Modifikation der Stimulation in Abhängigkeit vom zuvor registrierten Spontanaktivitätsmuster mit dem Ziel, die Stimulations-effizienz zu erhöhen. Gleichzeitig entsteht in Kooperation mit den Kollegen der Elektrotechnik der RWTH Aachen und der Universität Duisburg-Essen die entsprechend benötigte Hardware, um sowohl Registrierung als auch Stimulation auf einem Implantat zu gewährleisten. In zukünftigen Experimenten soll dann ein solches Funktions-

muster im Tierversuch (Kaninchenmodell) erprobt werden.

LITERATUR

1. Resnikoff S., Pascolini D., Etya'ale D., Kocur I., Pararajasegaram R., Pokharel G.P., Mariotti S.P. Global data on visual impairment in the year 2002. *Bull World Health Organ* 2004; 82: 844–851.
2. Walsh A.W., Magargal L.E., Wright F., Donoso L.A. The early natural history of subfoveal neovascular membranes in eyes with age-related macular degeneration. *Ann Ophthalmol* 1989; 21: 348–350.
3. Frank R.N., Amin R.H., Elliott D., Puklin J.E., Abrams G.W. Basic fibroblast growth factor and vascular endothelial growth factor are present in epiretinal and choroidal neovascular membranes. *Am J Ophthalmol* 1996; 122: 393–403.
4. Spilisbury K., Garrett K.L., Shen W.Y., Constable I.J., Rakoczy P.E. Overexpression of vascular endothelial growth factor (VEGF) in the retinal pigment epithelium leads to the development of choroidal neovascularization. *Am J Pathol* 2000; 157: 135–144.
5. Kovach J.L., Schwartz S.G., Flynn H.W., Jr., Scott I.U. Anti-VEGF Treatment Strategies for Wet AMD. *J Ophthalmol* 2012; 2012: 786870.
6. Schmidt-Erfurth U. Clinical safety of ranibizumab in age-related macular degeneration. *Expert Opin Drug Saf* 2010; 9: 149–165.
7. Dawson D.W., Volpert O.V., Gillis P., Crawford S.E., Xu H., Benedict W., Bouck N.P. Pigment epithelium-derived factor: a potent inhibitor of angiogenesis. *Science* 1999; 285: 245–248.
8. Falk T., Zhang S., Sherman S.J. Pigment epithelium derived factor (PEDF) is neuroprotective in two in vitro models of Parkinson's disease. *Neurosci Lett* 2009; 458: 49–52.
9. Filleur S., Volz K., Nelius T., Mirochnik Y., Huang H., Zai-chuk T.A., Aymerich M.S., Becerra S.P., Yap R., Veliceasa D., Shroff E.H., Volpert O.V. Two functional epitopes of pigment epithelial-derived factor block angiogenesis and induce differentiation in prostate cancer. *Cancer Res* 2005; 65: 5144–5152.
10. Garcia M., Fernandez-Garcia N.I., Rivas V, Carretero M., Escamez M.J., Gonzalez-Martin A., Medrano E.E., Volpert O., Jorcano J.L., Jimenez B., Larcher F., Del Rio M. Inhibition of xenografted human melanoma growth and prevention of metastasis development by dual antiangiogenic/antitumor activities of pigment epithelium-derived factor. *Cancer Res* 2004; 64: 5632–5642.
11. Campochiaro P.A., Nguyen Q.D., Shah S.M., Klein M.L., Holz E., Frank R.N., Saperstein D.A., Gupta A., Stout J.T., Macko J., DiBartolomeo R., Wei L.L. Adenoviral vector-delivered pigment epithelium-derived factor for neovascular age-related macular degeneration: results of a phase I clinical trial. *Hum Gene Ther* 2006; 17: 167–176.
12. Johnen S., Izsvak 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.

13. Yant S.R., Meuse L., Chiu W., Ivics Z., Izsvak Z., Kay M.A. Somatic integration and long-term transgene expression in normal and haemophilic mice using a DNA transposon system. *Nat Genet* 2000; 25: 35–41.
14. VandenDriessche T., Ivics Z., Izsvak Z., Chuah M.K. Emerging potential of transposons for gene therapy and generation of induced pluripotent stem cells. *Blood* 2009; 114: 1461–1468.
15. Hackett P.B., Largaespada D.A., Cooper L.J. A transposon and transposase system for human application. *Mol Ther* 2010; 18: 674–683.
16. Hackett P.B., Largaespada D.A., Switzer K.C., Cooper L.J. Evaluating risks of insertional mutagenesis by DNA transposons in gene therapy. *Transl Res* 2013; 161: 265–283.
17. Sung C.H., Chuang J.Z. The cell biology of vision. *J Cell Biol* 2010; 190: 953–963.
18. Daiger S.P., Bowne S.J., Sullivan L.S. Perspective on genes and mutations causing retinitis pigmentosa. *Arch Ophthalmol* 2007; 125: 151–158.
19. Wright A.F., Chakarova C.F., Abd El-Aziz M.M., Bhatnacharya S.S. Photoreceptor degeneration: genetic and mechanistic dissection of a complex trait. *Nat Rev Genet* 2010; 11: 273–284.
20. Ahuja A.K., Behrend M.R. The Argus II retinal prosthesis: Factors affecting patient selection for implantation. *Prog Retin Eye Res* 2013.
21. Menzel-Severing J., Laube T., Brockmann C., Bornfeld N., Mokwa W., Mazinani B., Walter P., Roessler G. Implantation and explantation of an active epiretinal visual prosthesis: 2-year follow-up data from the EPIRET3 prospective clinical trial. *Eye (Lond)* 2012; 26: 501–509.
22. Roessler G., Laube T., Brockmann C., Kirschkamp T., Mazinani B., Goertz M., Koch C., Krisch I., Sellhaus B., Trieu H.K., Weis J., Bornfeld N., Rothgen H., Messner A., Mokwa W., Walter P. Implantation and explantation of a wireless epiretinal retina implant device: observations during the EPIRET3 prospective clinical trial. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2009; 50: 3003–3008.
23. Stingl K., Bartz-Schmidt K.U., Besch D., Braun A., Bruckmann A., Gekeler F., Greppmaier U., Hipp S., Hortdorfer G., Kernstock C., Koitschev A., Kusnyerik A., Sachs H., Schatz A., Stingl K.T., Peters T., Wilhelm B., Zrenner E. Artificial vision with wirelessly powered subretinal electronic implant alpha-IMS. *Proc Biol Sci* 2013; 280: 20130077.
24. Stingl K., Gekeler F., Bartz-Schmidt K.U., Kogel A., Zrenner E., Gelissen F. Fluorescein angiographic findings in eyes of patients with a subretinal electronic implant. *Curr Eye Res* 2013; 38: 588–596.
25. Jones B.W., Marc R.E. Retinal remodeling during retinal degeneration. *Exp Eye Res* 2005; 81: 123–137.
26. Jones B.W., Watt C.B., Frederick J.M., Baehr W., Chen C.K., Levine E.M., Milam A.H., Lavail M.M., Marc R.E. Retinal remodeling triggered by photoreceptor degenerations. *J Comp Neurol* 2003; 464: 1–16.
27. Marc R.E., Jones B.W., Watt C.B., Strettoi E. Neural remodeling in retinal degeneration. *Prog Retin Eye Res* 2003; 22: 607–655.
28. Chang B., Hawes N.L., Hurd R.E., Davisson M.T., Nusinowitz S., Heckenlively J.R. Retinal degeneration mutants in the mouse. *Vision Res* 2002; 42: 517–525.
29. Gargini C., Terzibasi E., Mazzoni F., Strettoi E. Retinal organization in the retinal degeneration 10 (rd10) mutant mouse: a morphological and ERG study. *J Comp Neurol* 2007; 500: 222–238.
30. Fletcher E.L., Kalloniatis M. Neurochemical development of the degenerating rat retina. *J Comp Neurol* 1997; 388: 1–22.
31. Matuk Y. Retinitis pigmentosa and retinal degeneration in animals: a review. *Can J Biochem Cell Biol* 1984; 62: 535–546.
32. Mullen R.J., LaVail M.M. Inherited retinal dystrophy: primary defect in pigment epithelium determined with experimental rat chimeras. *Science* 1976; 192: 799–801.



KONTAKT



Dr. rer. nat. Sandra Johnen, Jahrgang 1975, ist Leiterin der Arbeitsgruppe Experimentelle Ophthalmologie an der Augenklinik am Uni-

versitätsklinikum Aachen. Nach dem Studium der Biologie an der RWTH Aachen von 1994–2001 und der Promotion an der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf 2005 über die Charakterisierung der biochemischen Eigenschaften eines Phosphonat-synthetisierenden Enzyms, wurde sie wissenschaftliche Mitarbeiterin in der Aachener Universitätsaugenklinik. In der Arbeitsgruppe Experimentelle Ophthalmologie entwickelte sie schwerpunktmäßig, zusammen mit Gabriele Thumann, eine effiziente und sichere Methode zur genetischen Modifikation von primären Pigmentepithelzellen. Seit September 2012 hat sie die Leitung der Arbeitsgruppe übernommen.

Dr. rer. nat. Sandra Johnen
Leiterin der
AG Experimentelle Ophthalmologie
Augenklinik
Uniklinik RWTH Aachen
Pauwelsstraße 30
52074 Aachen
Telefon: 0241 8088191
Telefax: 0241 8082408
E-Mail: sjohnen@ukaachen.de



Prof. Dr. med. Gabriele Thumann, Jahrgang 1966, ist Direktorin der Abteilung für Glaskörper- und Netzhautchirurgie an der Universitätsklinik Genf, Schweiz. Nach dem Studium der Humanmedizin in Köln, Paris und New York von 1985–1992 erfolgte die Facharztausbildung an der Universitätsaugenklinik Köln. Nach einem 2-jährigen DFG-Forschungsaufenthalt in den USA am Doheny Eye Institute, unter der Leitung von Prof. Steven Ryan, erfolgte die Oberarztstätigkeit und operative Spezialisierung im Bereich Glaskörper- und Netzhautchirurgie an der Universitätsaugenklinik Köln. Von 2006–2012 leitete sie die IZKF

geförderte Forschungsgruppe Experimentelle Ophthalmologie verbunden mit einer klinischen Oberarztstätigkeit an der Universitätsaugenklinik Aachen. 2009 nahm sie den Ruf auf die Universitätsprofessur Experimentelle Ophthalmologie an der RWTH Aachen an. Im September 2012 folgte sie dem Ruf als Ordinarius an die Universität Genf, verbunden mit der Leitung der Abteilung für Glaskörper- und Netzhautchirurgie. Seit November 2012 ist sie Koordinatorin eines europäischen Forschungskonsortiums im 7. Rahmenprogramm der EU zum Thema Gentherapie.



Prof. Dr. med. Peter Walter, Jahrgang 1963, ist Direktor der Augenklinik am Universitätsklinikum Aachen. Nach dem Studium der Humanmedizin in Köln von 1982–1988 und Promotion im Physiologischen Institut 1990 über Stoffwechsel und neuronale Aktivität der isolierten Netzhaut, wurde er Assistent an der Kölner Universitäts-Augenklinik. Nach der

Facharztanerkennung 1995 erfolgte die Spezialausbildung in der operativen Augenheilkunde mit dem Schwerpunkt Netzhaut- und Glaskörperchirurgie bei Klaus Heimann in Köln. Seit 2003 ist er Direktor der Augenklinik am UK Aachen und seit 2008 Sprecher des Interdisziplinären Zentrums für klinische Forschung IZKF der Medizinischen Fakultät der RWTH Aachen.



Second Sight

Behandlung von Retinitis pigmentosa: Die bahnbrechende Technologie von Second Sight

Argus® II

Retinaprothesensystem

Die weltweit einzige CE-gekennzeichnete und von der FDA zugelassene Netzhaut-Prothese für Blinde*.



- ↘ Klinische Ergebnisse haben in den letzten 5 Jahren gezeigt, dass Argus II langfristig zuverlässig ist und Vorteile für implantierten Patienten bietet.
- ↘ Im Durchschnitt wurde die Sehschärfe der 30 Patienten in einer Studie von geringer Lichtperzeption auf mindestens Handbewegungen verbessert - einige konnten sogar Finger zählen¹.
- ↘ Mehr als 50 Patienten haben Argus II weltweit erhalten. Die erste Argus II Prothese wurde im September 2006 implantiert. Die ersten 30 Patienten verwenden nun Argus II seit über 5 Jahren, und viele dieser Patienten sind seit über 6 Jahren implantiert worden. Insgesamt sind dies mehr als 130 Patienten-Jahre.

- ↘ Argus II ist eine Ergänzung zu anderen unterstützenden Hilfsmitteln für Blinde und kann eventuell sogar wieder zu Fähigkeiten verhelfen, die bislang für Blinde unmöglich waren (z.B. lesen)².
- ↘ Die beste Sehschärfe mit Argus II wurde weltweit von 20/200 (0.1, 1.0 LogMAR) mit der acuboot Technologie nachgewiesen, die bald als Software-Upgrade veröffentlicht wird³.

1. Humayun MS, et al. Interim results from the international trial of Second Sight's visual prosthesis. *Ophthalmology* 2012;119:779-88.
2. da Cruz L, et al. The Argus® II epiretinal prosthesis system allows letter and word reading and long-term function in users with profound vision loss. *Br J Ophthalmol* 2013;97:632-6.
3. Sahel J. Acuboot™: Enhancing the maximum acuity of the Argus II Retinal Prosthesis System; ARVO; 2013

* Geeignet bei starker bis hochgradiger äußerer Netzhautdegeneration

Second Sight lädt Sie zum Lunchsymposium auf dem DOG-Kongress ein:

Argus® II Retinal Implant, the first approved treatment for RP

Freitag, 20. September 2013, 12:10-13:10, Saal C

Vorsitzender: Prof. Dr. Peter Walter, Augenlinik der RWTH Aachen



Mrs Anne Kram,
Second Sight Medical Products
(Switzerland) Sàrl, Lausanne

Field Clinical Engineer
& Rehabilitation Specialist

"Visual rehabilitation with the Argus II patients"



Prof. Dr. Albert Augustin,
Städtisches Klinikum Karlsruhe

Direktor der Augenklinik

"Argus II Retinal Implant: reaching artificial vision via surgical approach"



Prof. Dr. Peter Walter,
Augenklinik der RWTH Aachen

Direktor

"The evolution of Retinal Prostheses till Argus II: physiology of the electrical stimulation"



www.2-sight.com

Forschung im Lehrstuhl Ophthalmologie der Medizinischen Fakultät Mannheim der Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg

PROF. DR. JOST B. JONAS

**Lehrstuhl für
Ophthalmologie,**
Medizinische Fakultät
Mannheim der
Ruprecht-Karls-
Universität Heidelberg

Die am Lehrstuhl für Ophthalmologie der Medizinischen Fakultät Mannheim der Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg durchgeführte Forschung beinhaltet die ophthalmologische Epidemiologie, neben der Glaukompathogenese (mögliche Rolle des orbitalen cerebrospinalen Flüssigkeitsdruckes als Gegendruck zum Augeninnendruck und damit als Teil des Trans-Lamina cribrosa Druckunterschiedes), [1–4] der Glaukomdiagnostik mit der histologischen Beschreibung und klinischen Anwendung der neuen parapapillären Atrophiezonen Gamma und Delta, [5–7] der Ophthalmodynamometrie zur Abschätzung des arteriellen und venösen okulären Blutdruckes und des orbitalen cerebrospinalen Flüssigkeitsdruckes bzw. des Hirndruckes, [8, 9] der intravitrealen zell-basierten Medikamentenproduktion im Auge, [10–12] der intraokulären Zelltherapie von retinalen und Sehnervenerkrankungen (einschließlich der autologen intraokulären Knochenmarktransplantation), [11] der Bildgebung makulärer Erkrankungen einschließlich der polypoiden choroidalen Vaskulopathie, [12, 13] der Untersuchung der Rolle der retinalen Mikroglia im Rahmen von dystrophischen und degenerativen Netzhaut- und Sehnervenerkrankungen, [14, 15] und der Häufigkeit, Risikofaktoren, Prävention und möglicher Therapie der Myopie einschließlich der myopischen Retinopathie und hochmyopen Glaukom-Neuropathie.

[17–23] Diese Forschungsansätze werden in intensiver Kooperation durchgeführt mit dem:

- Beijing Institute of Ophthalmology
- Beijing Tongren Eye Hospital
- Department of Ophthalmology, Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan, Shandong, China
- Department of Ophthalmology and Vision Science, Eye & ENT Hospital, Shanghai Medical College, Fudan University, Shanghai, China
- State Key Laboratory of Medical Neurobiology, Institutes of Brain Science, Fudan University

- State Key Laboratory of Ophthalmology, Zhongshan Ophthalmic Center, Sun Yat-sen University, Guangzhou, China, und dem

- Suraj Eye Institute, Nagpur, India

Die zusammen mit dem Mannheimer Lehrstuhl durchgeführte epidemiologische Forschung beruht auf den folgenden Studien:

- Beijing Eye Studie 2001, 2006, und 2011 (ca. 4.500 Studienteilnehmer im Jahr 2001, die zum Teil nach 5 und 10 Jahren nachuntersucht wurden) [24–26]
- Beijing Eye Public Health Study (560.000 Studienteilnehmer) [27]
- Beijing Pediatric Eye Study (681 Kinder) [20]
- Beijing Children Eye Study (16.771 Kinder) [28]
- Shandong Children Eye Study (6.000 Kinder)
- Central India Eye and Medical Study (4.700 Studienteilnehmer im ländlichen Teil Zentralindiens) [29, 30]; und der
- Global Burden of Disease Study [31–38]

Ergebnisse dieser verschiedenen epidemiologischen Studien sind:

- Die alterassoziierte Makuladegeneration (AMD) ist in Asien eher etwas seltener als in westlichen Ländern.
- Wesentlicher Risikofaktor für die AMD ist die Hyperopie (neben dem Alter), wobei Rauchen eine eher untergeordnete Rolle spielt.
- Retinale Venenverschlüsse haben eine Prävalenz von ca. 1% in der über 40-jährigen Bevölkerung und die Risikofaktoren arterielle Hypertonie (eventuell wegen des erhöhten Gehrindruckes) und Glaukom (möglicherweise

- wegen der Glaukom induzierten Verformung der Lamina cribrosa und damit eines erhöhten Ausflusswiderstandes).
- Katarakt und Kataraktoperation weisen keine eindeutige Beziehung zur Prävalenz und Inzidenz der AMD auf.
 - Augeninnendruck, arterieller Blutdruck und Gehirndruck sind positiv miteinander korreliert (das kann eventuell erklären, warum eine arterielle Hypertonie trotz erhöhtem Augeninnendruck nicht mit einer erhöhten Glaukomprävalenz verbunden ist, und warum erhöhter Blutdruck ein Risikofaktor für einen retinalen Venenverschluss ist).
 - Eine hohe Myopie ist ein wesentlicher Risikofaktor für eine glaukomatöse Optikusatrophie (vermutlich über die Myopie bedingte Dehnung und Verdünnung der Lamina cribrosa und die Dehnung der parapapillären Region einschließlich des peripapillären Skleralstegs).
 - 20% von Papillenblutungen finden sich in Gaukomaugen, und 6% von (meist unbehandelten) Glaukomaugen haben eine Papillenblutung.
 - Papillenblutungen sind mit hoher Wahrscheinlichkeit mit Glaukomprogression assoziiert.
 - Die subfoveale Aderhautdicke nimmt mit jeder Dioptrie von Myopie um 15 μm und um jedes Jahr $>$ Alte um 4 μm ab und beträgt beim 65-Jährigen ca. 250 μm .
 - Augen mit Retinopathie centralis serosa und Augen mit einer polypoiden choroidalen Neovaskularisation haben eine verdickte subfoveale Aderhaut mit choroidaler Gefäßdilatation (auch im kontralateralen Auge bei RCS).
 - Augen mit primärem Offenwinkelglaukom haben eher eine normal dicke Aderhaut makulär.
 - Die Papillengröße nimmt mit geringerer Entfernung zum Äquator zu.
 - Bei hochmyopen Augen kann die zentrale Aderhaut bis auf wenige Mikrometer verdünnt sein oder vollständig fehlen.
 - Hochmyope Augen können ein sekundäres Loch in der Bruch'schen Membran makulär haben mit sekundär fehlendem retinalen Pigmentepithelium und Choriocapillaris.
 - Hochmyopie makuläre sekundäre Bruch'sche Membrandefekte sind mit Zone Gamma, aber nicht mit Zone Beta, der parapapillären Region korreliert.
 - Bei Untersuchung mit spectral domain OCT (optische Kohärenztomographie) im Vergleich zur Untersuchung von Fundusphotographien steigt die Prävalenz von später AMD (exudative Form und geographische Atrophie) deutlich an.
 - Myopie ist protektiv gegen AMD und gegen diabetische Retinopathie.
 - Myopie gehört zu den drei häufigsten Gründen für Blindheit und für Gesichtsfeldausfälle.
 - Es besteht ein sehr ausgeprägter »myopic shift« in der Bevölkerung Chinas, mit einer Myopiehäufigkeit von mehr als 80% bei älteren Schulkindern und von 95% bei Universitätsstudenten davon 10–20% mit hoher Myopie).
 - Myopie wird eine der wichtigsten bisher nicht therapierbaren Ursachen für Visusminderung und Blindheit weltweit werden.
 - Global sind 32,4 Millionen Menschen (60% Frauen) blind und 191 Millionen haben einen Visus am besseren Auge von weniger als 0,33.
 - Die altersangepasste Prävalenz von Blindheit in Erwachsenen mit einem Alter von $>$ 50 Jahren betrug $>$ 4% in westlichen Sub-Sahara Afrika (6,0%), östlichen Sub-Sahara Afrika (5,7%), Süd-Afrika (4,4%), und Nord-Afrika / Mittlerer Osten (4,6%).
 - Industrieländern betrug die Blindheitsprävalenz \leq 0,6%.
 - Visusminderung (Visus $<$ 0,33 auf dem besseren Auge mit vorhandener Brillenkorrektor) war am höchsten in der Prävalenz in Süd-Asien (23,6%), Ozeanien (18,9%), östlichem und westlichem Sub-Sahara Afrika und Nord-Afrika / Mittlerer Osten (15,9%–16,8%); sie war $<$ 5% in den Industrieländern. Von 1990 bis 2010 reduzierte sich die Blindheitsprävalenz weltweit von 3,0% auf 1,9%, und die Häufigkeit einer Visusminderung unter 0,33 von 14,3% auf 10,4%.
 - Weltweit waren Frauen mehr als Männer von Blindheit betroffen.
 - Auf Grund der demographischen Alterung der Bevölkerung hat sich trotz der Abnahme der alterskorrigierten Blindheitsrate die absolute Anzahl blinder Menschen weltweit um 0,6 Millionen erhöht; die Anzahl von Menschen mit Sehinderung erhöhte sich um 19 Millionen.
 - Gründe für Blindheit im Jahr 1990 und 2010 waren Katarakt, unterkorrigierter Refraktions-

fehler, und Makulopathien ohne Änderung in der Reihenfolge in der Liste von 190 bis 2010.

- Von 1990 bis 2010 nahm die Anzahl der Katarakt-Blinden weltweit von 12,3 Millionen auf 10,8 Millionen ab, und die Anzahl von Menschen mit Katarakt bedingter Visusminderung verringerte sich von 44,0 Millionen auf 35,1 Millionen.
- Bezüglich Unterkorrektur von Refraktionsfehlern: Anstieg von 6,33 Millionen auf 6,77 Millionen Blinden und von 87,89 Millionen auf 101,04 Millionen bei Menschen mit Visusminderung (Visus <0,33).
- Glaukom: Anstieg von 1,40 Millionen auf 2,14 Millionen (Blindheit) und von 2,06 Millionen auf 3,63 Millionen bei Visusminderung.
- Diabetische Retinopathie: Von 0,67 Millionen auf 0,84 Millionen (Blindheit) und von 2,24 Millionen auf 3,63 Millionen (Visusminderung)

Diese epidemiologischen Studien sind Teil der eingangs skizzierten anderen Forschungsrichtungen, die sich gegenseitig ergänzen.

LITERATUR

1. Jonas J.B., Berenshtein E., Holbach L. Anatomic relationship between lamina cribrosa, intraocular space, and cerebrospinal fluid space. *Invest Ophthalmol Vis Sci*; 2003; 44: 5189–5195.
2. Jonas J.B., Berenshtein E., Holbach L. Lamina cribrosa thickness and spatial relationships between intraocular space and cerebrospinal fluid space in highly myopic eyes. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2004; 45: 2660–2665.
3. Ren R., Jonas J.B., Tian G., Zhen Y., Ma K., Li S., Wang H., Li B., Zhang X., Wang N. Cerebrospinal fluid pressure in glaucoma. A prospective study. *Ophthalmology* 2010; 117: 259–266.
4. Wang N., Xie X., Yang D., Xian J., Li Y., Ren R., Wang H., Zhang S., Kang Z., Peng X., Sang J., Zhang Z., Jonas J.B., Weinreb R.N. Orbital cerebrospinal fluid space in glaucoma. *Ophthalmology*. 2012 Oct; 119 (10): 2065–2073.e1. doi: 10.1016/j.ophtha.2012.03.054.
5. Jonas J.B., Jonas S.B., Jonas R.A., Holbach L., Dai Y., Sun X., Panda-Jonas S. Parapapillary atrophy: Histological gamma zone and delta zone. *PLoS One*. 2012; 7 (10): e47237. doi: 10.1371/journal.pone.0047237. Epub 2012 Oct 18.
6. Jonas J.B., Ohno-Matsui K., Spaide R.F., Holbach L., Panda-Jonas S. Macular Bruch's membrane holes in high myopia: Associated with gamma zone and delta zone of parapapillary region. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2013; 54 (2): 1295–30.
7. Dai Y., Jonas J.B., Huang H., Wang M., Sun X. Microstructure of parapapillary atrophy: Beta zone and gamma zone. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2013; 54 (3):2013-8. doi: 10.1167/iovs.12-11255.
8. Jonas J.B., Harder B. Ophthalmodynamometric estimation of cerebrospinal fluid pressure in pseudotumor cerebri. *Br J Ophthalmol*; 2003; 87: 361–362.
9. Jonas J.B., Harder B. Ophthalmodynamometric differences between ischemic versus non-ischemic retinal vein occlusion. *Am J Ophthalmol*; 2007; 143: 112–6.
10. Zhang R., Ma K., Xu L., Wallrapp C., Jonas J.B. Intraocular cell-based production of glucagon-like peptide-1 in the anterior chamber. *Acta Ophthalmol*. 2010; 88: e348–e349
11. Zhang R., Zhang H., Xu L., Ma K., Wallrapp C., Jonas J.B. Intravitreal cell-based production of glucagon-like peptide-1. *Retina*. 2011 Apr; 31 (4): 785–9. doi: 10.1097/IAE.0b013e3181f27509.
12. Zhang R., Zhang H., Xu L., Ma K., Wallrapp C., Jonas J.B. Neuroprotective effect of intravitreal cell-based glucagon-like peptide-1 production in the optic nerve crush model. *Acta Ophthalmol*. 2011 Jun; 89 (4): e320-6. doi: 10.1111/j.1755-3768.2010.02044.x. Epub 2011 Apr 6.
11. Jonas J.B., Witzens-Harig M., Arseniev L., Ho A.D. Intravitreal autologous bone-marrow-derived mononuclear cell transplantation. *Acta Ophthalmol*. 2010 Jun; 88 (4): e131-2.
12. Yang L.H., Jonas J.B., Wei W.B. Optical coherence tomographic enhanced depth imaging of polypoidal choroidal vasculopathy. *Retina*. 2013 Apr 11. [Epub ahead of print].
13. Yang L.H., Jonas J.B., Wei W.B. Optical coherence tomography-assisted enhanced depth imaging of central serous chorioretinopathy. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2013 Jun 4. doi: pii: iovs.12-10991v1. 10.1167/iovs.12-10991. [Epub ahead of print].
13. Jonas R.A., Yuan T.F., Cheung S.W.H., Liang Y.X., Jonas J.B., Tay D.K.C., Ellis-Behnke R.G. The spider effect: morphological and orientation classification of microglia in response to stimuli in vivo. *PLoS ONE* 2012; 7 (2): e30763. Epub 2012 Feb 21.
14. Jonas R.A., Yuan T.F., Cheung S.W.H., Liang Y.X., Jonas J.B., Tay D.K.C., Ellis-Behnke R.G. The spider effect: morphological and orientation classification of microglia in response to stimuli in vivo. *PLoS ONE* 2012; 7 (2): e30763. Epub 2012 Feb 21.
15. Ellis-Behnke R., Jonas R.A., Jonas R.A. The microglial system in the eye and brain in response to stimuli in vivo. *J Glaucoma* 2013 Jun–Jul; 22 Suppl 5: S32–5.
16. Xu L., Li Y., Wang S., Wang Y., Wang Y., Jonas J.B. Characteristics of highly myopic eyes. *The Beijing Eye Study. Ophthalmology*; 2007; 114: 121–126.
17. Xu L., Wang Y., Wang S., Wang Y., Jonas J.B. High myopia and glaucoma susceptibility. *The Beijing Eye Study. Ophthalmology* 2007; 114: 216–20.
18. Liu H.H., Xu L., Wang Y.X., Wang S., You Q.S., Jonas J.B. Prevalence and progression of myopic retinopathy in Chinese adults: The Beijing Eye Study. *Ophthalmology* 2010; 117 (9): 1763–8.
19. Jonas J.B., Jonas S.B., Jonas R.A., Holbach L., Panda-Jonas S. Histology of the parapapillary region in high myopia. *Am J Ophthalmol*. 2011; 152: 1021–1029.
20. You Q.S., Wu L.J., Duan J.L., Luo Y.X., Liu L.J., Li X., Gao Q., Wang W., Xu L., Jonas J.B., Guo X.H. Factors associated with myopia in school children in China. *The Beijing Childhood Eye Study. PLOS ONE* 2012 <http://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0052668>

20. Guo Y, Liu L.J., Xu L., Lv Y.Y., Tang P., Feng Y., Meng M., Jonas J.B. Outdoor activity and myopia among primary students in rural and urban regions in Beijing. *Ophthalmology* 2013; 120 (2): 277–83.
21. Guo Y, Liu L.J., Xu L., Lv Y.Y., Tang P., Feng Y., Meng M., Jonas J.B. Visual impairment and spectacle use in school children in rural and urban regions in Beijing. *Eur J Ophthalmol* 2013 zur Publikation angenommen.
22. You Q.S., Peng X.Y., Xu L., Chen C.X., Wang Y.X., Jonas J.B. Myopic maculopathy imaged by optical coherence tomography. The Beijing Eye Study. *Ophthalmology* 2013; In Print.
23. Verhoeven V.J., Hysi P.G., Wojciechowski R., et al. Genome-wide meta-analyses of multi-ancestry cohorts identify multiple new susceptibility loci for refractive error and myopia. *Nat Genet* 2013; 45 (3): 314–8.
24. Xu L., Wang Y., Li Y., Li J., Wang Y., Cui T., Li J., Jonas J.B. Causes of blindness and visual impairment in an urban and rural area in Beijing: the Beijing Eye Study. *Ophthalmology* 2006; 113: 1141.e1-3.
25. Zhou J.Q., Xu L., Wang S., Wang Y.X., You Q.S., Tu Y., Yang H., Jonas J.B. The 10-year incidence and risk factors of retinal vein occlusion: The Beijing Eye Study. *Ophthalmology*. 2013 2013 Apr; 120 (4): 803–8.
26. Viithana E.N., Khor C.C., Cornes B.K., Nongpiur M.E., Qiao C., Chen L.J., Cheng C.Y., Perera S.A., Xu L., Jia H., Ho C.L., Oen F.T., Tham C.C.Y., Chew P.T.K., Wong H.T., Tang G., Fan S., Meng H., Wang H., Feng B., Yong V.H.K., Ting S., Li Y., Wang Y.X., Tay W.T., Sim X., Lavanya R., Wu R.Y., Zheng Y.F., Loon S.C., Allingham R.R., Lam D.S.C., Wong TT, Chia KS, Hauser MA, Hibberd ML, Tan DT, Jonas J.B., Liu J., Tai E.S., Saw S.M., Pang C.P., Wong T.T., Wang N., Aung T. Genome-wide association study identifies ABCG5 as a susceptibility gene for primary angle closure glaucoma. *Nat Genet* 2012; 44 (10): 1142–6. doi: 10.1038/ng.2390.
27. Xu L., Jonas J.B., Cui T.T., You Q.S., Wang Y.X., Yang H., Li J.J., Wei W.B., Liang Q.F., Wang S., Yang X.H., Zhang L. The Beijing Eye Public Health Care Project. *Ophthalmology* 2012; 119 (6): 1167–74.
28. 666. You Q.S., Wu L.J., Duan J.L., Luo Y.X., Liu L.J., Li X., Gao Q., Wang W., Xu L., Jonas J.B., Guo X.H. Factors associated with myopia in school children in China. The Beijing Childhood Eye Study. *PLOS ONE* 2012 <http://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0052668>
29. Jonas J.B., Nangia V., Joshi P.P., Matin A., Panda-Jonas S. Diabetes mellitus in rural India. *Epidemiology*; 2010; 21 (5): 754–5.
30. Nangia V., Jonas J.B., Sinha A., Matin A., Kulkarni M., Panda-Jonas S. Ocular axial length and its associations in an adult population of Central Rural India. The Central India Eye and Medical Study. *Ophthalmology* 2010; 117 (7): 1360–6.
31. Danaei G.,* Finucane M.M.,* Lin J.K.,* et al. National, regional, and global trends in systolic blood pressure since 1980: Systematic analysis of health examination surveys and epidemiological studies with 786 country-years and 5.4 million participants. *Lancet* 2011; 377 (9765): 568–577.
32. Farzadfar F.,* Finucane M.M.,* Danaei G., et al. National, regional, and global trends in serum total cholesterol since 1980: systematic analysis of health examination surveys and epidemiological studies with 321 country-years and 3.0 million participants. *Lancet* 2011; 377 (9765): 578–586.
33. Finucane M.M.,* Stevens G.A.,* Cowan M.J., et al. National, regional, and global trends in body-mass index since 1980: systematic analysis of health examination surveys and epidemiological studies with 960 country-years and 9.1 million participants. *Lancet* 2011; 377 (9765): 557–567.
34. Danaei G.,* Finucane M.M.,* Lu Y., National, regional, and global trends in fasting plasma glucose and diabetes prevalence since 1980: systematic analysis of health examination surveys and epidemiological studies with 370 country-years and 2.7 million participants. *Lancet*. 2011; 378 (9785): 31–40.
35. Lim S.S., Vos T., Flaxman A.D., et al. A comparative risk assessment of burden of disease and injury attributable to 67 risk factors and risk factor clusters in 21 regions, 1990–2010: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2010. *Lancet*. 2012 Dec 15; 380 (9859): 2224–60. doi: 10.1016/S0140-6736(12)61766-8.
36. Murray C.J., Vos T., Lozano R., et al. Disability-adjusted life years (DALYs) for 291 diseases and injuries in 21 regions, 1990–2010: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2010. *Lancet*. 2012 Dec 15; 380 (9859): 2197–223. doi: 10.1016/S0140-6736(12)61689-4.
37. Vos T., Flaxman A.D., Naghavi M., et al. Years lived with disability (YLDs) for 1160 sequelae of 289 diseases and injuries 1990–2010: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2010. *Lancet*. 2012 Dec 15; 380 (9859): 2163–96. doi: 10.1016/S0140-6736(12)61729-2.
38. Salomon J.A., Vos T., Hogan D.R., et al. Common values in assessing health outcomes from disease and injury: disability weights measurement study for the Global Burden of Disease Study 2010. *Lancet*. 2012 Dec 15; 380 (9859): 2129–43. doi: 10.1016/S0140-6736(12)61680-8.

KONTAKT

Prof. Dr. Jost B. Jonas
 Universitäts-Augenklinik Mannheim
 Kutzer-Ufer 1
 68167 Mannheim
 Telefon: 0621 3836078
 E-Mail: Jost.Jonas@medma.uni-heidelberg.de



Angiogeneseforschung als Schlüssel zur Pathophysiologie vaskulärer Erkrankungen des Auges

PROF. DR. ANTONIA M. JOUSSEN^{1,2,3}, DR. ANNA-KARINA B. MAIER^{1,2,3},
DR. ALINE I. RIECHARDT^{1,2,3}, DR. CLAUDIA BROCKMANN^{1,2,3},
DR. FLORIAN HEUSSEN^{1,2,3}, DR. ARGYRIOS CHRONOPOULOS^{1,2,3},
DR. IRA SEIBEL^{1,2,3}, DR. SERGEJ SKOSIRSKY^{1,2,3}, DR. NORBERT KOCIOK^{1,2,3},
PROF. DR. OLAF STRAUSS^{1,2,3}

1 **Augenklinik Charité
Universitätsmedizin
Berlin**

2 **Virchowklinikum
(CVK)**

3 **Klinikum Steglitz
(CBF)**

In den letzten Jahren konnten große Fortschritte in der Therapie vaskulärer Erkrankungen erreicht werden. Mit der klinisch bereits breit angewendeten anti-VEGF Therapie stehen potente Medikamente bei derzeit vor allem retinalen, aber auch kornealen vaskulären Erkrankungen zu Verfügung. Die der Angiogenese zugrundeliegenden Mechanismen bei den verschiedensten vaskulären Erkrankungen sind hierbei jedoch hochkomplex und in vielen Details noch nicht verstanden. Trotz der bereits erreichten Fortschritte mit anti-VEGF Therapie und der Fülle an neuen Erkenntnissen über die Mechanismen der Angiogenese sind vaskuläre Erkrankungen des Auges eine der häufigsten Erblindungsursachen.

Die Arbeitsgruppe Angiogenese der Augenkliniken der Charité Universitätsmedizin Berlin befasst sich mit den Mechanismen vaskulärer Erkrankungen des Auges. Hierbei werden grundlagenwissenschaftliche Arbeiten durch klinische Studien ergänzt. Wir untersuchen die Mechanismen der diabetischen Retinopathie, der ROP, choroidaler sowie kornealer Neovaskularisationen. Ein besonderer Schwerpunkt liegt dabei auf der Untersuchung der inflammatorischen Komponente der vaskulären Veränderungen. Die wichtigsten Schritte der Vorarbeiten beinhalten:

- Langzeit-Hemmung einer endothelialen Schädigung in ICAM-1 und CD-18 defizienten Tieren [Joussem et al. FASEB 2004; 18: 1450–1452]
- Reduktion der Gefäßleckage durch Angiopoietin-1 in der diabetischen Netzhaut [Joussem et al. Am J Pathol 2002; 160: 1683–1693]
- VEGF reguliert ICAM-1 Expression und die frühe diabetische Leukostase [Joussem et al. Am J Pathol 2002; 160: 501–509]
- Beteiligung von Makrophagen bei cornealen Neovaskularisationen [Ambati et al. Cornea 2003; 22: 465–467; Ambati et al. Invest Ophthalmol Vis 2003; 44: 590–593]

- Modulation des retinalen Gefäßwachstums nach Sauerstoffbehandlung in ICAM-1 und TNF-Rezeptor defizienten Mäusen [Kociok et al. Invest Ophthalmol Vis Sci. 2006; 47 (11): 5057–65]

- Signaltransduktion in der Sauerstoff-induzierten Retinopathie [Kociok et al. Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol. 2007; 245 (2): 258–66; Maier et al. Curr Eye Res. 2007; 32 (9): 801–12].

INFLAMMATORISCHE VERÄNDERUNGEN BEI DER DIABETISCHEN RETINOPATHIE

Verschiedene Untersuchungen, bei denen diese inflammatorische Komponente entweder durch Hemmung von Adhäsionsmolekülen oder durch Behandlung mit nicht-steroidalen Antiphlogistika gehemmt wurde, zeigen eine zentrale Rolle von Leukozyten bei pathologischen Neovaskularisationen [Joussem et al. 2002, 2003b, 2004].

Diese Vorarbeiten hatten gezeigt, dass die diabetische Gefäßleckage, die Nicht-Perfusion der Kapillaren und der Endothelzellschaden zeitlich und räumlich mit einer Leukostase, also einer Leukozytenadhäsion an retinale Gefäße assoziiert sind. Die Leukostase nimmt mit der Diabetesdauer zu und korreliert mit einer erhöhten Expression des Adhäsionsmoleküls Intercellular adhesion molecule 1 (ICAM-1) und seinem Pendant CD18.

Konfirmatorisch haben wir dann in einem Langzeit-Mausmodell analysiert, ob genetische Inhibition der Leukozyten-Endothel-Interaktion die Ausprägung der diabetischen Retinopathie verhindern kann. Wir haben dazu CD18 defiziente und ICAM-1 defiziente Mäuse in zwei verschiedenen Modellen der diabetischen Retinopathie (DR) untersucht und zeigen können, dass diese Tiere nach 11 und 15 Monaten Diabetesdauer signifikant weniger adhären Leukozyten in den retinalen Gefäßen aufweisen. Dies ist mit weniger Endothelzellschaden und weniger azellulären Kapil-

laren im Vergleich zu diabetischen Kontrolltieren verbunden. Basalmembranverdickungen finden sich in galaktosämischen Tieren unabhängig vom genetischen Stamm. Wir können also zeigen, dass ICAM-1 und CD18 defiziente Tiere im Langzeitexperiment weniger diabetische Schäden aufwiesen, dass also eine subklinische Entzündung für die wesentlichen diabetischen Veränderungen verantwortlich ist. Damit ist die kausale Rolle von Leukozyten in der diabetischen Retinopathie nachgewiesen und die Forderung nach einer anti-inflammatorischen Therapie kann untermauert werden [Joussen et al. 2004].

Untersuchungen belegen, dass die diabetische Gefäßschädigung, die aus der diabetischen Leukostase resultiert, durch eine Fas-FasL vermittelte Apoptose mediiert wird. Nach Induktion einer diabetischen Stoffwechsellage durch Streptozotizin (STZ) nimmt die FasL Expression auf neutrophilen Granulozyten der Ratte zu und ist von einer erhöhten Fas Expression der retinalen Kapillaren begleitet. Wir haben statische Adhäsionsassays durchgeführt, die neutrophile Granulozyten diabetischer Tiere mit Endothelzellen inkubiert haben. Hierbei wurde eine Apoptose endothelialer Zellen nur durch Granulozyten diabetischer Tiere, nicht aber von Kontrolltieren induziert. Dieser Vorgang konnte durch eine Antikörperbasierte FasL Blockade reduziert werden.

Anschließende *in vivo* Experimente konnten zeigen, dass eine Inhibition von FasL die Gefäßleckage, die retinale Apoptose und den Endothelzellschaden verhindern kann. Interessanterweise verhinderte die Inhibition von FasL jedoch nicht die diabetische Leukostase. Diese Daten identifizierten einen Fas-FasL mediierten Mechanismus als Ursache für die diabetische Schrankenstörung und eröffneten potentielle neue Therapiemöglichkeiten [Joussen et al. 2003].

Weitere Studien haben den Einfluss des inflammatorischen Zytokins TNF α auf die pathophysiologischen Veränderungen bei der diabetischen Retinopathie untersucht. Hierbei wurden in Kurzzeituntersuchungen Ratten verwendet, bei denen die diabetische Stoffwechsellage mittels STZ induziert wurde. In diesem Modell wurde die endotheliale Schädigung, retinale Apoptose (TUNEL Assay und Cytodeath staining, sowie DNA fragmentation ELISA, Caspase 3 und Caspase 8 Aktivität) untersucht. Etanercept konnte hierbei die Caspase Aktivität unterdrücken, sowie die retinale Endothelzellschädigung und Apoptose. Für die Langzeituntersuchungen haben wir TNF-R1 und TNF-RII defiziente Mäuse verwendet, die wie in den zuvor beschriebenen Langzeituntersuchungen mit ICAM-1 und CD-18 Knock-out Mäusen mittels 30% Galaktose für bis zu 20 Monate galaktosämisch gemacht wurden. Die Netzhäute dieser Tiere wurden mittels Trypsin-Digest

Andaupräparation auf histologische Gefäßveränderungen hin untersucht. In den Langzeitdiabetischen Tieren war der Endothelzell- und Perizytenverlust in den TNF-Rezeptor defizienten Tieren vermindert.

Diese Studie identifizierte das inflammatorische Zytokin TNF-alpha als eine der Schlüsselfaktoren bei der diabetischen Retinopathie. TNF-Inhibitoren, wie Etanercept könnten dabei sowohl frühe als auch späte diabetische Veränderungen verhindern [Joussen et al. 2010].

ETABLIERUNG EINES MODELLS ZUR UNTERSUCHUNG DES SCHICKSALS INFLAMMATORISCHER ZELLEN IN DER NETZHAUT – MODELL DER STRAHLENRETINOPATHIE

Das Verständnis über den Effekt von Leukozyten in der Entstehung der Gefäßpathologie ist nach wie vor unvollständig. Im Mausmodell wurde ein *in vivo* Zell-tracking von transplantierten Knochenmarkszellen etabliert [Müther et al.], welches erlaubt, das Zusammenspiel von Knochenmarkszellen und axonalen und glialen Strukturen bei der Vaskularisation der Netzhaut zu untersuchen.

Die Konstruktion chimärer GFP⁺-Mäuse ist ein wichtiges Werkzeug in der Stammzellforschung geworden und erlaubt eine Untersuchung des Homings von Knochenmarkszellen bei okulären Pathologien. Zur Generation der Chimären wird eine Ganzkörperbestrahlung zur Knochenmarksdepletion verwendet, um dieses anschließend mit den GFP-exprimierenden Zellen zu resubstituieren. Wir haben dieses Verfahren verwendet und die Absiedlung von Knochenmarkszellen im Netzhautgewebe im Zeitverlauf nach der Transplantation untersucht. Hierbei haben wir insbesondere Langzeituntersuchungen durchgeführt, um zum Beispiel Untersuchungen im Rahmen der diabetischen Retinopathie durchführen zu können. Hierzu wurden C57/Bl6 Mäuse mit einer Niedrigvolt Bestrahlungseinheit behandelt und anschließend 1,5 Millionen Knochenmarkszellen (whole bone marrow) aus GFP Mäusen (β -Actin Promotor). Die GFP-Transformationsraten wurden mittels FACS Analyse untersucht. Die Mäuse wurden 1 bis 10 Monate nach der Bestrahlung untersucht. Zur Lokalisation und Quantifizierung der Knochenmarkszellen in der Netzhaut und deren räumlicher Lokalisation zu den retinalen Gefäßen, haben wir eine transkardiale Perfusion mit Rhodamine-gekoppeltem Concanavalin A lectin durchgeführt. Extravasale Zellen wurden mittels einer Bildgebungssoftware quantifiziert. Zur Untersuchung ob die in der Netzhaut befindlichen Zellen Makrophagen Eigenschaften haben, wurden Doppelfärbungen mit F4/80 sowie mit CD11b (Marker für Dendritische Zellen) durchgeführt. Die FACS

RETINALE NEOVASKULARISATION UND ISCHÄMIE – ROP MODELL

Ischämie ist ein Hauptstimulator für die Entstehung von Neovaskularisationen bei unterschiedlichen vaskulären Netzhauterkrankungen. Der Auslöser sind zur Hypoxie führende Barrierestörungen, Endothelzellschäden und RPE Atrophie, sowie Entzündungsmediatoren.

Die Netzhaut ist durch ihre gute Zugänglichkeit ein ideales Gewebe zur Untersuchung mikrovaskulärer Veränderungen. Die Untersuchung genereller pathologischer Mechanismen im Kapillarbett der Netzhaut erlaubt dabei Rückschlüsse auf Vorgänge im gesamten kardiovaskulären Gebiet.

Es gibt bis heute kein Modell einer proliferativen Retinopathie im Nager. Daher können aktive Neovaskularisationen nur bei Hypoxie-induzierten Neovaskularisationen untersucht werden. Wir haben ein von Smith et al. beschriebenes Modell der Sauerstoffinduzierten Retinopathie etabliert (Oxygen-induced retinopathy, OIR) [Smith L. E. 1994, IOVS].

Mit Hilfe des ROP Modells lässt sich auch die Rolle der Entzündung in der sauerstoff-induzierten Retinopathie untersuchen. Aus den Vorarbeiten der Arbeitsgruppe Jousen (siehe Referenzliste) und Adami wird deutlich, dass die Leukostase in den retinalen Gefäßen mit einer erhöhten retinalen Gefäßleckage einhergeht und Makrophagen und Monozyten der proliferativen Zone von Gefäßen im Sauerstoffmodell vorauswandern [Ishida 2003a, b]. Makrophagen und neutrophilen Granulozyten kommen dabei eine primäre Rolle in der Regulation der VEGF Expression von Endothelzellen zu [Jousen et al. 2001, Jousen et al. 2002, Ishida et al. 2003]. In weiteren Untersuchungen

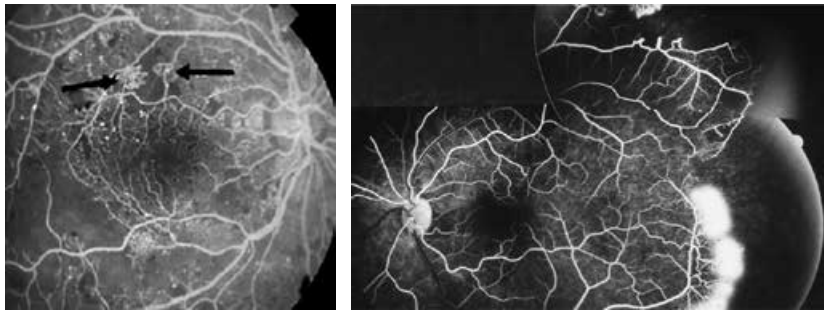


Abbildung 1

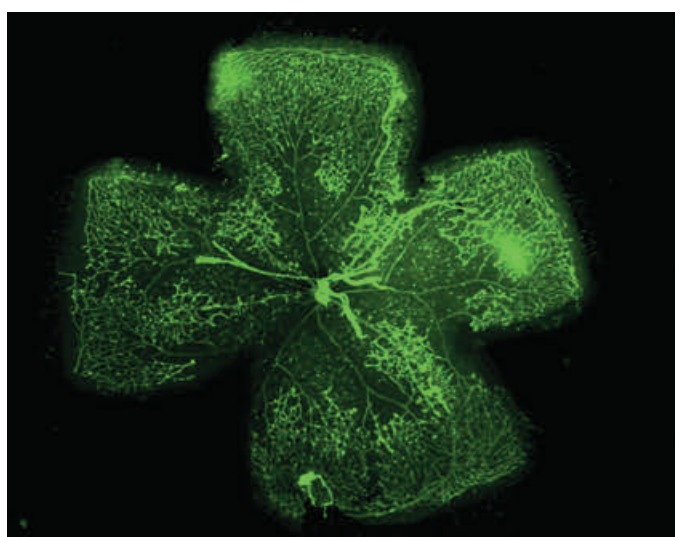
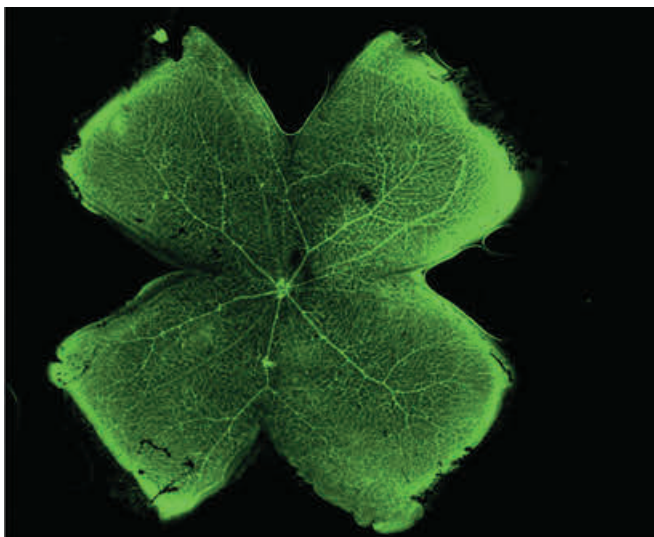
■ *Angiographische Darstellung der retinalen Ischämie bei diabetischer Retinopathie (links) und Sichelzellanämie (rechts). In den Randzonen der ischämischen Areale beginnen neue Blutgefäße zu wachsen.*

Analyse zeigte eine durchschnittliche Transformationsrate von 81,2%. Bereits 4 Wochen nach Transplantation fanden sich GFP positive Zellen im retinalen Gewebe, deren Anzahl im weiteren Verlauf deutlich zunahm. Die Zellen hatten ein dendritiformes Aussehen und fanden sich vorwiegend in der peripheren Netzhaut. Interessanterweise waren in Mäusen, bei denen während der Bestrahlung der Kopfbereich abgedeckt wurde, weniger Zellen im retinalen Gewebe zu finden, wobei die Rate der residentiellen und eingewanderten F4/80 und CD11b positiven Zellen in beiden Gruppen gleich groß war. Es ist aus diesen Untersuchungen anzunehmen, dass sich durch die Ganzkörperbestrahlung eine Art Strahlenretinopathie entwickelt, die zu einer lokalen endothelialen Entzündung führt. Damit ist dieses Modell insbesondere für Langzeituntersuchungen ohne eine Abdeckung des Kopfbereiches nicht verwendbar [Müther et al. 2010].

Derzeit werden weitere Untersuchungen durchgeführt, bei denen eine selektive Transplantation von Zellen durchgeführt wird.

Abbildung 2

■ *Retinales Flachpräparat einer Maus im Alter von 14 Tagen mit normal entwickelten Gefäßen (links) und mit zentraler avaskulärer Zone nach bei Sauerstoff-induzierter Retinopathie (rechts).*



haben wir den Effekt von TNF-Rezeptor -P55 und -P75 in der Entwicklung der retinalen NetzhaufgefäÙe untersucht. TNF R55 -/- und TNF R75 -/- MäÙe wie auch die entsprechenden Wildtypkontrollen wurden vom postnatalen Tag P7 bis P12 einer Sauerstoffkonzentration von 75% ausgesetzt. Die retinalen Neovaskularisationen (neovascular tufts) können in Flachpräparaten mit Concanavalin-A Färbung der Endothelzellen untersucht werden. Die retinale Expression von VEGF, Angiopoietin-1 und -2 und PDGF wurde am Tag 14 und 20 untersucht. Bei den TNFR-p55 und TNFR-p75 defizienten MäÙen zeigte sich in der retinalen Entwicklung ohne zusätzliche Sauerstoffbeatmung kein Unterschied zu den Wildtypkontrollen. Die vaskularisierten Bereiche blieben während der Beobachtungszeit stabil, während die Genexpression von VEGF, Angiopoietin (Ang1 und 2) und PDGF sich änderte. Im Vergleich zur Wildtypkontrolle änderte sich die relative Expression von VEGF, ang-1, ang-2, und PDGFb um 5.14-, 1.7-, 0.39-, und 0.36-fach in Rp55(-/-) MäÙen und entsprechend um 4.1-, 9.5 x 10(-5)-, 0.12-, und 2975-fach in Rp75(-/-) MäÙen. Die Behandlung mit Sauerstoff resultierte in einer signifikant reduzierten Neovaskularisation bei Rp55(-/-) aber nicht bei Rp75(-/-) MäÙen am postnatalen Tag (P)20.

Diese Daten unterstreichen die Wirksamkeit von TNF-inhibitorischen Therapiemöglichkeiten als Modulatoren der sauerstoffinduzierten Retinopathie und letztlich auch anderer proliferativer Retinopathien [Kociok et al. 2006]. Weitere Untersuchungen haben die Modulation von Hypoxie-induzierten Neovaskularisationen durch einen Integrin-Inhibitor analysiert [Maier et al. 2007].

Aktuell untersuchen wir verschiedene pathophysiologische Kaskade-Wege, unter anderem den Einfluss von Inhibitoren der Rho-Kinase (ROCK) auf die retinale Angiogenese. Rho-Kinasen spielen eine wichtige Rolle bei der Zellmigration und -proliferation, beeinflussen die entzündliche Zelladhäsion und ihre Inhibierung zeigte bereits bei Hypoxie-Modellen im zentralen Nervensystem eine protektive Wirkung [Ding J. 2010, J Neurochem; Ding J. 2010, Mol Cell Neurosci]. Unsere Ergebnisse werden zeigen, ob die ROCK-Hemmung auch im Modell der Frühgeborenenretinopathie von Vorteil ist.

INTERAKTION VON NEURONALEN STRUKTUREN MIT DER AUSBILDUNG DES VASKULÄREN PLEXUS

Durch inflammatorische, gefäÙregulierende systemische und neuronal-degenerative Prozesse entsteht eine Interaktion, an deren Endstrecke die Neovaskularisation und Neurodegeneration Hand in Hand gehen.

In der Netzhaut besteht eine enge Verbindung zwischen retinalen GefäÙen und neuronalen Strukturen. Das Kapillarnetzwerk besteht dabei aus superfiziellen und tiefen Anteilen, wobei die superfiziellen Anteile in unmittelbarer Nähe zu den retinalen Ganglienzellen liegen. Die tiefen Anteile sind im Bereich der signalverarbeitenden Zellen und Müllerzellen zu finden. Während des Auswachsens retinaler GefäÙe ist eine enge Assoziation zu retinalen Astrozyten zu beobachten. Retinale Astrozyten wachsen dabei im Bereich des Sehnervenkopfes aus und bilden eine Leitschiene für das Wachstum retinaler GefäÙe.

Ein Schlüssel zum Verständnis der neuro-vaskulären Interaktion könnten die sogenannten axonalen Wegfindungsmoleküle sein.

Neuere Studien haben gezeigt, dass axonale Wegfindungsproteine neben der Etablierung des Nervensystems eine wichtige Rolle bei der normalen und pathologischen Angiogenese spielen [Übersichtsartikel: Eichmann et al. 2005]. Bei beiden Prozessen (Neoangiogenese und z.B. die Ausbildung glialer Netzwerke oder beim Wachstum von Axonen) werden gerichtete Netzwerke ausgebildet. Die Routen dieser Netzwerke verlaufen häufig parallel im peripheren Gewebe. Die entsprechenden Zellen, die diese Strukturen ausbilden, werden durch das Ausbilden eines Proteingradienten geleitet. In MäÙen, bei denen entsprechende Gene (z.B.: Neuropilin 1 oder Ephrins) entfernt worden sind, konnten Veränderungen im Nervensystem sowie in der Ausbildung des GefäÙnetzwerkes nachgewiesen werden. In einem weiteren Beispiel konnte gezeigt werden, dass Slit in Zusammenspiel mit seinem Rezeptor Robo wichtig für die axonale Wegfindung sowie für die Kontrolle von axonalen Verzweigungen ist. Die entsprechenden Moleküle spielen auch eine Rolle bei der pathologischen Neoangiogenese, wobei Slit zu einer erhöhten Vaskularisierung in Tumoren führt. Im Gegensatz dazu konnte erst kürzlich gezeigt werden, dass Slit-2 die Hypoxie-induzierte retinale Neovaskularisation unterbinden kann [Jones et al. 2008]. Als weiteres Beispiel konnte bei Proteinen, die zur Familie der Ephrins/Eph gehören, dargestellt werden, dass diese Proteine wichtig in der vaskulären Morphogenese und der Etablierung des Nervensystems sind [Übersichtsartikel: Eichmann et al. 2005].

Im Auge ist die Beteiligung von Netrin-4 bei der Hypoxie bedingten Angiogenese wahrscheinlich (Wilson et al. 2006), jedoch ist ein detailliertes Wissen über die molekularen Vorgänge bislang nicht verfügbar. Aktuelle Untersuchungen befassen sich mit der Rolle von Netrin-4 in der Hypoxie-induzierten Neovaskularisation.

INFLAMMATORISCHER MECHANISMEN IN DER PATHOGENESE CHORIOIDALER NEOVASKULARISATIONEN

Wir haben in verschiedenen Vorarbeiten die Rolle von Entzündungsmediatoren [Semkova et al. 2011] und Entzündungszellen an der Entstehung chorioidaler Neovaskularisationen untersucht. Makrophagen sind durch ihren regulierenden Einfluss auf die VEGF-Expression auch entscheidend an der Entwicklung chorioidaler Neovaskularisationen beteiligt [Joussen A.M. 2001, IOVS; Joussen A.M. 2002, AM J Pathol; Ishida S. 2003 IOVS]. Die generalisierte Ausschaltung von Makrophagen führte in den Studien unterschiedlicher Arbeitsgruppen gleichermaßen zur Reduktion der CNV-Fläche [Espinosa-Heidmann D.G. 2003, IOVS; Sakurai E. 2003, IOVS]. Eine konditionelle und selektive Ausschaltung von Zellen mit bestimmten Oberflächenmarkern von Makrophagen ist mithilfe eines transgenen Mausmodells möglich [Heppner F.L. 2005, Nat Med]. An diesem Mausmodell untersuchen wir aktuell, ob die intraokuläre Suppression dieser Zellen die CNV-Entwicklung nach Laserinduktion beeinflussen kann.

Ein weiteres Projekt untersucht im CNV-Modell die Auswirkung der direkten Hemmung von Komplementfaktoren auf die chorioidale Neovaskularisation. Das Komplementsystem ist maßgeblich in die Pathogenese neovaskulärer Netzhauterkrankungen involviert [Penfold P.L. 1997, IOVS; Umeda S. 2005, FASEB; Sivaprasad S. 2006, Eye (London)]. Im Mausmodell ließ sich die pathologische Neovaskularisation mittels spezifischer Inhibierung eines Komplementfaktors signifikant reduzieren [Brockmann et al. submitted]. Unsere Ergebnisse unterstreichen damit einen potentiellen Therapieansatz in der Behandlung retinaler Gefäßerkrankungen neben der anti-VEGF Therapie (Brockmann et al. submitted for publication).

ENTZÜNDUNGSMCHANISMEN IN DER CORNEALEN ANGIOGENESE

Die Hornhaut ist normalerweise eines der wenigen Gewebe des menschlichen Körpers, das frei von Blut- und Lymphgefäßen ist. Sie erhält sich diese Avaskularität gegenüber einer Vielzahl von exoge-

nen inflammatorischen und angiogenen Stimuli. Die Hornhaut besitzt zahlreiche endogene Mechanismen zur Unterdrückung der Angiogenese und Lymphangiogenese. Bei einer Reihe von Schädigungen, wie zum Beispiel nach einer Laugenverätzung kann es jedoch zu einem pathologischen Einwachsen von Blutgefäßen auf die Hornhaut kommen. Hierbei sind die Ursachen und Steuerungsmechanismen der Hornhautgefäße bislang nur unzureichend verstanden. In unserem Labor werden das Mausmodell der Naht-induzierten, inflammatorischen cornealen Neovaskularisation und Lymphangiogenese [Currie et al., 2006, Cornea] und das Modell der durch Limbusinsuffizienz bedingten Gefäße [Kruse 1990, Moromizato 2000] für verschiedenste Untersuchungen verwendet. Unsere publizierten Ergebnisse zeigen verschiedene Aspekte der Hemmung cornealer Neovaskularisationen durch Interaktion mit Wachstumsfaktoren oder deren Signalkaskaden [Müther et al. 2007, Dell et al. 2006, Poulaki et al. 2004, Joussen 2001].

Die Untersuchungen zu Inflammatorischen Mechanismen [Ambati 2003a, b, Joussen 2003] haben wir uns insbesondere mit der Regulation von VEGF in der Hornhaut befasst [Joussen et al. 2003, Stechschulte et al. 2001].

Ziel der aktuellen Projekte sind weitere Untersuchungen der molekularen Mechanismen der Gefäßfreiheit der gesunden Hornhaut sowie der molekularen Mechanismen der Einsprossung von Blut- und Lymphgefäßen in die Hornhaut.

KOMPLEMENTÄRE KLINISCHE STUDIEN

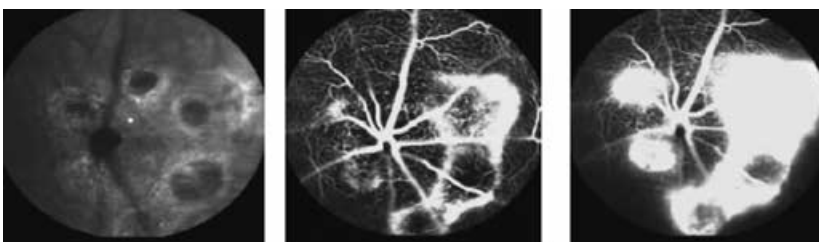
Komplementäre klinische Studien ergänzen die grundlagenwissenschaftlichen Arbeiten. Aktuell werden Studien zur diabetischen Retinopathie sowie zur Strahlenretinopathie durchgeführt.

Seit Januar 2011 ist die anti-VEGF Therapie zur Behandlung des DME zugelassen. Verschiedenste Studien konnten die Effektivität der intravitrealen Injektion mit einer alleinigen anti-VEGF-Therapie oder in Kombination mit dem Laser zeigen, wobei sich eine Überlegenheit der anti-VEGF Therapie gegenüber der Lasertherapie darstellt. Die Zulassung der anti-VEGF Therapie ermöglicht eine Behandlung des diabetischen Makulaödems ohne Destruktion. Gleichzeitig stellen sich aber noch eine Vielzahl offener Fragen, z. B. die Effektivität bzgl. der dauerhaften Konsolidierung oder die Frage nach der Anzahl erforderlicher Injektionen über langfristige Zeiträume.

Auch Steroide können das Makulaödem signifikant verringern. Vergleichsstudien zeigen eine ähnliche Wirksamkeit in den ersten 6 Therapiemonaten, jedoch führt die Steroidgabe zu einer

Abbildung 3

■ Laser-induzierte chorioidale Neovaskularisation bei adulten Mäusen. Links die rotfreie Fundusaufnahme, mittig die frühe und rechts die späte Perfusionsphase mit deutlichen Leckagen im und um den Bereich der Laserspots.



progredienten Kataraktbildung und zum Steroidglaukom. Weitere Studien müssen folgen, um diese Ergebnisse zu bestätigen und die Langzeitprognose abzuschätzen.

Ziel künftiger Studien muss darüber hinaus auch die Untersuchung der Wirksamkeit in Untergruppen, wie bei Patienten mit ischämischen DME, sein. Ebenso müssen Therapiekonzepte im Zusammenhang mit einer optimierten Blutzucker- und Blutdruckeinstellung erstellt werden.

Die diabetische Retinopathie ist somit grundsätzlich behandelbar. Verschiedene Studien zeigen, dass, wenn durch Screening-Maßnahmen die Retinopathie rechtzeitig und in einem frühen Stadium erkannt wird, mit den heute verfügbaren Therapieoptionen über 90% der Erblindungen durch adäquate Therapie verhindert werden können. Obwohl also effektive Therapieverfahren mittlerweile zur Verfügung stehen, besteht ein ganz wesentliches Problem in der hinreichenden Identifizierung von Patienten mit Diabetes bzw. schon vorliegenden Komplikationen. Im Ausland sind aus diesem Grund bereits umfangreiche Screening-Programme etabliert worden. Insbesondere in England wurden entsprechende Programme bereits erfolgreich umgesetzt. Hierbei gibt es durch das nationale Screening-Komitee sowie NICE herausgegebene Richt- und Leitlinien wie ein effektives Screening durchgeführt werden sollte.

In der Region Berlin sind ca. 300.000 Menschen an Diabetes mellitus erkrankt. Die Charité hat an vier Standorten bereits Diabetesambulanzen etabliert. An diesen Zentren können sowohl erwachsene wie auch pädiatrische Patienten mit Diabetes mellitus einbezogen werden. Zunächst soll ein Langzeitscreening von allen diabetologisch betreuten Patienten an der Charité erfolgen. Hierzu wurde eine online Plattform entwickelt, die eine standardisierte Aufnahme von Patientendaten und Bildern ermöglicht. Hierbei ermöglicht die Verwendung hochauflösender OCT Bilder eine nicht-invasive Gefäßdiagnostik und Rekonstruktion des Kapillarbettes.

Die Korrelation zwischen Blutzuckereinstellung und Progression der diabetischen Retinopathie ist bisher ausreichend belegt worden [Klein et al. 1988]. Die strikte Blutzuckereinstellung bzw. die intensivierete konventionelle Insulintherapie und die panretinale Laserkoagulation stellen zwei Möglichkeiten dar, mit denen der Progress der DR aufgehalten bzw. verzögert werden kann. Limitiert wird die strikte Blutzuckereinstellung durch die Gefahr von lebensbedrohlichen Hypoglykämien. Ein erstes Projekt untersucht die Korrelation zwischen diabetologischer Einstellung und Ausprägung der Retinopathie. Die Rekrutierung beginnt im Herbst 2013.

Eine weitere Studie befasst sich mit Patienten nach Pankreas-Nierentransplantation. Mithilfe der kombinierten Pankreas-Nierentransplantation kann eine stabile normoglykämische Lage und Normalisierung des HbA_{1c} unter gleichzeitig exogener Insulinfreiheit erreicht werden [Bilous et al. 1989]. Seit der ersten Studie zur Diabetischen Retinopathie nach Nieren-Pankreastransplantation [Ramsay et al. 1988] ergaben die bisher durchgeführten Studien kontroverse Ergebnisse, was den Verlauf der DR anbelangt. Die neuen Verfahren zur ophthalmologischen Bildgebung wie die OCT (Optische Kohärenztomographie) ermöglichen eine genauere Beurteilung und Dokumentation diabetischer Netzhautveränderungen. Dadurch können neue Erkenntnisse hinsichtlich des Progresses der DR nach Transplantation gewonnen werden.

Der klinische Schwerpunkt des Campus Benjamin Franklin liegt im Bereich der Diagnostik und Therapie okulärer Tumore, insbesondere von Aderhautmelanomen. Neben der konventionellen Brachytherapie bietet die Charité in Kooperation mit dem Helmholtz-Institut als einziger Standort in Deutschland die Möglichkeit einer Protonentherapie. Während Dank der hohen lokalen Tumorkontrollrate nach Radiatio kaum noch Enukleationen infolge von Rezidiven notwendig sind, spielen strahlungsbedingte Komplikationen, insbesondere die Strahlenretinopathie und das rubeotische Sekundärglaukom, weiterhin eine nicht zu vernachlässigende Rolle [Summanen et al., 1996]. Die Strahlenretinopathie tritt mit einer Latenz von durchschnittlich drei Jahren auf [Bianciotti, 2010]. Unterschieden werden hierbei die nicht-proliferativen von den proliferativen Formen, sowie die radiogene Makulopathie. Durch die ionisierende Strahlung kommt es zu einer Kombination aus vaskulären wie auch neuronalen Schädigungen [Archer et al, 1991]. Betroffen sind insbesondere die vaskulären Endothelzellen. Es kommt zu Gefäßokklusionen und der Insuffizienz der Blut-Retina Schranke. Die Hypoxie der Neuroretina führt, insbesondere durch die Kumulation von Wachstumsfaktoren (v.a. VEGF), zur Ausbildung von Neovaskularisationen. Für die nicht-proliferative Form der Strahlenretinopathie stehen derzeit keine Therapieoptionen zur Verfügung. Analog zu der Therapie anderer proliferativer Retinopathien besteht der Behandlungsansatz der proliferativen Strahlenretinopathie meist in einer Laserkoagulation der avaskulären Areale [Finger, Kurli 2005]. Darüber hinaus konnte in unkontrollierten Studien und Fallserien ein positiver Effekt für die intravitreale Injektion von Steroiden [Shields et al., 2005] und anti-VEGF-Biologika [Finger, Chin 2010] gezeigt werden. Kontrollierte Studien und Langzeitergebnisse stehen noch aus, befinden sich aber derzeit an unserem Standort in der Initialisierungsphase: In der Radiret Studie soll der kurz- und mittelfristige

Erfolg der peripheren Laserkoagulation im Vergleich zur Behandlung mit intravitrealen Injektionen von Ranibizumab bei Patienten mit proliferativer Strahlenretinopathie und Makulaödem bei Z.n. Behandlung mit Protonentherapie oder Brachytherapie bei Aderhautmelanomen getestet werden.

ZUSAMMENFASSUNG

Zusammengenommen ist es das Ziel unserer Forschungsgruppe Angiogenese die Pathomechanismen vaskulärer ophthalmologischer Erkrankungen detaillierter aufzuklären und damit das therapeutische Spektrum in der Behandlung von cornealen und retinalen Gefäßerkrankungen zu ergänzen und zu erweitern.

LITERATUR

- Archer D.B., Amoaku W.M.K., Gardiner T.A. Radiation retinopathy – clinical histopathological, ultrastructural and experimental correlations. *Eye*. 1991; 5: 239–51.
- Bianciotto C., Shields C.L., Pirondini C. et al. Proliferative Radiation Retinopathy after Plaque Radiotherapy for Uveal Melanoma. *Ophthalmology*. 2010; 117: 1005–1012.
- Bucher F., Parthasarathy A., Bergua A., Onderka J., Regenfuß B., Cursiefen C., Bock F. Topical Ranibizumab inhibits inflammatory corneal hem- and lymphangiogenesis. *Acta Ophthalmol*. 2012 Sep 20. doi: 10.1111/j.1755-3768.2012.02525.x.
- Ding J., Li Q.Y., Wang X., Sun C.H., Lu C.Z., Xiao B.G. Fasudil protects hippocampal neurons against hypoxia-reoxygenation injury by suppressing microglial inflammatory responses in mice. *J Neurochem* 2010; 114: 1619–1629.
- Ding J., Li Q.Y., Yu J.Z., et al. Fasudil, a Rho kinase inhibitor, drives mobilization of adult neural stem cells after hypoxia/reoxygenation injury in mice. *Mol Cell Neurosci* 2010; 43: 201–208.
- Espinosa-Heidmann D.G., Suner I.J., Hernandez E.P., Monroy D., Csaky K.G., Cousins S.W. Macrophage depletion diminishes lesion size and severity in experimental choroidal neovascularization. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2003; 44: 3586–3592.
- Finger P.T., Chin K.J. Intravitreal Ranibizumab (Lucentis) for Radiation Maculopathy *Arch Ophthalmol*. 2010; 128: 249–252.
- Finger P.T., Kurli M. Laser photocoagulation for radiation retinopathy after ophthalmic plaque radiation therapy. *Br J Ophthalmol*. 2005; 89: 730–738.
- Ishida S., Usui T., Yamashiro K., Kaji Y., Ahmed E., Carrasquillo K.G., Amano S., Hida T., Oguchi T., Adamis A.P. VEGF164 is proinflammatory in the diabetic retina. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2003; 44: 2155–2162.
- Kruse F.E., Chen J.J., Tsai R.J., Tseng S.C. Conjunctival transdifferentiation is due to the incomplete removal of limbal basal epithelium. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1990; 31: 1903–1913.
- Larrieu-Lahargue F., Welm A.L., Thomas K.R., Li D.Y. Ne-trin-4 induces lymphangiogenesis in vivo. *Blood*. 2010; 115 (26): 5418–26.
- Moromizato Y., Stechschulte S., Miyamoto K., Murata T. CD18 and ICAM-1 dependent corneal neovascularization and inflammation after limbal injury. *Am J Pathol* 2000; 157: 1277–1281.
- Penfold P.L., Liew S.C., Madigan M.C., Provis J.M. Modulation of major histocompatibility complex class II expression in retinas with age-related macular degeneration. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1997; 38: 2125–2133.
- Sakurai E., Anand A., Ambati B.K., van Rooijen N., Ambati J. Macrophage depletion inhibits experimental choroidal neovascularization. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2003; 44: 3578–3585.
- Sakurai E., Taguchi H., Anand A., Ambati B.K., Gragoudas E.S., Miller J.W., Adamis A.P., Ambati J. Targeted disruption of the CD18 or ICAM-1 gene inhibits choroidal neovascularization. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2003; 44: 2743–2749.
- Semkova I., Peters S., Welsandt G., Janicki H., Jordan J., Schraermeyer U. Investigation of laser-induced choroidal neovascularization in the rat. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2003; 44: 5349–5354.
- Shields C.L., Demirci H., Dai V., Marr B.P., Mashayekhi A., Materin M.A., Manquez M.E., Shields J.A. Intravitreal triamcinolone acetonide for radiation maculopathy after plaque radiotherapy for choroidal melanoma. *Retina*. 2005; 25 (7): 868–74.
- Sivaprasad S., Chong N.V. The complement system and age-related macular degeneration. *Eye (Lond)* 2006; 20: 867–872.
- Smith L.E., Wesolowski E., McLellan A., Kostyk S.K., D'Amato R., Sullivan R., D'Amore P.A. Oxygen-induced retinopathy in the mouse. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1994; 35 (1): 101–111.
- Summanen P., Immonen I., Kivelä T., Tommila P., Heikkonen J., Tarkkanen A. Radiation related complications after ruthenium plaque radiotherapy of uveal melanoma. *Br J Ophthalmol*. 1996; 80: 732–739.
- Umeda S., Suzuki M.T., Okamoto H., Ono F., Mizota A., Terao K., Yoshikawa Y., Tanaka Y., Iwata T. Molecular composition of drusen and possible involvement of anti-retinal autoimmunity in two different forms of macular degeneration in cynomolgus monkey (*Macaca fascicularis*). *FASEB J* 2005; 19: 1683–1685.

EIGENE PUBLIKATIONEN AUF DEM GEBIET DER ANGIOGENESE DER LETZTEN JAHREN:

- Ambati B.K., Anand A., Jousseaume A.M., Kuziel W.A., Adamis A.P., Ambati J. Sustained inhibition of corneal neovascularization by genetic ablation of CCR5. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2003; 44 (2): 590–3.
- Ambati B.K., Jousseaume A.M., Kuziel W.A., Adamis A.P., Ambati J. Inhibition of corneal neovascularization by genetic ablation of CCR2. *Cornea*. 2003; 22 (5): 465–7.
- Dell S., Peters S., Mütter P., Kociok N., Jousseaume A.M. The role of PDGF receptor inhibitors and PI3-kinase signaling

- in the pathogenesis of corneal neovascularization. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2006; 47 (5): 1928–37.
4. Joussem A. M., Beecken W. D., Moromizato Y., Schwartz A., Kirchhof B., Poulaki V. Inhibition of inflammatory corneal angiogenesis by TNP-470. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 200; 42 (11): 2510–6.
 5. Joussem A. M., Doehmen S., Le M. L., Koizumi K., Radetzky S., Krohne T. U., Poulaki V., Semkova I., Kociok N. TNF-alpha mediated apoptosis plays an important role in the development of early diabetic retinopathy and long-term histopathological alterations. *Mol Vis.* 2009; 15: 1418–28.
 6. Joussem A. M., Huang S., Poulaki V., Camphausen K., Beecken W. D., Kirchhof B., Adamis A. P. In vivo gene expression profile analysis of early diabetic retinopathy. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2001; 42: 3047–3057.
 7. Joussem 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. A central role for inflammation in the pathogenesis of diabetic retinopathy. *FASEB J.* 2004; 18 (12): 1450–2.
 8. Joussem A. M., Poulaki V., Mitsiades N., Cai W. Y., Suzuma I., Pak J., Ju S. T., Rook S. L., Esser P., Mitsiades C. S., Kirchhof B., Adamis A. P., Aiello L. P. Suppression of Fas-FasL-induced endothelial cell apoptosis prevents diabetic blood-retinal barrier breakdown in a model of streptozotocin-induced diabetes. *FASEB J.* 2003; 17 (1): 76–8.
 9. Joussem A. M., Poulaki V., Mitsiades N., Stechschulte S. U., Kirchhof B., Dartt D. A., Fong G. H., Rudge J., Wiegand S. J., Yancopoulos G. D., Adamis A. P. VEGF-dependent conjunctivalization of the corneal surface. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2003; 44 (1): 117–23.
 10. Joussem A. M., Poulaki V., Tsujikawa A., Qin W., Qaum T., Xu Q., Moromizato Y., Bursell S. E., Wiegand S. J., Rudge J., Ioffe E., Yancopoulos G. D., Adamis A. P. Suppression of diabetic retinopathy with angiopoietin-1. *Am J Pathol.* 2002; 160 (5): 1683–93.
 11. Joussem A. M., Poulaki V., Qin W., Kirchhof B., Mitsiades N., Wiegand S. J., Rudge J., Yancopoulos G. D., Adamis A. P. 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. *Am J Pathol.* 2002; 160 (2): 501–9.
 12. Kociok N., Krohne T. U., Poulaki V., Joussem A. M. Geldanamycin treatment reduces neovascularization in a mouse model of retinopathy of prematurity. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol.* 2007; 245 (2): 258–66.
 13. Kociok N., Radetzky S., Krohne T. U., Gavranic C., Joussem A. M. Pathological but not physiological retinal neovascularization is altered in TNF-Rp55-receptor-deficient mice. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2006; 47 (11): 5057–65.
 14. Maier A. K., Kociok N., Zahn G., Vossmeier D., Stragies R., Muether P. S., Joussem A. M. Modulation of hypoxia-induced neovascularization by JSM6427, an integrin alpha5beta1 inhibiting molecule. *Curr Eye Res.* 2007; 32 (9): 801–12.
 15. Muether P. S., Dell S., Kociok N., Zahn G., Stragies R., Vossmeier D., Joussem A. M. The role of integrin alpha-5beta1 in the regulation of corneal neovascularization. *Exp Eye Res.* 2007; 85 (3): 356–65.
 16. Muether P. S., Semkova I., Schmidt K., Abari E., Kuebbeler M., Beyer M., Abken H., Meyer K. L., Kociok N., Joussem A. M. Conditions of retinal glial and inflammatory cell activation after irradiation in a GFP-chimeric mouse model. *Invest Ophthalmol VisSci.* 2010; 51 (9): 4831–9.
 17. Poulaki V., Mitsiades N., Kruse F. E., Radetzky S., Iliaki E., Kirchhof B., Joussem A. M. Activin a in the regulation of corneal neovascularization and vascular endothelial growth factor expression. *Am J Pathol.* 2004; 164 (4): 1293–302.
 18. Semkova I., Muether P. S., Kuebbeler M., Meyer K. L., Kociok N., Joussem A. M. Recruitment of blood-derived inflammatory cells mediated via tumor necrosis factor- α receptor 1b exacerbates choroidal neovascularization. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2011; 52 (9): 6101–8.
 19. Stechschulte S. U., Joussem A. M., von Recum H. A., Poulaki V., Moromizato Y., Yuan J., D'Amato R. J., Kuo C., Adamis A. P. Rapid ocular angiogenic control via naked DNA delivery to cornea. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2001 Aug; 42 (9): 1975–9.

KONTAKT

Prof. Dr. Antonia M. Joussem

Augenlinik Charité
Universitätsmedizin Berlin

Virchowklinikum (CVK)
Augustenburger Platz 1
13353 Berlin

Klinikum Steglitz (CBF)
Hindenburgdamm 30
12200 Berlin



Die Rolle von Mikrogliazellen bei degenerativen Erkrankungen der Netzhaut

DR. RER. NAT. MARCUS KARLSTETTER UND
UNIV.-PROF. DR. RER. NAT. THOMAS LANGMANN

Lehrstuhl für
Experimentelle
Immunologie
des Auges,
Zentrum für
Augenheilkunde,
Uniklinik Köln

Als Gewebsmakrophagen des Zentralnervensystems spielen Mikrogliazellen eine essentielle Rolle bei der Aufrechterhaltung der retinalen Gewebshomöostase. Studien an zahlreichen Mausmodellen der retinalen Degeneration haben eine Beteiligung aktivierter Mikrogliazellen beschrieben, welche durch Ausschüttung neurotoxischer Effektormoleküle entscheidend zu einem Fortschreiten der Schadensprozesse beitragen. Im Gegensatz zur rapiden und starken Mikrogliaaktivierung bei akuten Netzhautschädigungen, können Mikrogliazellen jedoch auch an der Entstehung der altersabhängigen Makuladegeneration (AMD) beteiligt sein. Hierbei scheint eine latente Parainflammation, ausgelöst durch das Zusammenspiel einer Vielzahl komplexer Stimuli, eine bedeutende Rolle zu spielen und die Alterung der Netzhaut nachhaltig zu beeinflussen.

Die Besiedlung des Gehirns und der Netzhaut mit myeloischen Zellen wird bereits vollzogen, während der Embryonalentwicklung vollzogen indem eine spezifische Transmigration von embryonalen Dottersackmakrophagen erfolgt. Nach Ausbildung der Blut-Hirn- bzw. Blut-Retina-Schranke ist die gesamte Erhaltung der Mikrogliapopulation auf lokale Proliferation angewiesen [1]. In der gesunden, reifen Netzhaut üben Mikrogliazellen wichtige Funktionen für die Aufrechterhaltung der Gewebsfunktion aus, wie etwa den Abtransport von Stoffwechselprodukten und die Überwachung der retinalen phagozytären Homöostase [2]. Durch die günstige strategische Lage der Mikroglia-somata in den kernlosen plexiformen Schichten und ihrer territorialen Ausrichtung zueinander, ist die Mikrogliapopulation mit ihren langen, ramifizierten Zellausläufern in der Lage, die Integrität der kompletten Netzhaut zu überwachen. Aufgrund von histologischen *in situ* Analysen hielt sich lange Jahre die Annahme, bei Netzhautmikroglia handle es sich um ein vornehmlich statisches Zellnetzwerk [3]. Diese Sichtweise hat sich jedoch in den letzten Jahren grundlegend geändert. Durch den Einsatz von neuen *in vivo* Bildgebungsverfahren konnte gezeigt werden, dass es sich bei Mikrogliazellen um höchst dynamische Zellen handelt, deren Zellfortsätze in einem konstanten Tonus

einen definierten Raum in ihrer jeweiligen Mikroumgebung abtasten. Die retinale Mikrogliapopulation ist somit in der Lage innerhalb weniger Stunden eine Abtastleistung, die dem vollständigen Volumen der Netzhaut entspricht, zu erreichen [4]. Das Abtasten retinaler Zelloberflächen wird überwiegend anhand von Ligand-Rezeptor-Interaktionen vollzogen. Rezeptoren auf der Zelloberfläche von Mikrogliazellen erkennen neuronale Liganden auf intakten retinalen Neuronen und lösen dadurch einen inhibitorischen Signalweg in Mikrogliazellen aus, um eine unnötige Immunaktivierung zu verhindern. Treten jedoch Oberflächenveränderungen auf retinalen Neuronen auf oder werden durch apoptotische Ereignisse neuronale Alarme freigesetzt, wird sehr rasch eine potente mikrogliale Immunaktivierung ausgelöst [5]. Die mikrogliale Phagozytose der beschädigten Zellen und die lokale Sekretion von chemotaktischen Zytokinen und Komplementfaktoren führt zur Attraktion weiterer Mikrogliazellen und damit zur Abschirmung und Beseitigung der Schadensstelle um sekundären Zellverlust zu verhindern [6].

Der neuronale Zelltod durch Mechanismen der Apoptose wird in der Literatur als gemeinsames Merkmal für den retinalen Funktionsverlust bei allen erblichen, degenerativen Netzhauterkrankungen gesehen [7]. Gleichzeitig kann in allen Fällen eine sehr profunde Beteiligung von Mikrogliazellen beobachtet werden [8]. Je nach Schweregrad und Verlauf der Degenerationskrankheit übersteigt die globale Gewebsschädigung sehr rasch die neuroprotektive Kapazität von Mikrogliazellen und führt zu einem progredienten Niedergang der Zellhomöostase. Gleichzeitig findet ein Umschaltprozess in Mikrogliazellen statt und die dadurch ausgelöste neurotoxische Mikrogliaaktivität führt zur zusätzlichen Induktion apoptotischer Ereignisse und somit zu einer Beschleunigung degenerativer Prozesse in der Netzhaut.

Neben den homöostatischen Funktionen in der reifen Netzhaut sind Mikrogliazellen auch maßgeblich am Erhalt der lebenslangen Netzhaut-

integrität beteiligt und können durch Dysfunktion den Verlauf von Alterungsprozessen erheblich beschleunigen. Alterungsprozesse die durch oxidativen Stress ausgelöst werden, führen zur Modifikation retinaler Makromoleküle und der Ablagerung von unlöslichen Metaboliten, welche durch die neuroprotektiven Funktionen von Mikrogliazellen relativ gut bereinigt werden können. Der Einfluss von Umweltfaktoren oder eine individuelle genetische Prädisposition begünstigen altersbedingte Veränderungen in der Netzhaut, die sich in übermäßiger Ablagerung von retinalen Stoffwechselprodukten, sogenannten *Advanced Glycation End Products* (AGEs), manifestieren [9]. Diese werden von mikroglialen AGE-Rezeptoren erkannt und induzieren entzündliche Prozesse. Übermäßige Phagozytose von oxidierten Metaboliten kann darüber hinaus zu einer regelrechten »Verstopfung« des mikroglialen Phagozytoseapparats und zur exzessiven Produktion von reaktiven Sauerstoffmolekülen führen [10].

Zusätzlich wird dem Verlust von Mikroglia-inhibierenden Zelloberflächenstrukturen auf Neuronen eine tragende Rolle bei der entzündlichen Mikrogliaaktivierung beigemessen. Der altersabhängige Abbau von Polysialinsäuren auf der Glykokalyx von retinalen Neuronen, induziert die Abschaltung des inhibierenden *Immunoreceptor tyrosine-based inhibitory motif* (ITIM)-Signalwegs, der über den immunsupprimierenden Siglec11-Rezeptor vermittelt wird. Gleichzeitig ermöglicht ein geringer Sialinsäuregehalt auf Zelloberflächen dem Komplementfaktor C1q den Zugang zur Zelloberfläche und führt zur Anschaltung eines Komplementrezeptor 3 (CR3)-vermittelten Signalwegs (*immunoreceptor tyrosine-based activatory motif*, ITAM) [11]. Mikrogliazellen reagieren darauf sehr rasch mit Aktivierung und tragen anhand der Sekretion von Sauerstoffradikalen zur lokalen Erhöhung des oxidativen Stresslevels bei.

Im Gegensatz zur gewebesseitig ausgelösten Immunaktivierung kann auch die Alterung von Mikrogliazellen selbst zum Verlust von neuroprotektiven Funktionen führen. Da die retinale Mikrogliapopulation in der Netzhaut keinen hämatopoetischen Stammzellpool zur Verfügung hat und sich diese regelmäßig durch Proliferation erneuert, unterliegen Mikrogliazellen auch natürlichen und induzierten Zellalterungsprozessen. Es wurde gezeigt, dass morphologische Veränderungen in »alternden« Mikrogliazellen die Motilität der Mikrogliafortsätze herabsetzt und deren Länge deutlich verkürzt wird, wodurch sich die Volumenleistung beim Gewebescrushing in der Netzhaut deutlich vermindert [12].

Die alternde Netzhaut produziert ebenfalls eine Vielzahl an geringgradigen Immunstimuli, die über einen langen Zeitraum ein sub-inflammatorisches Mikromilieu in der Netzhaut erzeugen. Mikroglia-

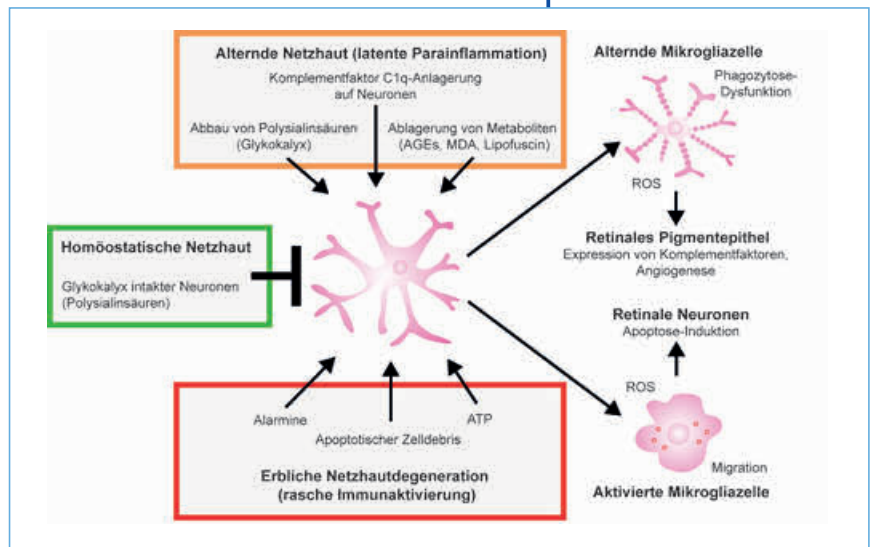


Abbildung 1

■ *Mechanismen der entzündlichen Mikrogliaaktivierung bei Alterungsprozessen oder erblichen Netzhauterkrankungen. Polysialinsäuren der Glykokalyx gesunder Netzhautneuronen inhibieren die Immunaktivierung von Mikrogliazellen. AGEs, Advanced glycation end products; MDA, Malondialdehyd; ATP, Adenosintriphosphat; ROS, Reaktive Sauerstoffspezies.*

zellen die aus »gesunden« Netzhäuten von alten Mäusen isoliert wurden, wiesen ein markantes pro-inflammatorisches Aktivierungsprofil auf [13, 14]. Desweiteren tendieren aktivierte Mikrogliazellen dazu, altersabhängig in den subretinalen Raum zu migrieren, wo sie Retinale Pigmentepithelzellen dahingehend beeinflussen können, proangiogene Proteine und Komplementfaktoren zu produzieren [15, 16]. Chronisch parainflammatorische Mikrogliazellen besitzen scheinbar auch eine Gedächtnisfunktion für andauernde Stimuluspräsenz und reagieren dadurch mit besonders starker und langanhaltender Aktivierung auf akute Trigger [17]. Dieser Mechanismus könnte auch die rapide Transition von der Netzhautparainflammation zur profunden Degeneration erklären.

Aufgrund der breiten ursächlichen Beteiligung von mikroglialen Immunmechanismen an pathologischen Prozessen degenerativer Netzhauterkrankungen, erscheint ein Mikroglia-gerichteter Therapieansatz mit dem Ziel Degenerationsprozesse einzuschränken, plausibel. Die Rekonstitution homöostatischer Funktionen in aktivierten Mikrogliazellen durch therapeutische Modulation könnte das Fortschreiten der Degeneration eindämmen und zugleich die Wiedererlangung der Gewebshomöostase fördern. Insbesondere die Zuckertherapie zur Mimikry der Glykokalyx mit mikrogliasupprimierenden Sialinsäuren könnte hierbei einen interessanten Ansatz bieten.

LITERATUR

1. F. Ginhoux, M. Greter, M. Leboeuf, S. Nandi, P. See, S. Gokhan, M. F. Mehler, S. J. Conway, L. G. Ng, E. R. Stanley, I. M. Samokhvalov, and M. Merad, »Fate mapping analysis reveals that adult microglia derive from primitive macrophages.« *Science*, vol. 330, no. 6005, pp. 841–845, Nov. 2010.

2. U.-K. Hanisch and H. Kettenmann, »Microglia: active sensor and versatile effector cells in the normal and pathologic brain.,« *Nat Neurosci*, vol. 10, no. 11, pp. 1387–1394, Nov. 2007.
3. D.A. Hume, »Immunohistochemical localization of a macrophage-specific antigen in developing mouse retina: phagocytosis of dying neurons and differentiation of microglial cells to form a regular array in the plexiform layers,« *The Journal of Cell Biology*, vol. 97, no. 1, pp. 253–257, Jul. 1983.
4. A. Nimmerjahn, F. Kirchhoff, and F. Helmchen, »Resting microglial cells are highly dynamic surveillants of brain parenchyma in vivo.,« *Science*, vol. 308, no. 5726, pp. 1314–1318, May 2005.
5. T. Langmann, »Microglia activation in retinal degeneration,« *J. Leukoc. Biol.*, vol. 81, no. 6, pp. 1345–1351, Mar. 2007.
6. M. Rutar, R. Natoli, P. Kozulin, K. Valter, P. Gatenby, and J.M. Provis, »Analysis of complement expression in light-induced retinal degeneration: synthesis and deposition of C3 by microglia/macrophages is associated with focal photoreceptor degeneration.,« *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, vol. 52, no. 8, pp. 5347–5358, Jul. 2011.
7. J. Stone, J. Maslim, K. Valter-Kocsi, K. Mervin, F. Bowers, Y. Chu, N. Barnett, J. Provis, G. Lewis, and S. K. Fisher, »Mechanisms of photoreceptor death and survival in mammalian retina,« *Prog Retin Eye Res*, vol. 18, no. 6, pp. 689–736, 1999.
8. M. Karlstetter and T. Langmann, »Immune mechanisms in retinal degeneration,« *Klinische Monatsblätter der Augenheilkunde*, pp. 1–21, Nov. 2011.
9. J.V. Glenn and A.W. Stitt, »The role of advanced glycation end products in retinal ageing and disease,« *Immunity*, vol. 1790, no. 10, pp. 1109–1116, Oct. 2009.
10. H. Nakanishi and Z. Wu, »Microglia-aging: Roles of microglial lysosome- and mitochondria-derived reactive oxygen species in brain aging,« *Immunity*, vol. 201, no. 1, pp. 1–7, Jul. 2009.
11. B. Linnartz and H. Neumann, »Microglial activatory (immunoreceptor tyrosine-based activation motif)- and inhibitory (immunoreceptor tyrosine-based inhibition motif)-signaling receptors for recognition of the neuronal glycocalyx.,« *Glia*, vol. 61, no. 1, pp. 37–46, Jan. 2013.
12. M.R. Damani, L. Zhao, A.M. Fontainhas, J. Amaral, R.N. Fariss, and W.T. Wong, »Age-related alterations in the dynamic behavior of microglia,« *Glia*, vol. 10, no. 2, pp. 263–276, Dec. 2010.
13. M. Chen, E. Muckersie, J.V. Forrester, and H. Xu, »Immune activation in retinal aging: a gene expression study,« *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, vol. 51, no. 11, pp. 5888–5896, Nov. 2010.
14. A. Sierra, A.C. Gottfried-Blackmore, B.S. McEwen, and K. Bulloch, »Microglia derived from aging mice exhibit an altered inflammatory profile,« *Glia*, vol. 55, no. 4, pp. 412–424, 2007.
15. W. Ma, L. Zhao, A.M. Fontainhas, R.N. Fariss, and W.T. Wong, »Microglia in the Mouse Retina Alter the Structure and Function of Retinal Pigmented Epithelial Cells: A Potential Cellular Interaction Relevant to AMD,« *PLoS ONE*, vol. 4, no. 11, p. e7945, Nov. 2009.
16. N. Gupta, K.E. Brown, and A.H. Milam, »Activated microglia in human retinitis pigmentosa, late-onset retinal degeneration, and age-related macular degeneration.,« *Exp. Eye Res.*, vol. 76, no. 4, pp. 463–471, Apr. 2003.
17. D. Mustafi, T. Maeda, H. Kohno, J.H. Nadeau, and K. Palczewski, »Inflammatory priming predisposes mice to age-related retinal degeneration,« *J. Clin. Invest.*, vol. 122, no. 8, p. 2989, 2012.

Dr. rer. nat. Marcus Karlstetter, Jahrgang 1982, ist Postdoktorand am Lehrstuhl für Experimentelle Immunologie des Auges (Direktor: Univ.-Prof. Dr. rer. nat. Thomas Langmann), der dem Kölner Zentrum für Augenheilkunde angehört. Nach der Gymnasialausbildung am Adalbert-Stifter-Gymnasium in Passau studierte er Biologie an der Universität Regensburg und an der University of Leicester, UK. Nach Abschluss des Studiums promovierte er 2012 am Institut für Humangenetik der Universität Regensburg in der Arbeitsgruppe von Prof. Langmann. Der wissenschaftliche Schwerpunkt liegt in der therapeutischen Modulation von retinalen Immunmechanismen und der Photorezeptorgenetik.

FÖRDERUNGEN UND AUSZEICHNUNGEN

Dr. Karlstetter war während seiner Promotion Stipendiat des Elitenetzwerk Bayerns und erhielt 2011 ein Forschungsstipendium der ProRetina Deutschland e.V. für einen 3 monatigen Aufenthalt am NIH, Bethesda, USA im Labor von Prof. Dr. Lothar Hennighausen.

Dr. rer. nat. Marcus Karlstetter

Lehrstuhl für
Experimentelle Immunologie des Auges
Zentrum für Augenheilkunde
Uniklinik Köln
Kerpener Straße 62
50937 Köln
Telefon: 0221 478-84587
E-Mail: marcus.karlstetter@uk-koeln.de

KONTAKT



Univ.-Prof. Dr. rer. nat. Thomas Langmann, Jahrgang 1970, ist Inhaber des Lehrstuhls für Experimentelle Immunologie des Auges am Kölner Zentrum für Augenheilkunde. Nach Promotion an der Universität Regensburg im Jahr 1998, Postdoktorandenzeit an der Harvard Medical School 1999 und Habilitation in Regensburg 2004, übernahm er 2010 eine W2-Stiftungsprofessur für Netzhautforschung am Institut für Humangenetik der Universität Regensburg. 2012 erfolgte die Annahme des Kölner Rufes auf eine W3-Professur für Experimentelle Immunologie des Auges. Die wissenschaftlichen Schwerpunkte seiner Abteilung sind Immunprozesse und molekulare Mechanismen der Krankheitsentstehung bei erblich bedingten Degenerationen der Netzhaut.

AUSZEICHNUNGEN

Prof. Langmann erhielt 1994 das Oskar-Karl-Forster-Stipendium, 2004 den Ivar-Trautschold-Preis der Deutschen Gesellschaft für Klinische Chemie und Labormedizin und 2012 den 2. Novartis Ophthalmics EYEnovative Preis.

Univ.-Prof. Dr. rer. nat. Thomas Langmann

Lehrstuhl für
Experimentelle Immunologie des Auges
Zentrum für Augenheilkunde
Uniklinik Köln
Kerpener Straße 62
50937 Köln
Telefon: 0221 478-7324
E-Mail: thomas.langmann@uk-koeln.de

KONTAKT



Standardisierte Ermittlung der Nahsehfähigkeit bei Anwendung moderner Verfahren der chirurgischen Presbyopiekorrektur

PROF. DR. MED. THOMAS KOHNEN, PRIV.-DOZ. DR. MARTIN BAUMEISTER, CHRISTINE TITKE, PRIV.-DOZ. DR. JENS BÜHREN, OLIVER K. KLAPROTH

**Klinik für
Augenheilkunde**
Goethe Universität
Frankfurt am Main

Die chirurgische Behandlung der Presbyopie ist weiterhin eines der größten ungelösten Probleme der refraktiven Chirurgie. Die Klinik für Augenheilkunde der Goethe Universität hat sich zum Ziel gesetzt, einerseits die optischen Grundlagen des Sehens in der Nähe zu erforschen, andererseits einen verwendbaren Standard zur Bewertung refraktiv-chirurgischer Behandlungsverfahren zu etablieren. Zu Beginn war es ein Hauptziel, standardisierte Tests zur Nahsehprüfung zu finden bzw. zu evaluieren.

Bisher werden im klinischen Alltag, aber auch in Forschungsarbeiten, in der Regel keine befriedigenden und ausreichend standardisierten Messinstrumente verwendet, um die Nahsehfähigkeit oder auch die Nahsehstärke vor- und nach operativen Eingriffen standardisiert zu untersuchen. Daher sind verschiedene Studien nur eingeschränkt miteinander vergleichbar. Die folgenden Beispiele sollen einen Überblick über das Forschungsspektrum im Rahmen der Evaluation der Lesefähigkeit an der Klinik für Augenheilkunde der Goethe-Universität bieten.

MESSUNG DER LESEFÄHIGKEIT

Mit der Entwicklung des »Salzburg Reading Desk« (SRD) [1] wurde ein neues Messgerät entwickelt, welches insbesondere für wissenschaftliche Fragestellungen eine wiederholbare und standardisierte Messung der Lesefähigkeit in der Nähe ermöglichen soll. Damit können auch Verfahren zur Presbyopiekorrektur wiederholbar auf ihre Wirksamkeit hin überprüft werden. Das SRD besteht aus einem Flüssigkristall-Display auf dem beliebige Leseproben in verschiedenen Kontraststufen dargeboten werden können. Über Infrarot-Kameras wird der Abstand der Augen zur Leseprobe gemessen und der Visus errechnet. Mittels eines eingebauten Mikrofons wird die Lesegeschwindigkeit in Wörtern pro Minute bestimmt.

In einer prospektiven Studie wurde die Validität des SRD zur Bestimmung der Lesefähigkeit an insgesamt 50 Probanden in 2 verschiedenen Alters-

gruppen (Gruppe I: 23–30 Jahre, Gruppe II: 38–49 Jahre) getestet. [2] Hauptzielgröße war die kleinste noch lesbare Schriftgröße (Lesesehschärfe). Nebenzielgrößen waren der Nahvisus, der Leseabstand und die Lesegeschwindigkeit (Wörter/Minute). Die Wiederholbarkeit wurde durch zweimalige Untersuchung im Abstand von 4 Wochen bestimmt.

Die Lesesehschärfe betrug in Gruppe I in der ersten Untersuchung $0,144 \pm 0,088$ logRAD und in der Wiederholungsuntersuchung $0,138 \pm 0,065$ logRAD, (Wiederholungskoeffizient (CoR): 0,19) in Gruppe II betrug sie $0,169 \pm 0,126$ logRAD vs. $0,155 \pm 0,107$ logRAD (CoR: 0,19). Für den mittleren Leseabstand ergaben sich in Gruppe I $30,61 \pm 7,83$ cm, vs. $30,04 \pm 5,37$ cm und in Gruppe II $37,91 \pm 6,90$ cm, vs. $40,00 \pm 8,95$ cm. Die mittlere Differenz der Lesesehschärfe zwischen beiden Untersuchungen war $0,0059$ logRad in Gruppe 1 und $0,0146$ logRAD in Gruppe 2, die des mittleren Leseabstandes $0,6$ cm in Gruppe 1 und $2,1$ cm in Gruppe 2.

Damit ergab sich eine hohe Wiederholbarkeit und eine gute Trennschärfe zwischen vollakkommodationsfähigen und presbyopen Probanden. [2]

EINFLUSS PSEUDOAKKOMMODATIVER EFFEKTE AUF DIE LESEFÄHIGKEIT

Nach Evaluation der Methodik wurde mit Hilfe des SRD unter anderem untersucht, inwieweit Größe und Lage eines Astigmatismus einen Einfluss auf die Lesefähigkeit im nicht akkommodationsfähigen Auge haben. In einer prospektiven, kontrollierten Studie wurde bei 30 Augen von 30 Probanden, bei denen die Akkommodationsfähigkeit durch Applikation von Tropicamid-Augentropfen ausgeschaltet worden war, ein Astigmatismus durch Vorsetzen zylindrischer Gläser in verschiedenen Stärken (odpt, $-0,75$ dpt und $-1,5$ dpt) und Richtungen (0° und 90°) simuliert und der Nahvisus (anhand E-Haken) sowie die Lesesehschärfe und Lesegeschwindigkeit anhand standardisierter Lesetexte ermittelt.

Die Forschungsarbeit wurde durch die DFG als Sachbeihilfe für PD Dr. Baumeister und Prof. Dr. T. Kohnen (BA 3443/2-1 MB) gefördert.

Bei zunehmendem Astigmatismus verschlechterte sich sowohl der Nahvisus ($P = 0,16$ bei $-0,75$ dpt, $P = 0,005$ bei $-1,5$ dpt) als auch die Lesesehschärfe ($P = 0,002$ bei $-0,75$ dpt, $P = 0,014$ bei $-1,5$ dpt), wobei sich ein Astigmatismus mit der Regel (A. rectus) signifikant schlechter auswirkte als der Astigmatismus gegen die Regel (A. inversus) ($P < 0,001$).

Auch die Lesegeschwindigkeit verringerte sich mit zunehmender Zylinderstärke, jedoch nicht signifikant. Die Lesegeschwindigkeit war geringer bei A. rectus als bei A. inversus ($P < 0,001$). Ohne Astigmatismus sowie bei A. rectus war der Nahvisus besser als die Lesesehschärfe ($P = 0,03$ für 0 dpt, $P < 0,001$ für $-0,75$ dpt, $P = 0,03$ für $-1,5$ dpt). Bei A. inversus zeigte sich kein Unterschied zwischen dem Nahvisus und der Lesesehschärfe ($P = 0,06$ für $-0,75$ dpt, $P = 0,5$ für $-1,5$ dpt). Die Ergebnisse zeigen, dass Astigmatismus mit und gegen die Regel die Nahsehfähigkeit in unterschiedlichem Maße beeinflussen. Die gemessenen Unterschiede waren jedoch gering. [3]

MESSUNG VON WELLENFRONTABERRATIONEN BEI DER AKKOMMODATION

Sämtliche Abweichungen von der idealen Optik des menschlichen Auges lassen sich proportional in Abweichungen von der idealen Wellenfront wiederfinden. Somit erlauben aberrometrische Messungen eine objektive Charakterisierung der optischen Eigenschaften eines Auges und ermöglichen detaillierte Beschreibungen von Aberrationen niedriger und höherer Ordnung. Dies ermöglicht ihren vielseitigen Einsatz in der Ophthalmologie, zum Beispiel in der Evaluation refraktiv-chirurgischer Eingriffe.

Für die Untersuchung des Verhaltens der optischen Aberrationen höherer Ordnung bei der Akkommodation wurde das »i-Trace« (Tracey Technologies, Houston, Texas, USA) in modifizierter Form verwendet. [4] Dieses arbeitet nach dem Prinzip des »ray tracing«. Es werden nacheinander 256 Messpunkte über den kompletten Pupillendurchmesser gescannt. Diese sequenzielle Messung erlaubt die eindeutige Zuordnung eines jeden Messpunktes. Aus dem entstehenden Retinal-Spot-Diagramm werden dann aus der Lage und dem Profil eines jeden Messpunktes die Aberrationen in Form von Zernike-Koeffizienten abgeleitet. Das »iTrace« verfügt außerdem über ein integriertes Placido-Hornhauttopographiesystem mit 22 Ringen. In der Kombinationsdarstellung kann die Topographie mit der Wellenfrontaufnahme zusammengeführt werden. So können die internen Aberrationen von Linse und kornealer Rückfläche dargestellt werden.

Es wurde nun unter anderem geprüft, ob sich Änderungen in der Aberrometrie des Auges bei Akkommodation mit dem verwendeten freisichtigen Aberrometer (i-Trace) darstellen lassen und welche Aberrationen sich bei Akkommodation verändern. Analysiert wurden alle Aberrationen bis zur 8. Ordnung bei Fixation eines Sehzeichens in verschiedenen Abständen (4 m, 1 m, 60 cm, 50 cm, 40 cm).

Das quadratische Mittel aller gemessenen Aberrationen und der Aberrationen niedriger Ordnung stiegen bei Akkommodation signifikant an. Die Differenzen des Defokus, der sphärische Aberration und der vertikalen Koma veränderten sich bei abnehmendem Stimulusabstand in die negative Richtung und waren zwischen allen gemessenen Akkommodationszuständen signifikant verschieden.

Schlussfolgernd lassen sich Veränderungen in der Aberrometrie des Auges bei Akkommodation mit dem freisichtigen Aberrometer darstellen und wir konnten zeigen, welche Aberrationen sich bei Akkommodation verändern. Diese Ergebnisse korrelieren gut mit der bisher veröffentlichten Literatur überein. Demnach lassen sich mit dem kommerziell erhältlichen Aberrometer valide Ergebnisse zur Änderung der okulären Wellenfront bei der Akkommodation erzielen, die bei der Beurteilung von Operationsverfahren zur Wiederherstellung der Akkommodation verwendet werden können. [4]

EVALUATION EINER AKKOMMODATIVEN INTRAOKULARLINSE

Das ideale Ziel der Behandlung der Alterssichtigkeit ist die Wiederherstellung der Akkommodation als einer tatsächlichen Brechkraftänderung des Auges. Dies ist das erklärte Ziel sogenannter akkommodativer Intraokularlinsen. [5] In einer prospektiven, randomisierten, doppelt-maskierten klinischen Studie wurde das Maß an Akkommodation und Pseudoakkommodation der akkommodativen IOL Crystalens HD beurteilt und die Linse mit einer monofokalen nichtakkommodierenden IOL (MI60, Bausch & Lomb) verglichen.

Insgesamt 36 Patienten wurden nach einem Zufallsprinzip einer von 2 Gruppen zugeteilt. Einer Gruppe wurde die Crystalens HD und der anderen Gruppe die Kontrolllinse jeweils in beide Augen implantiert.

Untersucht wurde einmal präoperativ und 3 mal postoperativ (1 Monat, 3 und 12 Monate nach der 2. OP) die Lesefähigkeit (SRD), Wellenfrontaberration in verschiedenen Akkommodationszuständen (i-Trace), subjektive Refraktion, Fernvisus, Kontrastempfindlichkeit (FrACT), Defokuskurve

und die Pupillengröße (Procyon). Weder die Patienten noch die postoperativen Untersucher wussten, welche IOL implantiert worden war.

In den Wellenfrontmessungen konnte zu keinem postoperativen Zeitpunkt eine signifikante akkommodative Änderung nachgewiesen werden. Die geringfügig besseren Ergebnisse der akkommodativen IOL bei der Nah- und Lesesehschärfe beruhen demnach auf pseudoakkommodativen Effekten (zentrale Aufsteilung der Optik der IOL zur Addition von negativer sphärischer Aberration) und nicht auf einer dynamischen Brechkraftänderung des Auges.

EVALUATION EINER TORISCHEN MULTIFOKALEN INTRAOKULARLINSE

Im Gegensatz zu akkommodativen Intraokularlinsen wird bei pseudo-akkommodativen Verfahren wie den Multifokal-IOL angestrebt, ohne dynamische Brechkraftänderung ein scharfes Netzhautbild in verschiedenen Entfernungen zu erzielen. [6] Bei multifokalen Intraokularlinsen ist die genaue Korrektur der Fernrefraktion des Auges auf Emmetropie sowie die Abwesenheit eines Astigmatismus essentiell für die Funktion des Implantats. Deshalb wurden in jüngster Zeit multifokal-torische IOL entwickelt, die zusätzlich zur Presbyopiebehandlung auch den Astigmatismus der Hornhaut korrigieren. In einer prospektiven klinischen multizentrischen Pilotstudie wurde die torische IOL AcrySof IQ ReSTOR (Alcon) evaluiert. Diese Linsen zeigten dabei Ergebnisse, wie sie auch schon von den nicht-torischen multifokalen IOL bekannt sind. [7] 44 der untersuchten 49 Patienten (88 Augen) konnten 6 Monate lang postoperativ nachuntersucht werden. Das mittlere sphärische Äquivalent belief sich dabei auf $0,09 \pm 0,49$ dpt, 95,2% der Patienten befanden sich dabei innerhalb eines Bereiches von $\pm 1,0$ dpt. Der mittlere subjektive Zylinderwert verringerte sich von $1,07 \pm 0,71$ dpt auf $0,33 \pm 0,44$ dpt, 78,6% der Patienten lagen innerhalb eines Wertes von $0,50$ dpt. Die mittlere binokulare unkorrigierte Sehschärfe lag bei $0,04 \pm 0,08$ logMAR in einer bevorzugten Leseentfernung von 39 cm, bei $0,07 \pm 0,09$ logMAR in 40 cm, bei $0,09 \pm 0,11$ in 60 cm und bei $0,05 \pm 0,10$ in 4 m Optotypenentfernung. Die mittlere Lesegeschwindigkeit verbesserte sich von $125,43 \pm 33,58$ Wörtern pro Minute (wpm) auf $132,68 \pm 23,69$ wpm. Die mittlere IOL Rotation betrug $2,20 \pm 4,34^\circ$. [8, 9]

Die torische multifokale IOL ermöglicht somit eine pseudoakkommodative Presbyopiekorrektur ohne die Notwendigkeit einer separaten Behandlung des Hornhautastigmatismus. Somit sind auch Augen mit Astigmatismus einer Presbyopiekorrektur durch Linsenersatz zugänglich.

ZUSAMMENFASSUNG

Erfolgreich lässt sich eine chirurgische Korektur der Presbyopie nur dann durchführen, wenn erstens die optischen Prinzipien vom Operateur (und bis zu einem gewissen Maß auch vom Patienten) verstanden werden und dann eine dementsprechend an die visuellen Anforderungen, Erwartungen und anatomischen Gegebenheiten der Patienten angepasste individuell optimierte Auswahl der Behandlungsmethode erfolgt. Die ständig zunehmende Vielfalt der Methoden (Bi- und Trifokale IOL, korneale Blendenimplantate oder auch keratorefraktive Excimerlaserbehandlungen) lassen heute eine sehr individuelle Verfahrensauswahl zu. Der Vergleich der Verfahren ist aber bisher aufgrund der Vielfalt der Evaluationsmethoden nur sehr schwierig möglich und wenn durchgeführt, oft schlecht nachvollziehbar. Eine Standardisierung des Evaluationsverfahren auf einem im klinischen Alltag anwendbaren Niveau ist daher dringender erforderlich denn je.

LITERATUR

1. Dexl A.K., Schlögel H., Wolfbauer M., Grabner G. Device for improving quantification of reading acuity and reading speed. *J Refract Surg.* 2010 Sep; 26 (9): 682–8.
2. Arad T., Baumeister M., Klaproth O.K., Titke C., Kohnen T. Evaluation Of A Device For Standardized Measurement Of Reading Performance. Fort. Lauderdale, FL, USA; 2012.
3. Casagrande M., Baumeister M., Bühren J., Klaproth O.K., Titke C., Kohnen T. Influence of additional astigmatism on distance-corrected near visual acuity and reading performance. *Br J Ophthalmol.* 2013 May 23.
4. Titke C., Gabriel C., Baumeister M., Böhre J., Kohnen T. Messung von Brechkraftänderungen des Auges bei Akkommodation mit einem freisichtigen ray-tracing Aberrometer. Berlin; 2012.
5. Klaproth O.K., Titke C., Baumeister M., Kohnen T. [Accommodative intraocular lenses-principles of clinical evaluation and current results]. *Klin Monatsblätter Für Augenheilkd.* 2011 Aug; 228 (8): 666–75.
6. Agresta B., Knorz M.C., Kohnen T., Donatti C., Jackson D. Distance and near visual acuity improvement after implantation of multifocal intraocular lenses in cataract patients with presbyopia: a systematic review. *J Refract Surg.* 2012 Jun; 28 (6): 426–35.
7. 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. *J Cataract Refract Surg.* 2009 Dec; 35 (12): 2062–9.
8. Alfonso J.F., Knorz M.C., Fernandez-vega L., Rincon J.L., Suarez E., Titke C., et al. Clinical Outcomes after Bilateral Implantation of an Apodized Diffractive +3.0 D Multifocal Toric IOL. *J Cataract Refract Surg.* in press.
9. Kohnen T., Rincon J.L., Suarez E., Alfonso J.F., Fernandez-Vega L., Tucker S., et al. Subjective Outcomes after Bilateral Implantation of an Apodized Diffractive +3.0 D Multifocal Toric IOL in a Prospective Clinical Study. *J Refract Surg.* in press.

Prof. Dr. med. Thomas Kohnen, Jahrgang 1963, ist Direktor der Augenklinik am Klinikum der Goethe-Universität Frankfurt. Nach der Schulausbildung am Couven-Gymnasium Aachen studierte er Humanmedizin an der RWTH Aachen und der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-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 DFG-Forschungsaufenthalt am Cullen Eye Institute, Baylor College of Medicine, Houston, TX/USA wurde er C1-Wissenschaftler und Oberarzt an Klinik für Augenheilkunde der Goethe-Universität Frankfurt, wo er 2010 habilitiert wurde 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 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 drei Jahren wurde die Presbyopieforschung an der Goethe-Universität Frankfurt durch die DFG als Sachbeihilfe für PD Dr. Baumeister und Prof. Dr. T. Kohnen (BA 3443/2-1 MB) gefördert.

Prof. Kohnen ist Mitglied zahlreicher ophthalmologischer Gesellschaften, u. a. der Deutschen Ophthalmologischen Gesellschaft (DOG, Mitglied des Gesamtpräsidium von 2008–2012), der DGII (Präsident von 2008–2012, und aktueller Vizepräsident) und des ESCRS (Co-opted board member seit 1997). Außerdem steht er der Kommission Refraktive Chirurgie (KRC) der Deutschen Ophthalmologischen Gesellschaft (DOG) und des Berufsverbandes der Augenärzte (BVA) als Vorsitzender seit 2010 vor. Er führte mehr als 33.000 Operationen im gesamten Spektrum der Augenheilkunde durch und hat mehr als 300 wissenschaftliche Publikationen veröffentlicht. Zudem ist er seit über 10 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 1997 Associate Editor des **Journal of Cataract & Refractive Surgery**, seit 2000 Editorial Board Member von **Graefe's Archive of Clinical and Experimental Ophthalmology**, seit 2006 Rubrikherausgeber von **Der Ophthalmologe**, seit 2007 Editorial Board member von **Ophthalmologica** und seit 2009 Herausgeber des Schwerpunktthemas »Linse und Katarakt« in den **Klinische Monatsblätter für Augenheilkunde**.



Prof. Dr. med. Thomas Kohnen, FEBO
 Direktor
 Augenklinik der Goethe-Universität
 Frankfurt am Main
 Theodor-Stern-Kai 7
 60590 Frankfurt am Main
 E-Mail: kohnen@em.uni-frankfurt.de

KONTAKT



Automatische Effektsteuerung für minimal-invasive retinale Photokoagulation

DR. S. KOINZER¹, DR. M. SAEGER¹, K. SCHLOTT², A. BAADE²,
DR. R. BRINKMANN², PROF. DR. J. ROIDER¹

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

**2 Medizinisches
Laserzentrum Lübeck
GmbH**

Abbildung 1

■ *Farbfundusbild einer Patientennetzhaut nach konventioneller Photokoagulationstherapie. Die unterschiedlich starken Vernarbungen der Läsionen sind deutlich zu erkennen.*

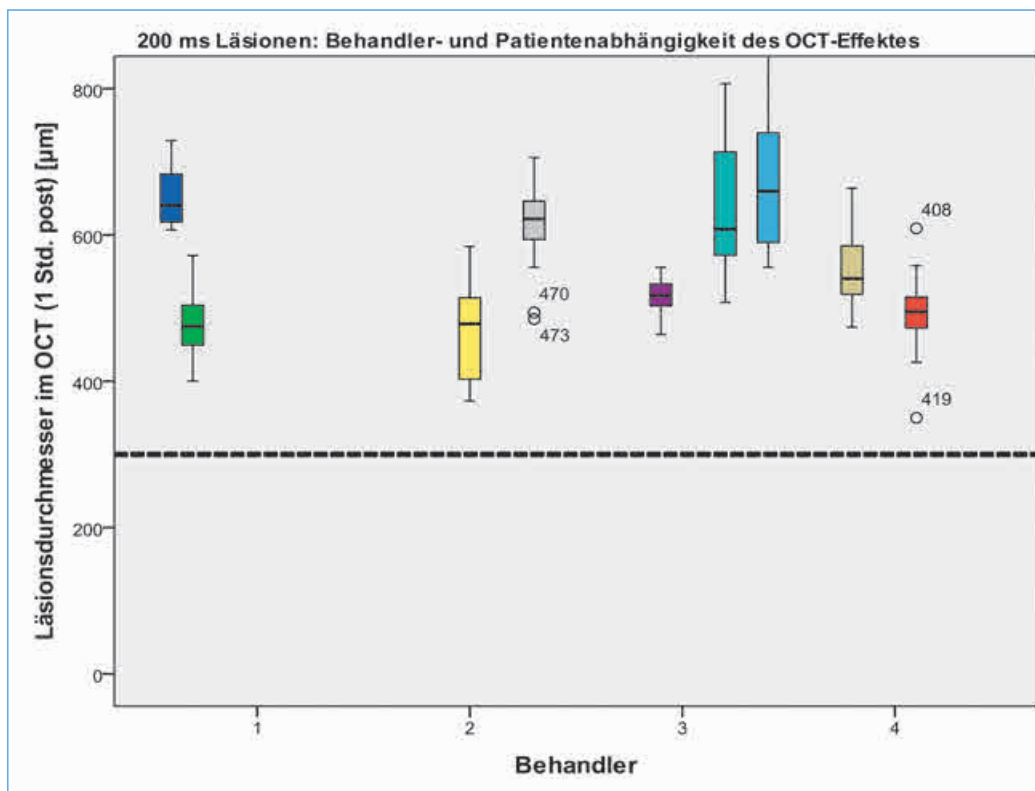
Retinale Laserphotokoagulation beschreibt die gezielte thermische Zerstörung von Netzhautgewebe durch laserinduzierte Hitze. Das Verfahren ermöglicht eine Behandlung des Augenhintergrundes von außen und erreicht so den in ca. 2,5 cm Tiefe liegenden Augenhintergrund, ohne die Körperoberfläche zu verletzen. In den späten 1940er Jahren erstmals durch Meyer-Schwickerath mit Hilfe von Sonnenlicht angewendet [1], entwickelte sich die lichtbasierte Photokoagulation weiter und ist heute als Therapieverfahren für ischämische Netzhauterkrankungen unverzichtbar [2]. Dabei wird mit hunderten einzelner Läsionen, deren Durchmesser i. d. R. 200–500 µm beträgt, ein relevanter Anteil der peripheren Netzhaut zerstört. Zu den behandelbaren Krankheitsbildern zählen etwa die diabetische Retinopathie, retinale Venenthrombosen, aber auch zahlreiche seltenere Erkrankungen wie Sichelzell-Retinopathie, Frühgeborenenretinopathie, M. Coats u. a. [3]. Nach heutigem Verständnis wird der retinalen Ischämie begegnet, indem ein Teil der metabolisch

hoch aktiven Stäbchen und Zapfen der Netzhaut zerstört wird, so dass ein Anstieg des Sauerstoffpartialdruckes in der Netzhaut resultiert [4]. Auf diese Weise lassen sich Folgeerkrankungen der Ischämie, die unbehandelt zum Verlust des Auges führen würden, verhindern. Weitere Indikationen der retinalen Photokoagulation umfassen die Retinopexie, bei der um Netzhautdefekte herum eine gliale Vernarbungsreaktion induziert wird, die einer Netzhautablösung vorbeugt. Bei der Behandlung von Makulaödemen, etwa bei diabetischer Makulopathie oder nach venösen Astverschlüssen, ist der Laser seit Einführung intravitreal applizierter Angiogenesehemmer ein ergänzendes oder alternatives Behandlungsverfahren.

Die retinale Photokoagulation ist im Prinzip ein gewebedestruktives Verfahren. Zu ihren Nebenwirkungen gehört Schmerz während der Behandlung sowie im Verlauf die Ausbildung kleiner Gesichtsfelddefekte (Skotome), eine Herabsetzung von Netzhautempfindlichkeit, Dämmerungs- und Kontrastsehen [5]. Aus diesem Grunde wird weltweit versucht, die Intensität der Einzelläsionen zu reduzieren. Es gibt Hinweise aus einer Vielzahl kleinerer Pilotstudien, dass auch klinisch schwach oder nicht sichtbare Läsionen therapeutisch wirksam sind [6–9]. Neuere Lasertechniken verwenden gepulste Laser im Nano- oder Mikrosekundenbereich, reduzierte Bestrahlungszeiten des Continuous Wave-Lasers, oder verschiedenfarbige Laser, teils im Infrarotbereich, um den laserinduzierten Netzhautschaden zu reduzieren. Tatsächlich ist mit diesen Verfahren eine Schadensreduktion bis hin zur selektiven Zerstörung retinaler Pigmentepithelzellen (RPE) möglich [10]. Keines der neuen Verfahren bietet jedoch eine überzeugende Möglichkeit der Lichtdosiskontrolle.

Während der Behandlung wählt der Arzt am Laserphotokoagulator für seine Bestrahlungen den Durchmesser, die Bestrahlungsdauer und die Bestrahlungsleistung. Während die Empfehlungen für Durchmesser und Bestrahlungsdauer indikationsabhängig sind, wird anhand der Leis-



**Abbildung 2**

■ Box-Whisker-Plots der OCT-Läsionsdurchmesser von 4 Behandlern an 9 Patienten ($p < 0,001$). Kleinste und größte Medianwerte schwanken ca. um das 1,4-fache, was einer Flächenschwankung um den Faktor 2 entspricht. Die waagerechte gestrichelte Linie zeigt den Bestrahlungsdurchmesser von 300 μm an. Alle Läsionen waren in der feingeweblichen OCT-Diagnostik größer als das bestrahlte Areal.

tung jeder Einzeleffekt auf die richtige Intensität justiert. Dafür wird an der jeweils zuletzt applizierten Läsion überprüft, ob diese auf der Netzhaut den gewünschten Grad an gräulicher Verfärbung hervorgerufen hat, und die Leistung für die folgende Läsion entsprechend adaptiert. Unsere histologischen Untersuchungen zeigen, dass beim Eintreten einer solchen Netzhautverfärbung meist schon ein thermischer Schaden aller Netzhautschichten vorliegt [11]. Entsteht keine Netzhautverfärbung, so fehlt dem Behandler bei sanfteren, netzhautschonenden Läsionen das Effektfeedback, auf dessen Basis er die Laserleistung anpassen könnte.

In einer systematischen Überprüfung der Dosiergenauigkeit konnten wir zeigen, dass die erzeugten Behandlungseffekte sehr stark schwanken, nicht nur zwischen unterschiedlichen Behandlern, sondern auch zwischen verschiedenen Patienten des gleichen Behandlers und auch innerhalb einer Behandlung (**Abb. 1 und Abb. 2**). Die Schwankungen führen zu Unterschieden der behandelten Netzhautfläche um einen Faktor von bis zu 2. Da die behandelte Fläche entscheidend für die therapeutische Wirksamkeit des Verfahrens ist [12], schränkt die Effektvariabilität die Vorhersagbarkeit des therapeutischen Effektes ein. Die Schwankungen erklären sich einerseits dadurch, dass die sichtbare Netzhautverfärbung über die ersten Minuten nach der Behandlung sehr stark zunimmt [13]. Ihre Beurteilung ist also zeitabhängig, und sie unterliegt überdies einem starken subjektiven,

behandlerabhängigen Einfluss. Die Wirkung des Lasers ist bei gleicher Einstellung variabel, weil sie von Absorptionsschwankungen (Pigmentierungsschwankungen des Augenhintergrundes um den Faktor 2–3) und Transmissionsschwankungen (unterschiedlicher Lichtdurchlässigkeit der brechenden Medien Hornhaut, Linse und Glaskörper) des behandelten Gewebes in nicht vorhersehbarer Weise beeinflusst wird. Die Notwendigkeit einer automatisierten, effektindividuellen Dosiskontrolle wurde bereits in den 1980er Jahren erkannt, konnte aber mit den damals verfügbaren Techniken nicht umgesetzt werden [14].

Unser Ansatz zur automatischen, herdividuellen Laserdosierung beruht auf einer nicht-invasiven Messung der Netzhauttemperaturentwicklung während der Applikation jeder Einzelläsion. Da die Bestrahlungsdauer jeder Läsion üblicherweise zwischen 20 und 200 ms liegt, muss dieses Temperaturmessverfahren zeitlich sehr hoch auflösen. Die von den Autoren entwickelte, hoch innovative Technik zur Vermessung der Netzhauttemperatur nutzt die sog. »Optoakustik«. Dieser Begriff beschreibt die Induktion einer akustischen Druckwelle durch Lichtbestrahlung [15]. Kurze, unschädliche Laserpulse im ns-Bereich werden dafür mit einer Repetitionsrate von 1 kHz zusammen mit der Behandlungsstrahlung auf die Netzhaut appliziert. Jeder dieser Laserpulse verursacht eine kurze Ausdehnung des Netzhautgewebes, die umso stärker ausfällt, je höher die Netzhauttemperatur vorher war. Dieser Zusammenhang

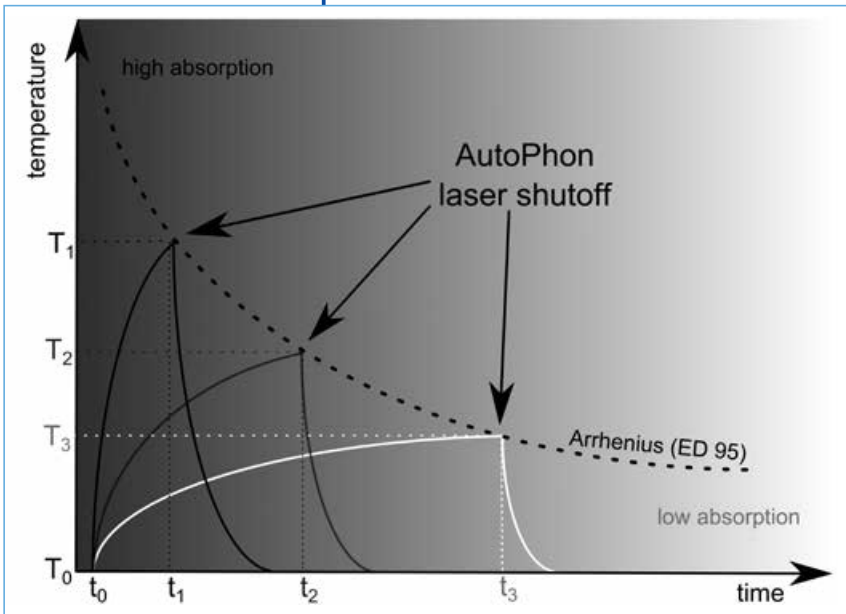


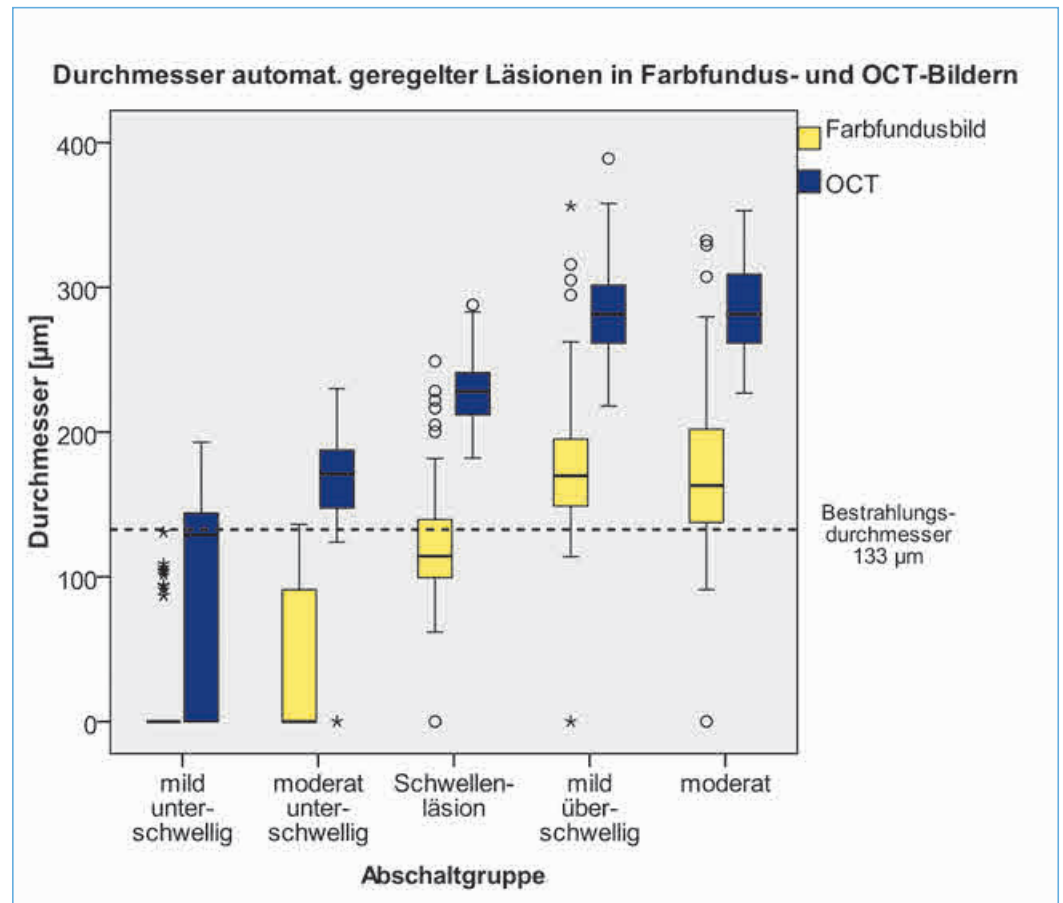
Abbildung 3
 ■ Schematische Darstellung einer Kennlinie für die Bestrahlungszeitsteuerung, basierend auf einer empirisch adaptierten Arrhenius-Kurve. Starke Temperaturanstiege resultieren in kurzer Bestrahlungszeit, schwächere in längerer Bestrahlung. Alle Bestrahlungen erzeugen einen gleichartigen Effekt auf der Netzhaut.

wird physikalisch durch den Grüneisen-Parameter beschrieben. Durch die Netzhautexpansion wird eine biphasische Druckwelle im Ultraschallbereich erzeugt, welche sich durch das Auge hindurch ausbreitet und auf der Augenoberfläche zu messen ist. Der Detektor des optoakustischen

Signals, ein Ultraschall-Ringtransducer, ist in das Kontaktglas integriert, welches bei Photokoagulationsbehandlungen routinemäßig auf das Auge aufgesetzt wird, um unwillkürliche Augenbewegungen zu dämpfen, den Lidschluss zu verhindern und einen für die Behandlung angepassten Bildwinkel darzustellen. Die detektierten Signale werden digital weiterverarbeitet und erlauben unter bestimmten Voraussetzungen, insbesondere unter Kenntnis der Netzhautausgangstemperatur, eine Kalibrierung für absolute Temperaturwerte. Da 1000 optoakustische Signale pro Sekunde empfangen werden, erlaubt die Technik während einer 200ms langen Laserbestrahlung die Aufzeichnung des Netzhauttemperaturprofils mit 200 einzelnen Messwerten. Im Prinzip werden dabei Werte aufgezeichnet, die das Temperaturmittel im gesamten bestrahlten Gewebavolumen repräsentieren. Über die Wärmediffusionsgleichung lässt sich daraus die Temperatur an einer beliebigen Gewebelokalisation berechnen [16]. Wir geben in unseren Studien das Temperaturmaximum an, das räumlich im Zentrum der Bestrahlung auf Höhe des RPE auftritt und zeitlich jeweils am Ende der Bestrahlung erreicht wird.

Mittels der beschriebenen Technik konnten wir erstmals eine Temperaturbestimmung der menschlichen Netzhaut unter Photokoagulation durch-

Abbildung 4
 ■ Box-Whisker-Plots der funduskopischen (gelb) und OCT-Läsionsdurchmesser (blau) für 5 unterschiedliche, automatisch geregelte Herdintensitäten. »Unterschwellige« Läsionen sind am Fundus unsichtbar (medianer Durchmesser 0), aber im OCT sichtbar.



führen [16] und diese mit den induzierten morphologischen Änderungen korrelieren. Dafür wurden ca. 500 Einzelläsionen an 20 Patienten vermessen und mit klinischen Parametern wie etwa der Sichtbarkeit am Augenhintergrund, dem sichtbaren Läsionsdurchmesser, aber auch kategoriellen mikrostrukturellen Änderungen und dem Durchmesser in Bildern der optischen Kohärenztomographie (OCT) korreliert. Für schwache Herde, die am Augenfundus nicht sichtbar wurden, aber in der OCT strukturelle Veränderung zeigten – sog. »Sub-Threshold« Läsionen –, vermaßen wir im Tierversuch und am Menschen gleichermaßen Temperaturen von 60–65 °C. Funduskopisch sanfte Läsionen entstanden am Menschen bei Temperaturen von 70–85 °C, und bei kräftigen Läsionen, wie sie typischerweise bei Standardbehandlungen der peripheren Netzhaut erzeugt werden, lagen die Temperaturen bei 90 °C und deutlich höher [17].

Der laserinduzierte Netzhauttemperaturanstieg korreliert direkt mit dem erzeugten Schaden. Dieser Zusammenhang wird modellhaft durch die Arrheniustheorie beschrieben [18]. Danach ist der erzeugte Schaden eine Funktion aus der Höhe des Temperaturanstieges und aus der Zeitdauer, über die die Temperaturerhöhung auf das Gewebe einwirkt. Basierend auf der Arrheniustheorie entwickelten wir anhand der Messdaten von ca. 1000 Läsionen einen Algorithmus, der auf der Basis optoakustischer Temperaturdaten eine Anpassung der Bestrahlungszeit jeder Läsion in Echtzeit erlaubt ([19], **Abb. 3**). Mittels dieses Algorithmus lassen sich automatisch geregelt sanfte Läsionen mit gleichmäßigem, leistungsunabhängigem Durchmesser erzeugen, die die innere Nervenfaserschicht der Netzhaut zuverlässig histologisch schonen [11]. Eine Weiterentwicklung erlaubt die automatisch kontrollierte Erzeugung fünf unterschiedlicher Läsionsklassen, welche in sich hinsichtlich des mikrostrukturellen Schadens und des Läsionsdurchmessers homogen sind. Die sanftesten dieser Läsionen sind Sub-Threshold Läsionen, welche sich auf herkömmliche Art und Weise nicht zuverlässig erzeugen lassen (**Abb. 4**).

Diese automatisch geregelte, minimal-invasive Photokoagulation der Netzhaut wurde im Tierversuch erfolgreich eingesetzt. Die Übertragung auf Patienten steht kurz bevor. Sie wird es erstmals erlauben, die Photokoagulationsintensität zu standardisieren und damit den Zusammenhang zwischen minimal nötiger Behandlung und Wirksamkeit zu erforschen. Die Behandlungsrichtlinien könnten dann so modifiziert werden, dass in Zukunft unnötige Nebenwirkungen, insbesondere Schmerz, Skotombildung und progressive Netzhautvernarbung, zuverlässig vermieden werden können.

LITERATUR

1. Meyer-Schwickerath G. [Light coagulation; a method for treatment and prevention of the retinal detachment]. *Albrecht Von Graefes Arch Ophthalmol.* 1954; 156 (1): 2–34.
2. Shah A. M., Bressler N. M., Jampol L. M. Does laser still have a role in the management of retinal vascular and neovascular diseases? *Am. J. Ophthalmol.* 2011; 152 (3): 332–339.e1.
3. Framme C., Roeder J., Brinkmann R., Birngruber R., Gabel V.-P. Basic principles and clinical application of retinal laser therapy. *Klin Monbl Augenheilkd.* 2008; 225 (4): 259–68.
4. Stefánsson E. Ocular oxygenation and the treatment of diabetic retinopathy. *Surv Ophthalmol.* 2006; 51 (4): 364–80.
5. Fong D. S., Girach A., Boney A. Visual side effects of successful scatter laser photocoagulation surgery for proliferative diabetic retinopathy: a literature review. *Retina* 2007; 27 (7): 816–24.
6. Roeder J., Liew S. H. M., Klatt C., Elsner H., Poerksen E., Hillenkamp J., et al. Selective retina therapy (SRT) for clinically significant diabetic macular edema. *Graefes Arch. Clin. Exp. Ophthalmol.* 2010; 248 (9): 1263–72.
7. Koinzer S., Elsner H., Klatt C., Pörksen E., Brinkmann R., Birngruber R., et al. Selective retina therapy (SRT) of chronic subfoveal fluid after surgery of rhegmatogenous retinal detachment: three case reports. *Graefes Arch. Clin. Exp. Ophthalmol.* 2008; 246 (10): 1373–8.
8. Lavinsky D., Cardillo J. A., Melo L. A. S. Jr., Dare A., Farah M. E., Belfort R. Jr. Randomized Clinical Trial Evaluating mETDRS versus Normal or High-Density Micropulse Photocoagulation for Diabetic Macular Edema. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 2011; 52 (7): 4314–23.
9. Bandello F., Brancato R., Menchini U., Virgili G., Lanzetta P., Ferrari E., et al. Light panretinal photocoagulation (LPRP) versus classic panretinal photocoagulation (CPRP) in proliferative diabetic retinopathy. *Semin Ophthalmol.* 2001; 16 (1): 12–8.
10. Roeder J., Brinkmann R., Wirbelauer C., Laqua H., Birngruber R. Retinal sparing by selective retinal pigment epithelial photocoagulation. *Arch. Ophthalmol.* 1999; 117 (8): 1028–34.
11. Koinzer S., Schlott K., Ptaszynski L., Bever M., Kleemann S., Saeger M., et al. Temperature controlled retinal photocoagulation – a step toward automated laser treatment. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 2012; 53 (06): 3605–14.
12. Palanker D., Lavinsky D., Blumenkranz M. S., Marcellino G. The impact of pulse duration and burn grade on size of retinal photocoagulation lesion: implications for pattern density. *Retina* 2011; 31 (8): 1664–9.
13. Weinberg W., Gabel V.-P., Birngruber R., Lorenz B., Müller W. [Time Sequence of the White Hue Correlated with the Extent of Damage in Photocoagulation of the Retina.] *Ber Dtsch Ophthalmol Ges.* 1981; 78: 603–6.
14. Birngruber R., Gabel V. P., Hillenkamp F. Fundus reflectometry: a step towards optimization of the retina photocoagulation. *Mod Probl Ophthalmol.* 1977; 18: 383–90.

15. Schuele G., Elsner H., Framme C., Roider J., Birngruber R., Brinkmann R. Optoacoustic real-time dosimetry for selective retina treatment. *J. Biomed. Opt.* 2005; 10 (6).
16. Brinkmann R., Koinzer S., Schlott K., Ptaszynski L., Bever M., Baade A., et al. Real-time temperature determination during retinal photocoagulation on patients. *J. Biomed Opt.* 2012; 17 (6): 061219.
17. Koinzer S., Schlott K., Portz L., Ptaszynski L., Baade A., Bever M., et al. Correlation of temperature rise and optical coherence tomography characteristics in patient retinal photocoagulation. *J Biophotonics* 2012; 5 (11–12): 889–902.
18. Birngruber R., Hillenkamp F., Gabel V.P. Theoretical investigations of laser thermal retinal injury. *Health Phys.* 1985; 48 (6): 781–96.
19. Schlott K., Koinzer S., Ptaszynski L., Bever M., Baade A., Roider J., et al. Automatic temperature controlled retinal photocoagulation. *J Biomed Opt.* 2012; 17 (6): 061223.



Dr. med. Stefan Koinzer, Jahrgang 1973, ist Funktionsoberarzt der Klinik für Ophthalmologie des Universitätsklinikums Schleswig-Holstein (UK S-H), Campus Kiel (Direktor: Prof. Dr. J. Roider). Nach der Schulausbildung am Engelsburggymnasium in Kassel, der Heritage Christian High School in Michigan, USA, und dem Jakob-Grimm Oberstufengymnasium in Kassel studierte er in Kiel Humanmedizin. Die Facharztausbildung absolvierte er in Offenburg und Kiel, wo er 2006 promovierte und 2009 die Anerkennung zum Facharzt für Augenheilkunde erlangte. Im Jahr 2010 wurde ihm das Zertifikat für Ophthalmopathologie der deutschen ophthalmologischen Gesellschaft verliehen. Er arbeitete für 3 Jahre als wissenschaftlicher Mitarbeiter an der Entwicklung der automatisch kontrollierten

Photokoagulation. Dr. Koinzer leitet das ophthalmopathologische Labor der Klinik und arbeitet klinisch-wissenschaftlich u.a. an Photokoagulationslasern und moderner retinaler Bildgebung mittels OCT.

FÖRDERUNGEN UND AUSZEICHNUNGEN

Dr. Koinzer wurde für die Präsentation seiner Promotionsarbeit 2002 mit dem Posterpreis der deutschen Ophthalmologischen Gesellschaft und 2006 mit der Sechenov-Goldmedaille der Sechenov Moscow Medical Academy ausgezeichnet. Die medizinische Fakultät der Christian-Albrechts-Universität förderte seine Arbeiten mit einer intramuralen Juniorförderung und einer intramuralen Anschubfinanzierung in den Jahren 2007 und 2009. In den Jahren 2009–2012 arbeitete er in einem BMBF-geförderten Wissenschaftsverbund (»AutoPhoN«), welcher im Rahmen des BMBF-Innovationspreises Medizintechnik 2006 gefördert wurde, gemeinsam mit dem Medizinischen Laserzentrum Lübeck, dem Institut für biomedizinische Optik der Universität zu Lübeck und der Fa. Carl Zeiss Meditec AG. Mehrere Arbeiten aus dem AutoPhoN-Projekt und aus dem ophthalmopathologischen Labor der Klinik wurden mit Vortrags- und Posterpreisen der Vereinigung Norddeutscher Augenärzte und der Deutschen Ophthalmologischen Gesellschaft prämiert.

KONTAKT



Dr. med. Stefan Koinzer
 Funktionsoberarzt der
 Klinik für Ophthalmologie
 UK S-H Campus Kiel
 Haus 25
 Arnold-Heller-Straße 3
 24105 Kiel
 Telefon: 0431 597-4697
 Telefax: 0431 597-2428
 E-Mail: koinzer@auge.uni-kiel.de



MEDIZIN

for
forschung

Exzellenzforschung in der Medizin



Neue bildgebende Verfahren in der Medizin

Ausgabe 4 | 2013

ISSN 2191-9003

Erscheinung
1x jährlich

EXZELLENZFORSCHUNG
IN DER MEDIZIN

Ein Kooperationsprojekt der Informationszentrale des Instituts für Wissenschaftliche Veröffentlichungen (IWV) mit der ALPHA Informationsgesellschaft mbH und dem Institut für Bildungs- und Wissenschaftsdienste (IBW)

Informationen erhalten Sie unter:
info@institut-wv.de | www.institut-wv.de
www.alphapublic.de | www.bw-dienste.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 INFORMATIONSORGAN AUF DEM LEBENSMITTELSEKTOR

Fordern Sie ein kostenloses Probeexemplar an!

Telefon 06206/939-210 Fax-Order 06206/939-243



AKTUELLE INFORMATIONEN
ÜBER LEBENSMITTEL
UND BEDARFSGEGENSTÄNDE,
CHEMIE, RECHT, HYGIENE,
PRODUKTION UND
QUALITÄTSKONTROLLE,
MESSEBERICHTE
UND VERANSTALTUNGEN

Ja, ich möchte die Fachzeitschrift »ernährung aktuell« kennen lernen. **Ich erhalte die aktuelle Ausgabe kostenlos und unverbindlich.** Wenn ich die Fachzeitschrift danach nicht weiter lesen möchte, genügt nach Erhalt der Ausgabe eine kurze schriftliche Nachricht; ansonsten erhalte ich zu einem Jahresbezugspreis von EUR 29,00 (Inland – Ausland auf Anfrage) 6 Ausgaben jährlich – inkl. MWSt. Porto und Versandkosten – von **LID Lebensmittel-Informations-Dienst GmbH, Finkenstraße 10, 68623 Lampertheim** zugesandt.

Name / Vorname

Firma (oder Firmenstempel)

Straße / Postfach

PLZ / Ort

Datum

Unterschrift

WIDERRUFSRECHT: Ich habe davon Kenntnis genommen, dass ich die Bestellung schriftlich durch Mitteilung an LID Lebensmittel-Informations-Dienst GmbH, Finkenstraße 10, 68623 Lampertheim innerhalb von 7 Tagen widerrufen kann. Zur Fristwahrung genügt die rechtzeitige Absendung des Widerrufs (Datum des Poststempels).

Datum

Unterschrift

Zelluläre Regulation des Vascular Endothelial Growth Factor

PROF. DR. ALEXA KLETTNER, PROF. DR. JOHANN ROIDER

Der Wachstumsfaktor *Vascular Endothelial Growth Factor* ist ein unverzichtbarer Botenstoff für die Angiogenese. In der Embryonalentwicklung nimmt dieser Faktor eine so herausragende Stellung ein, dass schon der Ausfall eines Allels dieses Gens mit dem Leben nicht vereinbar ist [1]. Im erwachsenen Organismus ist dieser Faktor ein wichtiger Bestandteil für die pathologische Angiogenese, wie sie bei Tumoren aber auch bei okulären Neovaskularisationen zu finden ist. In der Ophthalmologie ist daher die Inhibition von VEGF seit einigen Jahren eine wichtige Therapieform, insbesondere bei der Behandlung der altersabhängigen Makuladegeneration (AMD), aber auch beim diabetischen Makulaödem oder bei retinalen Venenverschlüssen [2]. Die verwendeten VEGF-Antagonisten (Ranibizumab, Aflibercept, Bevacizumab) werden dabei intravitreal injiziert und binden spezifisch das in der Retina vorhandene extrazelluläre VEGF, welches nun nicht mehr an seinen Rezeptor binden und keinen Effekt mehr ausüben kann [3].

Die Wirkung von VEGF wird über seine Bindung an Rezeptortyrosinkinasen vermittelt. VEGF besitzt dabei zwei Rezeptoren, den VEGFR-1 und den VEGFR-2, die sich in Affinität und Wirkung unterscheiden. Während VEGFR-1 als hochaffiner Rezeptor für VEGF gilt, ist seine genaue Funktion bei der Angiogenese nicht geklärt und wird, zumindest in seiner löslichen Form, auch als regulierender Rezeptor verstanden. Die angiogene, aber auch die protektive Wirkung von VEGF wird dagegen über den VEGFR-2 vermittelt [4]. Nach Bindung von VEGF dimerisiert der Rezeptor, so dass es zu Phosphorylierungen verschiedener Tyrosinkinasereste kommt. Die Phosphorylierung dieser Tyrosinkinasereste induziert nun verschiedene Signaltransduktionaskaden, die zu den Wirkungen von VEGF führen, z. B. Migration, Proliferation oder auch Protektion [5].

VEGF hat in der Retina verschiedene Aufgaben. In der Entwicklung des Auges ist es unerlässlich für die Entwicklung des retinalen und choroidalen Gefäßsystems [6]. Für das choroidale Gefäßsystem ist insbesondere die Expression von VEGF durch das retinale Pigmentepithel (RPE) essentiell

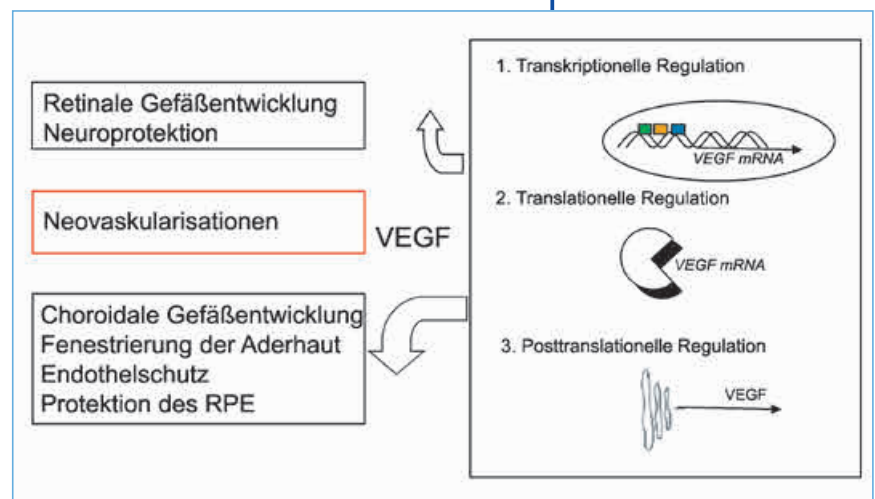
[7]. Auch im erwachsenen Organismus kommen VEGF physiologische Aufgaben zu. VEGF unterhält die Fenestrierung der Choriokapillaris der Aderhaut, die wiederum wichtig für die Versorgung der Photorezeptoren ist, und hat einen schützenden Effekt auf Endothelzellen [8, 9]. Weiterhin hat es neuroprotektive Effekte und wirkt ebenfalls schützend auf Müllerzellen und das RPE, insbesondere bei oxidativem Stress [10, 11, 12] (**Abbildung 1**). VEGF wird im Augenhintergrund von einer Reihe von Zellen exprimiert, z. B. den Ganglienzellen und Müllerzellen der Retina. Eine wichtige Quelle für VEGF im Augenhintergrund sowohl in der Entwicklung als auch im erwachsenen Organismus ist das retinale Pigmentepithel.

Das RPE ist ein einschichtiges Epithel, welches auf der Bruch'schen Membran oberhalb der Aderhaut lokalisiert ist und viele Aufgaben zur Versorgung der Photorezeptoren und der Aufrechterhaltung des Sehvorganges hat [13]. VEGF wird durch das RPE konstitutiv exprimiert und ausgeschüttet [14]. Die Expression und Sekretion von VEGF ist dabei durch äußere Einflüsse induzierbar, z. B. durch Hypoxie oder oxidativen Stress [15, 16]. Die Erhöhung der VEGF Expression und Sekretion durch externe Faktoren wird als wichtiger Faktor für die Induktion von choroidalen Neovaskularisationen bei der AMD diskutiert [17].

Klinik für Ophthalmologie
Universitätsklinikum
Schleswig-Holstein,
Campus Kiel

Abbildung 1

■ *Aufgaben und Regulation von VEGF. Die physiologischen Aufgaben von VEGF in der Retina umfassen die retinale und choroidale Gefäßentwicklung, die Protektion der Neuroretina, des Endothels und des retinalen Pigmentepithels sowie die Aufrechterhaltung der Fenestrierung der Aderhaut. In pathologischen Situationen ist dagegen VEGF an der Ausbildung von Neovaskularisationen beteiligt. Die Expression und Sekretion von VEGF wird auf der transkriptionellen, translationellen und posttranslationellen Ebene reguliert.*



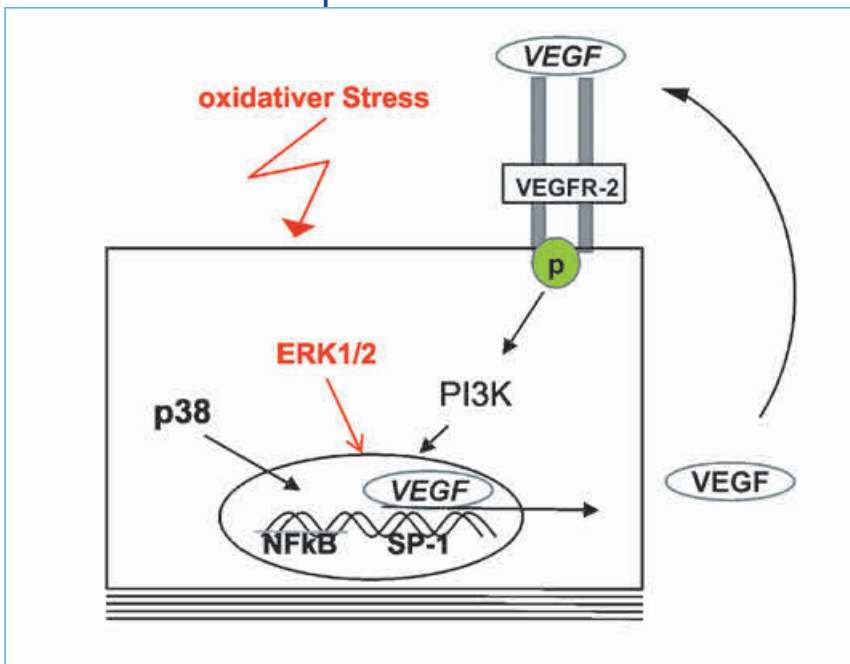


Abbildung 2

■ Konstitutive Regulation von VEGF in retinalen Pigmentepithel (RPE). Für die transkriptionelle Kontrolle von VEGF im RPE sind die Transkriptionsfaktoren NFκB und SP-1 verantwortlich. Außerdem wird VEGF über p38 reguliert und es findet eine autokrine Regulation über den VEGFR-2 und die PI3K statt. Bei oxidativen Stress wird die MAPK ERK1/2 aktiv.

In unserem Labor untersuchen wir die Regulation der Expression von VEGF unter konstitutiven Verhältnissen sowie unter induzierenden Stimulationen. Dabei ist von besonderem Interesse, inwieweit sich die konstitutive von der induzierten VEGF Sekretion unterscheidet, da so Möglichkeiten aufgezeigt werden können, diese von jener zu differenzieren und gezielte Therapien zu entwickeln, bei der die pathologische, aber nicht die physiologische VEGF Sekretion inhibiert wird und so die wichtigen protektiven Eigenschaften von VEGF, die gerade in einer geschädigten Retina von Bedeutung sind, trotz Therapie zu erhalten.

Die VEGF Expression, ob konstitutiv oder durch externe Faktoren induziert, wird auf verschiedenen Ebenen reguliert. Verschiedene Transkriptionsfaktoren, z. B. *Hypoxia Inducible Factor* (HIF), Sp1 oder NFκB regulieren die Expression von VEGF auf transkriptioneller Ebene bei der Ablesung der DNA [18]. Diese Transkriptionsfaktoren können wiederum durch Proteinmodifikationen, z. B. durch Mitogen-aktivierte Proteinkinase (MAPK), reguliert werden. Auf translationeller Ebene wird die VEGF Expression ebenfalls reguliert, insbesondere durch Faktoren, die die Stabilität der RNA beeinflussen. Auch hier spielen MAPK eine wichtige Rolle [19]. Die Sekretion des exprimierten VEGF wird weiterhin posttranslational reguliert, z. B. über Chaperone, die eine Sekretion begünstigen oder das VEGF im endoplasmatischen Retikulum zurückhalten können [20, 21] (**Abbildung 1**).

In unseren Studien haben wir die konstitutive Expression von VEGF im RPE und in der RPE/Aderhaut untersucht. Dabei konnten wir feststellen, dass von den verschiedenen Transkriptionsfaktoren, die wir untersucht haben, Sp1, HIF1, Stat3 und

NFκB, die Inhibition von NFκB zu einer Reduktion der konstitutiven VEGF Sekretion führt, was stark darauf hindeutet, dass NFκB an der konstitutiven VEGF Regulation beteiligt ist. Auch SP1 ist, wenn auch in einem geringeren Maße, beteiligt [22].

Wichtige regulatorische Proteine in der Zelle sind die MAPK, die eine Vielzahl von Substraten phosphorylieren und damit regulieren können. Die wesentlichen MAPK sind die c-Jun terminale Kinase (JNK), die *extracellular signal-regulated kinase* (ERK1/2), und p38. Wir konnten nachweisen, dass p38 an der konstitutiven VEGF Regulation beteiligt ist, da die Inhibition von p38 VEGF reduziert. Interessanterweise ist diese Regulation unabhängig von NFκB, da die gleichzeitige Inhibition beider Substanzen zu einem additiven Effekt bei der Verminderung von VEGF führt [22, 23].

In Arbeiten zur Wirksamkeit von VEGF Inhibitoren in Bezug auf RPE Zellen konnten wir feststellen, dass die Gabe von VEGF Antagonisten nicht nur zu einer Bindung des extrazellulären VEGF, sondern auch zu einer Reduktion der VEGF Expression im retinalen Pigmentepithel führt [24]. Wir haben daraufhin die Autoregulation von VEGF durch das RPE über den VEGFR-2 untersucht, der sowohl die angiogenen als auch die protektiven Effekte von VEGF vermittelt. Die Signaltransduktionskaskade, die der Aktivierung des Rezeptors folgt, kann je nach Phosphorylierung verschiedener Aminosäurereste über unterschiedliche Wege verlaufen, z. B. über p38, Phosphatidylinositol 3 Kinase (PI3K) oder Phospholipase C (PLC). Wir haben den Einfluss von VEGFR-2, PI3K und PLC auf die Expression und Sekretion von VEGF untersucht und konnten zeigen, dass VEGF tatsächlich langfristig über den VEGFR-2 reguliert wird. Der intrazelluläre Signalweg geht dabei über PI3K. PLC zeigt dagegen nur einen untergeordneten Einfluss [22]. Zusammenfassend können wir feststellen, dass die konstitutive VEGF Regulation durch den Transkriptionsfaktor NFκB, durch die MAPK p38 und über den VEGFR-2 reguliert wird (**Abbildung 2**).

VEGF kann im RPE durch verschiedene Faktoren induziert werden. Wir haben die Expression von VEGF im RPE unter oxidativen Stress untersucht, der als wichtiger Faktor für die Entstehung einer AMD diskutiert wird [25]. Dabei konnten wir einen Anstieg von VEGF nachweisen, der durch die MAPK ERK1/2 reguliert wird [23]. Unsere Ergebnisse wurden durch eine andere Arbeitsgruppe bestätigt, die feststellte, dass ERK1/2 für einen kurzfristigen VEGF Anstieg verantwortlich ist, während eine langanhaltende Erhöhung von VEGF über andere Signalwege reguliert wird [26]. Eine differenzierte Regulation von physiologischen und pathologischen VEGF über verschiedene MAPK, p38 für physiologisches VEGF und ERK1/2 für pathologisches VEGF, wäre als Ansatz für eine gezielte Behandlung von pathologischem VEGF

sehr reizvoll, da so die physiologische Funktionen von VEGF erhalten werden könnten. Allerdings zeigten weitere Studien, dass die Beteiligung von ERK1/2 an der VEGF Regulation nicht für alle durch uns untersuchten Stimuli nachweisbar ist. Bei einem Hyperthermie-induzierten VEGF-Anstieg fanden wir die Beteiligung sowohl von p38 als auch von JNK [27], während bei einem VEGF-Anstieg durch die Aktivierung des *Toll-like* Rezeptors 3 eine Beteiligung der MAPK nicht nachzuweisen war [28]. Die Regulationsmechanismen für den Anstieg von VEGF sind Stimulus abhängig und können nicht für unterschiedliche extrazelluläre Faktoren verallgemeinert werden. Weiter Untersuchungen werden durchgeführt, um die zelluläre Regulation von VEGF durch das retinale Pigmentepithel besser zu verstehen. Insbesondere die Regulation unterschiedlicher VEGF Isoformen, von denen eine Untergruppe sogar anti-angiogene Effekte aufzeigt [29], in Abhängigkeit verschiedener pathologisch relevanter Stimulationen benötigt umfassende Untersuchungen, um so bessere Möglichkeiten für eine zielgerichtete und möglichst schonende anti-VEGF Therapie zu entwickeln.

LITERATUR

- Carmeliet P., Ferreira V., Breier G., Pollefeyt S., Kieckens L., Gertsenstein M., Fahrig M., Vandenhoeck A., Harpal K., Eberhardt C., Declercq C., Pawling J., Moons L., Collen D., Risau W., Nagy A. Abnormal blood vessel development and lethality in embryos lacking a single VEGF allele. *Nature* 1996; 380: 435–439.
- Miller J.W., Le Couter J., Strauss E.C., Ferrara N. Vascular endothelial growth factor A in intraocular vascular disease. *Ophthalmology* 2013; 120: 106–114.
- Klettner A., Roider J. Treating age-related macular degeneration – interaction of VEGF antagonists with their target. *Mini Rev Med Chem* 2009; 9: 1127–1135.
- Witmer A.N., Vrensen G.F., Van Noorden C.J., Schlingemann R.O. Vascular endothelial growth factors and angiogenesis in eye disease. *Prog Ret Eye Res* 2003; 22: 1–29.
- Ehrlich R., Harris A., Ciulla T.A., Kheradiya N., Winston D.M., Wroostko B. Diabetic macular oedema: physical, physiological and molecular factors contribute to this pathological process. *Acta Ophthalmol* 2010; 88: 279–291.
- Klettner A. Physiological function of VEGF in the retina and its possible implications of prolonged anti-VEGF therapy. In: *Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF): Biology, Regulation and Clinical Significance*. Edt. Marcellus L. Parker, Nova Science Publisher, New York, 2013; p. 117–136.
- Marneros A.G., Fan J., Yokoyama Y., Gerber H.P., Ferrara N., Crouch R.K., Olsen B.R. Vascular endothelial growth factor expression in the retinal pigment epithelium is essential for choriocapillaris development and visual function. *Am J Pathol* 2005; 167: 1451–1459.
- Peters S., Heiduschka P., Julien S., Ziemssen F., Fietz H., Bartz-Schmidt K.U., Tübingen Bevacizumab Study Group, Schraermeyer U. Ultrastructural findings in the primate eye after intravitreal injection of bevacizumab. *Am J Ophthalmol* 2007; 143: 995–1002.
- Gerber H.P., McMurtrey A., Kowalski J., Yan M., Keyt B.A., Dixit V., Ferrara N. Vascular endothelial growth factor regulates endothelial cell survival through the phosphatidylinositol 3'kinase/Akt signal transduction pathway. *J Biol Chem* 1998; 273: 30336–30343.
- Saint-Geniez M., Maharaj A.S.R., Walshe T.E., Tucker B.A., Sekiyama E., Kurihara T., Darland D.C., Young M.J., D'Amore P.A. Endogenous VEGF is required for visual function: Evidence for a survival role on Müller cells and photoreceptors. *PLoS One* 2008; 3: 1–13.
- Byeon S., Lee S., Choi S., Lee H., Lee J., Chu Y., Kwon O. Vascular endothelial growth factor as an autocrine survival factor for retinal pigment epithelial cells under oxidative stress via the VEGF-R2/PI3K/Akt. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2010; 51: 1190–1197.
- Kilic Ü., Kilic E., Järve A., Guo Z., Spudich A., Bieber K., Barzena U., Basseti C.L., Marti H.H., Hermann, D.M. Human vascular endothelial growth factor protects axotomized retinal ganglion cells in vivo by activating Erk1/2 and Akt pathways. *J Neurosci* 2006; 26: 12439–12446.
- Strauss O. The retinal pigment epithelium in visual function. *Physiol Rev* 2005; 85: 845–881.
- Adamis A.P., Shima D.T., Yeo K.T., Brown L.F., Berse B., D'Amore P.A., Folkman J. Synthesis and secretion of vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor by human retinal pigment epithelial cells. *Biochem Biophys Res Commun* 1993; 193: 631–637.
- Young T.A., Wang H., Munk S., Hammoudi D.S., Young D.S., Mandelcom M.S., Whiteside C.I. Vascular endothelial growth factor expression and secretion by retinal pigment epithelial cells in high glucose and hypoxia is protein kinase C-dependent. *Exp Eye Res* 2005; 80: 651–662.
- Kannan R., Zhang N., Sreekumar P., Spee C., Rodriguez A., Barron E., Hinton D. Stimulation of apical and basolateral vascular endothelial growth factor-A and vascular endothelial growth factor-C secretion by oxidative stress in polarized retinal pigment epithelial cells. *Mol Vis* 2006; 12: 1649–1659.
- Ma W., Lee S.E., Guo J., Qu W., Hudson B.I., Schmidt A.M., Barile G.R. RAGE ligand upregulation of VEGF secretion in Arpe19 cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2007; 48: 1355–1361.
- Tischer E., Mitchell R., Hartman T., Silva M., Gospodarowicz D., Fiddes J.C., Abraham J.A. The human gene for vascular endothelial growth factor. Multiple protein forms are encoded through alternative exon splicing. *J Biol Chem* 1991; 266: 11947–11954.
- Pages G., Pouyssegur J. Transcriptional regulation of the Vascular Endothelial Growth Factor gene – a concert of activating factors. *Cardiovasc Res* 2005; 65: 564–573.
- Ozawa K., Tsukamoto Y., Hori O., Kitao Y., Yanagi H., Stern D.M., Ogawa S. Regulation of tumor angiogenesis by oxygen-regulated protein 150, an inducible endoplasmic reticulum chaperone. *Canc Res* 2001; 61: 4206–4213.

21. Klettner A., Roeder J. Mechanisms of Pathological VEGF Production in the Retina and Modification with VEGF-Antagonists. In: Stratton R., Hauswirth W., Gardner T., editors. Oxidative Stress in Applied Basic Research and Clinical Practice. Humana Press; 2012; p. 277–307.
22. Klettner A., Westhues D., Lassen J., Bartsch S., Roeder J. Regulation of constitutive VEGF secretion in RPE/choroid organ cultures: p38, nuclear factor kappaB, and the VEGFR-2/PI3K pathway. *Mol Vis* 2013; 19: 281–291.
23. Klettner A., Roeder J. Constitutive and oxidative-stress-induced expression of VEGF in the RPE are differently regulated by different Mitogen-activated protein kinases. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2009; 247: 1487–1492.
24. Klettner A., Roeder J. Comparison of bevacizumab, ranibizumab, and pegaptanib in vitro: efficiency and possible additional pathways. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2008; 49: 4523–4527.
25. Jarrett S.G., Boulton M.E. Consequences of oxidative stress in age-related macular degeneration. *Mol Aspects Med* 2012; 33: 399–417.
26. Kunchithapautham K., Rohrer B. Sublytic membrane-attack-complex (MAC) activation alters regulated rather than constitutive vascular endothelial growth factor (VEGF) secretion in retinal pigment epithelium monolayers. *J Biol Chem* 2011; 286: 23717–23724.
27. Klettner A., Faby H., Hillenkamp J., Roeder J. Temperature-dependent vascular endothelial growth factor (VEGF) induction in human retinal pigment epithelium – implications for transpupillary thermotherapy in melanoma. *Acta Ophthalmol* 2012; 90: s249.
28. Klettner A., Koizner S., Meyer T., Roeder J. Toll-like receptor 3 activation in retinal pigment epithelium cells – MAPK pathways of cell death and vascular endothelial growth factor secretion. *Acta Ophthalmol* 2013; 91:e211–218.
29. Hua J., Spee C., Kase S., Rennel E.S., Magnussen A.L., Qiu Y., Varey A., Dhayade S., Churchill A.J., Harper S.J., Bates D.O., Hinton D.R. Recombinant human VEGF165b inhibits experimental choroidal neovascularization. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2010; 51: 4282–4288.



Prof. Dr. rer. nat. Alexa Klettner, Jahrgang 1973, ist Professorin für Experimentelle Retinologie an der Christian-Albrecht Universität zu Kiel in der Augenlinik des Universitätsklinikums (Direktor: Prof. Dr. Johann Roeder). Nach dem Erlangen des amerikanischen und deutschen Abiturs studierte sie in Biologie an der Kieler Universität und promovierte im Institut für Pharmakologie, an dem sie anschließend im Rahmen des SFB415 an neurodegenerativen Mechanismen arbeitete. Nach einer Familienzeit übernahm sie 2006 die Leitung des Labors der Augenlinik am Universitätsklinikum in Kiel. Sie habilitierte 2011 über den Vergleich verschiedener VEGF-Antagonisten und wurde 2013 auf die Forschungsprofessur für Experimentelle Retinologie an die Christian-Albrecht-Universität berufen. Ihr Forschungsinteresse gilt den zellulären Aspekten der Pathogenese und Therapie der altersabhängigen Makuladegeneration (AMD), insbesondere in Bezug auf das retinale Pigmentepithel. Schwerpunkte sind die Regulation von

VEGF, die Wirkungen von VEGF-Inhibitoren und die Interaktion des RPE mit dem angeborenen Immunsystem.

FÖRDERUNGEN UND AUSZEICHNUNGEN

Prof. Klettner bekam 2007 den Forschungsförderpreis der DOG für innovative wissenschaftliche Projekte in der Augenheilkunde für die Untersuchung von Wirkmechanismen und der Wirksamkeit von VEGF-Inhibitoren. Für diese Untersuchungen bekam sie 2010 außerdem den Preis der DOG für innovative Entwicklungen und therapeutische Ansätze bei der AMD. Im Rahmen einer intramuralen Förderung wurden 2007/2008 ihre Arbeiten zur VEGF Regulation unterstützt. Sie bekam 2009 erneut den Forschungsförderpreis der DOG für innovative wissenschaftliche Projekte für eine Studie über den Einfluss von TLR3-Aktivierung des RPE auf Makrophagen und wurde 2011/2012 intramural für Untersuchungen über die Interaktion des RPE mit Mikrogliazellen unterstützt. Seit 2012 unterstützt die DFG ihre Untersuchungen über die Aufnahmemechanismen von VEGF-Antagonisten in das retinale Pigmentepithel. In dem Jahr erhielt Prof. Klettner außerdem zusammen mit Prof. Hillenkamp und PD Dr. Treumer den Leonhard-Klein Preis zur Förderung der Augenchirurgie für die Entwicklung eines neuen minimal-invasiven chirurgischen Verfahrens. Prof. Klettner erhält ebenfalls Forschungsförderung durch die Novartis Pharma GmbH und durch die Werner-und-Klara Kreitz Stiftung.

KONTAKT



Prof. Dr. Alexa Klettner
 UK S-H, Campus Kiel
 Augenlinik
 Arnold-Heller-Straße 3, Haus 25
 24105 Kiel
 Telefon: 0431 597-2401
 Telefax: 0431 597-2428
 E-Mail: aklettner@auge.uni-kiel.de



Die **TECNIS**[®] IOL Familie:

Bewährte Leistung und erwiesene Resultate.
Unbezahlbare innere Ruhe.



TECNIS[®]
IOL FAMILIE



Vorgeladen Multifokal Torisch Multifokal Torisch Monofokal

AMO Germany GmbH • Rudolf-Plank-Straße 31 • 76275 Ettlingen • Deutschland
AMO Switzerland GmbH • Churerstrasse 160 B • CH-8808 Pfäffikon SZ • Schweiz

TECNIS ist eine Marke oder lizenzierte Marke von Abbott Laboratories, deren Tochtergesellschaften oder angegliederten Unternehmen.
© 2012 Abbott Medical Optics Inc. www.AbbottMedicalOptics.com 2012.10.30-CT6037-GER

 **Abbott**
A Promise for Life

Die individuelle Intraokularlinse – das Linsenimplantat der Zukunft?

PROF. DR. ACHIM LANGENBUCHER^{1,2}; DR. TIMO EPPIG¹;
PROF. DR. BERTHOLD SEITZ³; MARC KANNENGIESSER¹; DR. EDGAR JANUNTS¹

- 1 **Experimentelle Ophthalmologie**, Universität des Saarlandes, Homburg/Saar
- 2 **Erlangen Graduate School in Advanced Optical Technologies (SAOT)**, Erlangen
- 3 **Klinik für Augenheilkunde**, Universitätsklinikum des Saarlandes, Homburg/Saar

Die Hornhaut des menschlichen Auges ist in der Regel nicht sphärisch, sondern weist ein asphärisches (prolates) Design auf, das von einem regulären Astigmatismus sowie lokalen Irregularitäten überlagert sein kann. Aus den Augenmodellen, die auf der Basis repräsentativer Messdaten erstellt wurden, leitet sich ein durchschnittlicher Krümmungsradius der Vorder- und Rückfläche von 7,8 mm und 6,5 mm sowie eine Asphärizität von $-0,25$ für beide Flächen ab. Die Werte weichen je nach Augenmodell leicht voneinander ab [1, 12, 20]. Während in jungen Jahren die sphärische Aberration der Hornhaut teilweise durch eine entsprechende gegenläufige sphärische Aberration der natürlichen Augenlinse kompensiert wird [23, 24], so geht dieser Kompensationsmechanismus im Alter weitgehend verloren [3].

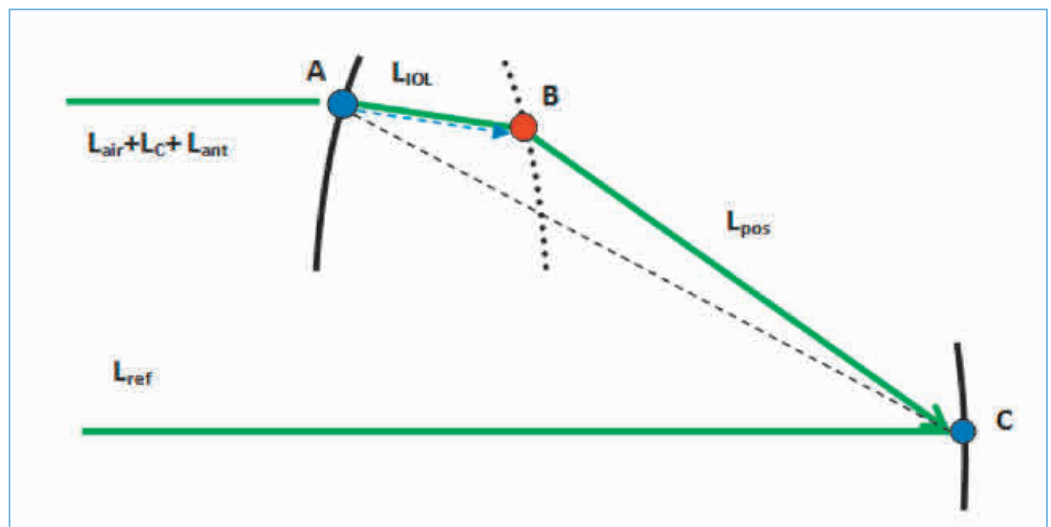
Bei der Kataraktchirurgie wird die getrübbte natürliche Augenlinse durch eine Kunstlinse ersetzt. Zur Verfügung stehen heute sphärische, sowie asphärische Oberflächendesigns, welche sich in aberrationsfreie und aberrationskorrigierende Varianten untergliedern. Die sphärischen Designs bringen zusätzliche sphärische Aberration in das optische System ein. Während sich die aberra-

tionsfreien Varianten neutral verhalten sollen, gleichen die aberrationskorrigierenden Designs die sphärische Aberration eines Auges mit einer durchschnittlichen Hornhautgeometrie (wie oben beschrieben) aus [11, 19]. Allerdings ist die Streuung der Hornhautasphärizitäten von Vorder- und Rückfläche immens [22, 23], so dass auch eine aberrationskorrigierende Kunstlinse nur in den wenigsten Fällen die Aberrationen der Hornhaut vollständig eliminieren kann. Somit verbleibt in der Regel speziell bei großer Pupille die sphärische Aberration im optischen System erhalten. Dies reduziert die Abbildungsqualität des Auges [10, 19].

Kunstlinsen mit individuellem Design bieten die Möglichkeit, genau auf den Patienten angepasst die sphärische Aberration wie auch andere optische Aberrationen des Auges zu eliminieren [4–6, 13, 14, 27]. Hier soll ein mathematisches Verfahren skizziert werden, mit dem die Geometrie einer derartigen auf den Patienten individuell zugeschnittenen Intraokularlinse berechnet werden kann. Dieses Verfahren wurde und wird im Rahmen eines durch das Bundesministerium für Wirtschaft und Technologie (BMWi, Zentrales

Abbildung 1

■ Individualisierung der Kunstlinsenrückfläche im Sinne einer Minimierung der optischen Weglängendifferenzen (Wellenfontoptimierung) vom Objekt zum Fokus (C): Der Schnittpunkt des Strahles mit der Linsenrückfläche (B) wird so gewählt, dass die optische Weglänge der eines vorab definierten Referenzstrahles L_{ref} gleich.



Innovationsprogramm Mittelstand, Förderkennzeichen KF2152003FR9) sowie durch das Ministerium für Wirtschaft und Wissenschaft des Saarlandes (MIWI, Förderkennzeichen I615000016) geförderten Forschungs- und Entwicklungsprojektes entwickelt.

Zur Vereinfachung wird hier bei der Skizzierung des Modells davon ausgegangen, dass sich alle refraktiven Grenzflächen im Auge durch eine Fläche zweiter Ordnung nachbilden lassen. Diese Flächen zweiter Ordnung (Quadriken) können beliebig verkippt oder dezentriert sein [16–18]. Die Vorgehensweise ist wie folgt:

- So werden die Rohdaten eines Hornhauttomographen (z. B. CASIA-1000 oder TMS-5 der Firma Tomey, Pentacam der Firma Oculus) isoliert und für die Hornhautvorder- und Rückfläche eine quadratische Fläche z. B. im Sinne einer Minimierung des mittleren absoluten Fehlers oder des mittleren Fehlerquadrates angenähert. Weiter wird die Hornhautdicke und Pupillengeometrie aus der tomographischen Messung extrahiert und bei der Simulation der Abbildungsgüte als Blendenfunktion verwendet.
- Ein Biometer misst Augenlänge, phake Vorderkammertiefe und ggf. Hornhautdicke. Aus der Augenlänge und der Vorderkammertiefe wird z. B. nach dem *Lens Haptic Plane Concept* (LHP) die Position des Äquators der Kunstlinse im Auge abgeschätzt. Die Brechungsindizes von Hornhaut, Kammerwasser und Glaskörper werden einem schematischen Augenmodell entnommen, für den Brechungsindex der Kunstlinse werden die Angaben des Herstellers des Linsenmaterials verwendet.
- Die Vorderfläche der individuellen Kunstlinse kann frei gewählt werden. In unserem Ansatz wird sie jedoch aus herstellungstechnischen Überlegungen als sphärische Grenzfläche ausgelegt, so dass in paraxialer Näherung ein equibikonvexes Linsendesign resultiert [14]. Aus dem Flächenbrechwert der Linsenvorderfläche wird die Linsendicke so abgeleitet, dass die mittlere Dicke der Linse am Optikrand einen vorgegeben Wert einnimmt.
- Ein repräsentatives Strahlenbündel (parallel oder divergent) wird auf die Hornhaut projiziert und durch beide Hornhautgrenzflächen sowie die Linsenvorderfläche verfolgt [2, 7, 15, 21]. Die Brechung an jeder Grenzfläche erfolgt nach dem Brechungsgesetz von Snellius. Bei Grenzflächen zweiter Ordnung lässt sich die Berechnung der lokalen Flächennormalen sowie die Richtung des gebrochenen Strahles sehr einfach in einem geschlossenen Ausdruck darstellen [13, 14]. Für jeden Strahl im

Strahlenbündel wird die optische Weglänge ausgehend vom Objekt (z. B. Ebene senkrecht zur Strahlrichtung bei einem parallelen Strahlbündel stellvertretend für ein Objekt im Unendlichen oder Objektpunkt vor dem Auge bei einem divergenten Strahlbündel für ein Objekt im Endlichen) bis zum Schnittpunkt mit der Linsenvorderfläche ermittelt.

- Für jeden Strahl wird ein fiktiver Schnittpunkt mit der Linsenrückfläche definiert, bei dem die gesamte optische Weglänge vom Objekt zum frei gewählten Fokuspunkt auf der Netzhaut (in der Regel die Stelle des schärfsten Sehens) der optischen Weglänge eines Referenzstrahles entspricht (**siehe Abbildung 1**). Als Referenzstrahl kann z. B. der Mittenstrahl des optischen Strahlbündels gewählt werden.
- An die fiktiven Schnittpunkte mit der Linsenrückfläche (Punktewolke) wird eine Grenzfläche zweiter Ordnung (Quadrik) angeschmiegt und damit eine individuelle Linsengrenzfläche definiert.
- Für die Modellierung der Abbildungsgüte kann nun für verschiedene Pupillendurchmesser (z. B. auch für die aus der Tomographiemessung extrahierte Pupillengeometrie) die Punkt-bildverwaschungsfunktion (PSF) auf der Netzhaut durch Raytracing (vorwärts) oder auch die zu erwartende Wellenfront durch inverses Raytracing ausgehend von einem vom Fokus ausgehenden divergenten Strahlenbündel (rückwärts) bestimmt werden.

Abbildung 2a zeigt das mit den tomographischen Messungen der Hornhautvorder- und Rückfläche sowie der Pupillengeometrie und den biometrischen Messdaten individualisierte Augenmodell eines Beispielpatienten. Die beiden refraktiven Grenzflächen der Hornhaut wurden dabei durch Flächen zweiter Ordnung dargestellt und für die Vorderfläche der Kunstlinse wurde ein sphärisches Design auf der Basis eines equibikonvexen

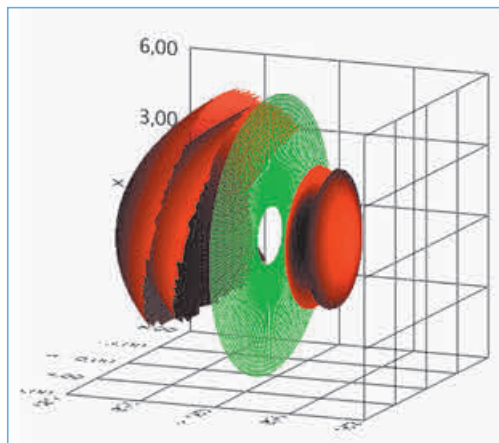


Abbildung 2a

■ Individualisiertes 3D Augenmodell eines Beispielpatienten: Die Modelldaten der beiden Hornhautflächen, die Pupillengeometrie sowie alle Teilstrecken im Auge entsprechen Patientendaten, durch das Biometer gemessen.

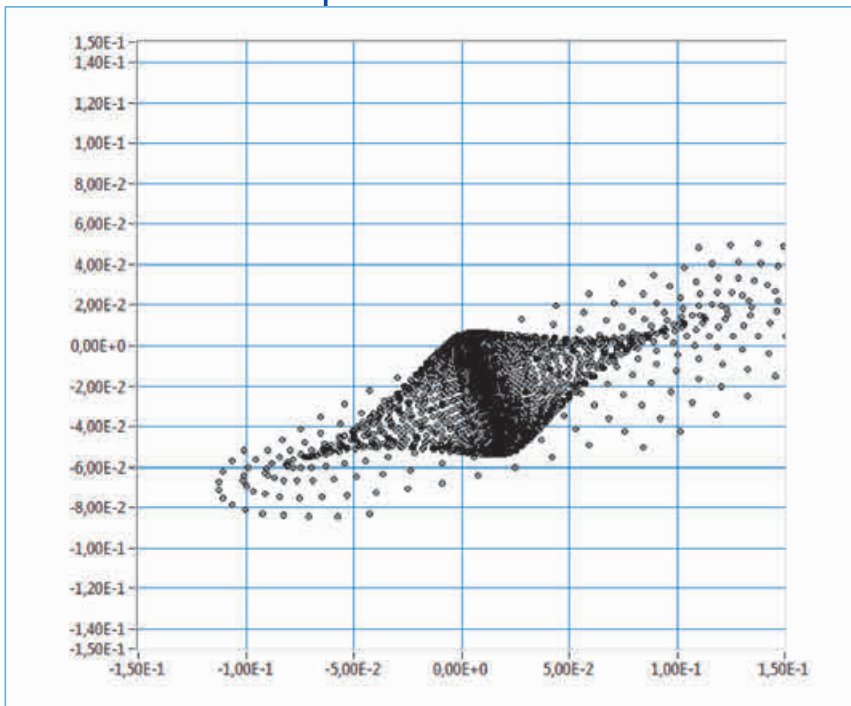


Abbildung 2b

■ Retinale Punktbildverwaschungsfunktion (ray spot diagram) bei Restriktion auf eine best-fit sphärische Rückfläche der Kunstlinse. So würde im besten Fall das pseudophake Auge mit einer sphärischen Kunstlinse abbilden (Standardabweichung $31\ \mu\text{m}$).

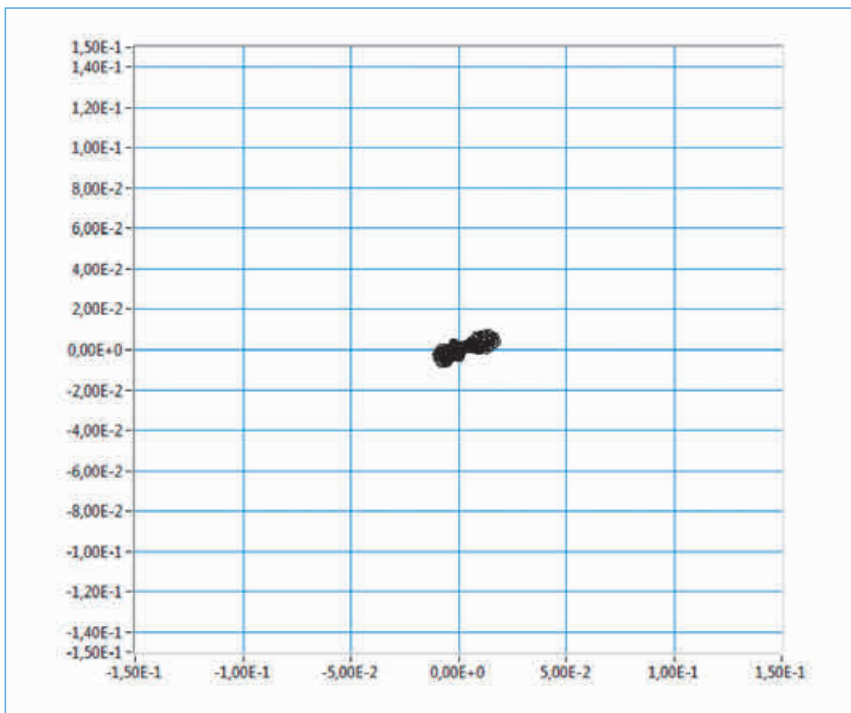


Abbildung 2c

■ Retinale Punktbildverwaschungsfunktion (ray spot diagram) bei einer individuellen Rückfläche der Kunstlinse. Alle Freiheitsgrade einer quadratischen Grenzfläche wurden für die Berechnung zugelassen. So würde das pseudophake Auge mit einer individuellen Kunstlinse bei Restriktion auf quadratische Grenzflächen abbilden (Standardabweichung $2,2\ \mu\text{m}$).

Modells gewählt. **Abbildung 2b** zeigt die retinale PSF für den Fall, dass für die Rückfläche der Linse eine quadratische Funktion mit eingeschränkten Freiheitsgraden (Restriktion auf eine Sphäre) gewählt wird. **Abbildung 2c** zeigt den Fall, dass für die Definition der individuellen Linsenrückfläche eine quadratische Funktion mit allen Freiheitsgraden gewählt wird. Die Punktbildverwaschung ist im Vergleich zu **Abbildung 2b** deutlich kleiner und im Bereich des Abstandes der retinalen Photorezeptoren in der Fovea.

BEWERTUNG UND AUSBLICK

Die für die Berechnung individueller Kunstlinsen nötigen Messdaten können mit klinisch etablierten Diagnosegeräten gemessen werden. Zum Einsatz kommt neben einem Biometer ein Tomograph zur Vermessung des vorderen Augenabschnittes. Aus der tomographischen Messung werden die Geometrie der Hornhautvorder- und Rückfläche, die Hornhautdicke sowie die Pupillengeometrie und die phake Vorderkammertiefe gewonnen [16, 17].

Die Restriktion auf Grenzflächen zweiter Ordnung wurde in dieser skizzenhaften Darstellung gewählt, um den Schnittpunkt von Strahlen mit Grenzflächen sowie die Anwendung des Brechungsgesetzes von Snellius in expliziter Schreibweise formulieren zu können. Ohne Einschränkung der Allgemeingültigkeit können auch beliebige andere Flächenmodelle [5] wie z. B. lokal definierte bikubische Splines [26] verwendet werden.

Die hier beschriebenen individuellen Grenzflächen mit Einschränkung auf quadratische Oberflächen lassen sich mit derzeit kommerziell erhältlichen spanenden Bearbeitungsmaschinen mit guter Qualität herstellen – entsprechende Hard- und Software vorausgesetzt. Mit dem Grad der Komplexität der individuellen Linsengrenzfläche wächst auch der Aufwand bei der Umsetzung des Designs einer Kunstlinse. Die individuellen Freiformflächen können nach der Herstellung auf ihre Konformität zu den Designdaten hin überprüft werden [8, 9, 24].

Die Abschätzung der Position der Kunstlinse im pseudophaken Auge ist vage. Je individueller das Design der Linse ist, desto größer wirken sich Positionierfehler (Translationsfehler in $x/y/z$ sowie Verkippungs- und Rotationsfehler) aus. Dieser Zusammenhang ist beim Vergleich von aberrationskorrigierenden asphärischen (rotationssymmetrischen) Kunstlinsen im Vergleich zu sphärischen Linsen zu beobachten [6], die wesentlich robuster gegenüber Positionierfehlern sind.

Bislang steht die klinische Evaluierung noch aus. Erst nach intensiver klinischer Erprobung der ge-

samten Prozesskette sowie der klinischen Beobachtung im Langzeitverlauf kann der Nutzen des Patienten von einer individuellen Kunstlinse im Vergleich zu einer sphärischen oder asphärischen Standardlinse hat und ob der hohe Mess- und Rechenaufwand sowie die aufwändige Herstellung durch den Patientennutzen gerechtfertigt werden kann.

LITERATUR

- Atchinson D.A. Optics of the human eye. Butterworth-Heinemann 2002, Edinburgh, S. 254–257.
- Clement R.A., Dunne M.C.M., Barnes D.A. A method for raytracing through schematic eyes with off-axis components. *Ophthalmic Physiol Opt* 1987; 7: 149–152.
- Dubbelman M., Sicam V.A.D.P., Van der Heijde G.L. The shape of the anterior and posterior surface of the aging human cornea. *Vision Res* 2006; 46: 993–1001.
- Einighammer J., Oltrup T., Bende T., Jean B. Calculating intraocular lens geometry by real ray tracing. *J Refract Surg* 2007; 23: 393–404.
- Einighammer J., Oltrup T., Feudner E., Bende T., Jean B. Customized aspheric intraocular lenses calculated with real ray tracing. *J Cataract Refract Surg* 2009; 35: 1984–1994.
- Eppig T., Scholz K., Löffler A., Messner A., Langenbacher A. Effect of decentration and tilt on the image quality of aspheric intraocular lens designs in a model eye. *J Cataract Refract Surg* 2009; 35: 1091–1100.
- Fink W., Frohn A., Schiefer U., Schmid E.W., Wendelstein N. A raytracer for ophthalmological applications. *German J Ophthalmol* 1996; 5: 118–125.
- Kannengießer M., Langenbacher A., Janunts E. Individual IOL surface topography analysis by the WaveMaster Reflex UV. *BioMed Res Int* 2013; doi: 10.1155/2013/363742.
- Kannengießer M., Zhu Z., Langenbacher A., Janunts E. Evaluation of free-form IOL topographies by clinically available topographers. *Z Med Phys* 2012; 22: 215–223.
- Kohnen T., Klaproth O.K., Bühren J. Effect of intraocular lens asphericity on quality of vision after cataract removal: an intraindividual comparison. *Ophthalmology* 2009; 116: 1697–1706.
- Kohnen T., Klaproth O.K. Asphärische Intraokularlinsen. *Ophthalmologie* 2008; 105: 234–40.
- Kooijman A.C. Light distribution on the retina of a wide-angle theoretical eye. *J Opt Soc Am* 1983; 73: 1544–1550.
- Langenbacher A., Eppig T., Seitz B., Janunts E. Customized aspheric IOL design by raytracing through the eye containing quadric surfaces. *Curr Eye Res* 2011; 36: 637–646.
- Langenbacher A., Janunts E., Seitz B., Kannengießer M., Eppig T. Theoretical image performance with customized aspheric and spherical IOLs – when do we get a benefit from customized aspheric design? *Z Med Phys* 2013, doi:pil: S0939-3889(13)00061-5. 10.1016/j.zemedi.2013.05.001.
- Langenbacher A., Sauer T., van der Heyd G., Viestenz A., Seitz B. Raytracing von Hornhauttopographiedaten zur Ermittlung der optischen Abbildungsqualität des Auges. *Klin Monatsbl Augenheilkd* 2003; 220: 235–246.
- Langenbacher A., Seitz B., Naumann G.O.H. Three-axial ellipsoidal fitting of videokeratographic height data after penetrating keratoplasty. *Curr Eye Res* 2002; 24: 422–429.
- Langenbacher A., Viestenz A., Seitz B. Conoidal fitting of corneal topography height data after excimer laser penetrating keratoplasty. *J Refract Surg* 2002; 18: 63–71.
- Langenbacher A., Viestenz A., Viestenz A., Brünner H., Seitz B. Ray tracing through a schematic eye containing second-order (quadric) surfaces using 4 x 4 matrix notation. *Ophthalmic Physiol Opt* 2006; 26: 180–188.
- Li Z.H., Jia L.X., Huang Y.F. Analysis of corneal spherical aberration in patients before and after phacoemulsification. *Yan Ke Xue Bao* 2012; 27: 165–168.
- Liou H.L., Brennan N.A. Anatomically accurate, finite model eye for optical modeling. *J Opt Am A Opt Image Sci Vis* 1997; 14: 1684–1695.
- Preussner P.R., Wahl J., Lahdo H., Dick B., Findl O. Ray tracing for intraocular lens calculation. *J Cataract Refract Surg* 2002; 28: 1412–1419.
- Scholz K., Messner A., Eppig T., Brünner H., Langenbacher A. Topography-based assessment of anterior corneal curvature and asphericity as a function of age, sex, and refractive status. *J Cataract Refract Surg* 2009; 35: 1046–1054.
- Sicam V.A., Dubbelman M., van der Heijde R.G. Spherical aberration of the anterior and posterior surfaces of the cornea. *J Opt Soc Am A Opt Image Sci Vis* 2006; 23: 544–549.
- Speck A., Zelzer B., Kannengießer M., Langebacher A., Eppig T. Inspection of freeform intraocular lens topography by phase measuring deflectometric methods. *Appl Opt* 2013; 52: (18): 4279–4286.
- Thibos N., Ye M., Zhang X., Bradley A. Spherical aberration of the reduced schematic eye with elliptical refracting surface. *Optom Vis Sci* 1997; 74: 548–556.
- Zhu Z., Janunts E., Eppig T., Sauer T., Langenbacher A. Iteratively re-weighted bi-cubic spline representation of corneal topography and its comparison to the standard methods. *Z Med Phys* 2010; 20: 287–98.
- Zhu Z., Janunts E., Eppig T., Sauer T., Langenbacher A. Tomography based customized IOL calculation model. *Curr Eye Res* 2011; 36: 579–589.



Prof. Dr. Achim Langenbacher ist Direktor des Instituts für Experimentelle Ophthalmologie, Universität des Saarlandes. Nach seiner Schul- ausbildung in Nürnberg und Schwabach studierte er im Diplomstudiengang Elektrotechnik an der Friedrich-Alexander-Universität Erlangen. Nach dem Studium arbeitete er als wissenschaftlicher Mitarbeiter an der Augen- klinik mit Poliklinik der Universität Erlangen- Nürnberg unter der Leitung von Prof. Dr. med. Dr. h.c. mult. G.O.H. Naumann, promovierte 1995 zum Thema „Automatisches Strahlfüh-

rungssystem für den 193nm Excimerlaser MEL60‘ und habilitierte sich 2000 zum Thema »Mathematische Verfahren zur Analyse von Hornhauttopographiedaten«. Bereits seit 1992 arbeitet er sehr eng mit Prof. Dr. med. B. Seitz, heute Direktor der Klinik für Augenheilkunde am Universitätsklinikum des Saarlandes, zu- sammen. Prof. Langenbacher gründete mit dem Extraordinariat Medizinische Optik 2005 eine gleichnamige Arbeitsgruppe am Institut für Medizinische Physik der Universität Erlan- gen-Nürnberg (Direktor: Prof. Dr. Dr. med. h.c. mult. W.A. Kalender) und übernahm 2009 das neu gegründete Ordinariat Experimentelle Ophthalmologie an der Universität des Saar- landes. Seine Forschungsschwerpunkte sind Ophthalmische Optik, Modellierung, Vermes- sung und Interpretation von Topographie, Tomographie und Wellenfronten am Auge so- wie neue diagnostische und therapeutische Ansätze im vorderen Augensegment.

KONTAKT



Prof. Dr. Achim Langenbacher

Experimentelle Ophthalmologie
Universität des Saarlandes
Kirrberger Straße 100, Gebäude 22
66424 Homburg/Saar
Telefon: 06841 1621218
Telefax: 06841 1622400



Erscheinung
1x jährlich

EXZELLENZFORSCHUNG
IN DER MEDIZIN

Ein Kooperationsprojekt der Informationszentrale des
Instituts für Wissenschaftliche Veröffentlichungen (IWV)
mit der ALPHA Informationsgesellschaft mbH und dem
Institut für Bildungs- und Wissenschaftsdienste (IBW)

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



Einfach
LENTIS® IOL implantieren!
Für jeden Sehanspruch
die passende Intraokularlinse.

STANDARD Eine Standard-Linse behandelt den Grauen Star optimal. Für Patienten, die sich durch eine Sehhilfe nicht gestört fühlen, ist eine Standard-LENTIS® IOL die richtige Wahl.

KOMFORT Mit der LENTIS® Comfort bietet Oculentis anspruchsvollen Katarakt- und Privatpatienten eine "Alltagslinsenlösung" für die Fern- und Intermediärsicht.

PREMIUM Premium-IOL, wie die LENTIS® Mplustoric, behandeln refraktive Fehlsichtigkeiten, wie Hornhautverkrümmung und Altersweitsichtigkeit, und werden mit dem Ziel maßgefertigt, eine hohe Brillenunabhängigkeit zu realisieren.

Informieren Sie sich auf www.oculentis.com über die Möglichkeiten der modernen Linsen Chirurgie mit LENTIS® IOL.

Oculentis GmbH

Am Borsigturm 58 | 13507 Berlin | Germany
Tel. 030 / 43 09 55 0 | Fax. 030 / 43 09 55 11
www.oculentis.com

retina.net – ein klinisches Kompetenznetzwerk für GCP-konforme Studien

DR. ENDRIK LIMBURG

Zentrum für klinische Studien Köln

Evidenz basierte Medizin ist ohne klinische Studien nicht möglich. Die Qualität einer klinischen Studie hängt von ihrem Design ab und ist in der Regel proportional zum logistischen und organisatorischen Aufwand, der notwendig ist, um die ethischen und juristischen Ansprüche an eine Studie zu erfüllen. Für einzelne Studiengruppen wird es dadurch zunehmend schwierig, niveauvolle klinische Studien ins Leben zu rufen und sie in einer angemessenen Zeit aussagekräftig abzuschließen. Hier sind neue Formen der wissenschaftlichen Zusammenarbeit im Bereich der interventionellen und konservativen Ophthalmologie gefragt, insbesondere da viele Fragestellungen außerhalb des Fokus industrieller Förderer liegen.

Für Fragestellungen in der vitreoretinalen Chirurgie gilt dabei der gleiche Ausgangspunkt wie für Fragestellungen der medikamentösen Behandlung von Erkrankungen: Es besteht dringender Bedarf, prospektiv Daten zur Sicherheit und zur Wirksamkeit eines operativen Verfahrens zu gewinnen. In vielen Fällen existieren hierzu nur Daten auf niedrigem Evidenzniveau wie Experteneinschätzungen oder Fallserien sowie die eigene Erfahrung des Netzhautchirurgen. Da diese Studien im gleichen regulatorischen Rahmen wie Industriestudien durchgeführt werden, sind adäquate Organisationsstrukturen und eine Drittmittelfinanzierung zur Studiendurchführung unabdingbar.

Nur die effiziente Vernetzung einer kritischen Anzahl von nationalen Studienzentren wird dazu beitragen, die Infrastruktur für klinische Forschung in der Augenheilkunde zu schaffen, die auch für öffentliche oder private Förderer interessant ist. Ermöglicht durch die finanzielle Förderung der Jackstädt-Stiftung und eine Unterstützung durch die Retinologische Gesellschaft und die DOG wurde aufgrund dieser Überlegungen retina.net gegründet.

Retina.net ist ein Zusammenschluss retinologischer Prüfzentren zur gemeinsamen Durchführung klinischer Studien mit einer Koordinierungszentrale im ZKS Köln. Im Vordergrund stehen hierbei

Kommunikation und Beratung im retina.net Netzwerk, die Beratung bei der Drittmittelinwerbung, sowie die Vermittlung von Dienstleistungen.

Die nachhaltige Sicherstellung der Qualität und Patientensicherheit entsprechend ICH-GCP steht dabei im Zentrum. Hierzu stellt retina.net eine Kommunikationsplattform für aktuelle und potenzielle Studienzentren zur Verfügung.

Mittels einer validierten Studiensoftware wurde eine zentrale Vorlage für eine Datenbank zur Erfassung von Patientendaten in klinischen Studien entwickelt. Die Datenbank ermöglicht eine GCP-konforme Online-Erfassung von Studiendaten.

Die Datenbank wurde modular erstellt und ermöglicht die schnelle und kostengünstige Adaption der bestehenden Eingabemasken an verschiedene Studien, sodass sich unter Verwendung bestehender Module der Aufwand für künftige Projekte reduzieren lässt. Retina.net unterstützt Wissenschaftler bei der Formulierung von Studienideen und -hypothesen und stellt zudem Expertise zur Formulierung von Studienprotokollen und zur biometrischen Planung zur Verfügung

Ein wichtiges Kommunikationsmittel ist die online-Plattform retina.net (<http://retina-net.uni-koeln.de>). Hier werden Informationen zentral und transparent bereit gestellt, die über die aktuellen Aktivitäten und Studien im retina.net informieren. Darüber hinaus besteht die Möglichkeit, über die Homepage Vorschläge für weitere Studien als Projektideen abzugeben. Diese gemeinsame Darstellung aller Studien im Internet ermöglicht es Wissenschaftlern, an laufenden Studien teilzunehmen. Es ermöglicht den in retina.net aktiven Studienleitern ihre Studien bekannt zu machen und Kooperationspartner zu gewinnen. Mit dieser Strategie soll die Rekrutierung von Patienten für klinische Studien verbessert werden. Vom Vorstand des retina.net, der durch die Mitglieder jährlich gewählt wird, wird über die Durchführung eines eingereichten Studien-Konzeptes entschieden. Voraussetzung ist eine adäquate Finanzierung, die retina.net nicht zur Verfügung stellen kann.

Im Rahmen von retina.net werden verschiedene Projekte durchgeführt oder befinden sich in Vorbereitung:

- Als initiale Modellstudie führt retina.net eine prospektive, multizentrische Studie zur Wirksamkeit eines zusätzlichen Cerclagebandes bei der primären Vitrektomie zur Behandlung der Pseudophakieamotio durch (VIPER Studie).
- Als weitere klinische Studien wurde innerhalb von retina.net eine Studie zur Behandlung der Strahlenretinopathie mit Anti-VEGF Präparaten im Vergleich zur Laser-Behandlung initiiert.
- Darüber hinaus hat retina.net ein Register zur Untersuchung von Fällen unklarer Visusminderung nach Silikonölchirurgie sowie ein Register zur Dokumentation der Frühgeboreneretinopathie etabliert.
- Weitere Studien werden derzeit innerhalb von retina.net vorbereitet und diskutiert.

Zusammenfassend versteht sich Retina.net als ein wissenschaftlicher Zusammenschluss klinisch-wissenschaftlicher, methodischer, statistischer, administrativer und regulatorischer Expertise. Retina.net unterstützt die Konzeption und Durchführung qualitativ hochwertiger ophthalmologischer Studien, die aus der Praxis motiviert und wichtig für die inhaltliche Entwicklung der Retinologie sind und fordert dabei insbesondere jüngere Kollegen auf, Ihre Ideen und Studienprojekte über Retina.net durchzuführen.

Dr. rer. nat. Endrik Limburg
Projektmanager
Zentrum für Klinische Studien Köln
Gleueler Straße 269
50935 Köln
Telefon: 0221 478-88135
Telefax: 0221 478-88209
E-Mail: endrik.limburg@zks-koeln.de
Internet: www.zks-koeln.de

KONTAKT



Die Hamburger Refraktive Datenbank

PRIV.-DOZ. DR. S. J. LINKE^{1,2}, DR. T. KATZ^{1,2}, DR. J. STEINBERG¹,
DR. A. FRINGS¹, PROF. DR. G. RICHARD¹

1 Universitätsklinikum
Hamburg-Eppendorf

2 Care Vision

Die kontrollierte Anwendung von Excimer-generiertem UV-Licht der Wellenlänge 193 nm ermöglicht eine sehr präzise Modulation von Hornhautgewebe. Im Jahr 1981 wurde der heute weit verbreitete Excimer ArF Laser erstmals experimentell in organischem Gewebe eingesetzt. Zwei Jahre später führte Theo Seiler [1] die erste therapeutische Excimer-Laserbehandlung an einem Patienten mit einer Hornhautdystrophie durch. Seitdem haben die Anwendungsmöglichkeiten der Excimer-Hornhautchirurgie insbesondere auf dem Feld der refraktiven Laserchirurgie stark zugenommen.

Die Forschungsarbeiten unserer Arbeitsgruppe basieren auf der »Hamburger Refraktiven Datenbank«, die im Zeitraum 2006–2010 in Zusammenarbeit zwischen der Augenklinik des Universitätsklinikums Eppendorf (UKE) und Care Vision systematisch aufgebaut wurde. Prä-, intra-, sowie postoperative Parameter von 27832 Augenlaser-Operationen aus neun Augenlaserzentren wurden inkludiert. In der »Hamburger Refraktiven Datenbank« sind u. a. die folgenden präoperativen Parameter erhoben worden: manifeste- und Zyklorrefraktion, unkorrigierte und bestkorrigierte Sehschärfe, Pachymetrie, Augeninnendruckmessung, Hornhaut-Tomographie (Pentacam oder Orbscan), mesopische Pupillengröße (Colvard Pupillometer), Spaltlampenbefund und Funduskopie in Mydriasis.

Themenschwerpunkte unserer Arbeit sind u. a. eine systematische normative Datenerhebung und basierend hierauf die Keratokonus-Früherkennung.

Exemplarisch möchten wir ein Teilprojekt [2] vorstellen, welches sich mit der okulären Dominanz beschäftigt. Die okuläre Dominanz hat in der Vorbereitung und Planung einer Augenlaserbehandlung einen wichtigen Stellenwert [3] und kommt insbesondere bei presbyopen Patienten auch im klinisch-operativen Alltag in Form der Monovision zum Einsatz [4]. Hier wird das dominante Auge für die Ferne korrigiert und das

nichtdominante Auge wird gering kurzsichtig belassen mit dem Ziel, die Nahsicht zu verbessern.

Diese klinische Praxis basiert auf der Beobachtung, dass die Suppression eines verschwommenen Bildes in der Ferne im nichtdominanten Auge zerebral einfacher zu verarbeiten ist. Die chirurgisch induzierte Anisometropie sollte 2.5 D nicht übersteigen und vor einer operativen Korrektur intensiv mit Kontaktlinsen oder Probierbrille simuliert werden. Basierend auf unseren vorangegangenen Studien zur Anisometropie [5] und zur okulären Dominanz in 10264 myopen Individuen [6] wurde das hier skizzierte Teilprojekt initiiert mit dem Ziel, die okuläre Dominanz (= Führungsauge) und deren Assoziation zur Refraktion (Sphäre und Zylinder), Alter, Geschlecht, rechten/linken Auge insbesondere in anisometropen hyperopen Patienten zu analysieren. Insgesamt wurden 1274 hyperope Individuen, die sich mit der Frage der operativen Korrektur ihrer Fehlsichtigkeit vorstellten, in die retrospektive Studie eingeschlossen. Das mittlere Alter betrug 44.4 ± 11.7 Jahre, das mittlere sphärische Äquivalent (SE) $+ 2.5 \pm 1.2$ D und der mittlere Astigmatismus betrug $- 1.38 \pm 1.4$ D. Die Testung der okulären Dominanz wurde mit dem »Lochtest« standardisiert durchgeführt. Eine Rechtsdominanz wurde in 57.4% und eine Linksdominanz in 40.5% der hyperopen Patienten festgestellt. Nichtdominante Augen waren stärker hyperop ($+ 2.6 \pm 1.27$ D versus $+ 2.35 \pm 1.16$ D; $P < 0.001$) und wiesen einen höheren Zylinder ($- 1.3 \pm 1.3$ D versus $- 1.2 \pm 1.2$ D; $P = 0.003$) im Vergleich zu dominanten Augen auf. Zur genauen Charakterisierung von Refraktionsfehlern inkl. Größe und Achslage des Zylinders ist eine Vektoranalyse notwendig. Wir verwendeten in unserer Studie die Vektoranalyse nach Thibos, um Differenzen im refraktiven Status (SE, Jo, J45) zwischen dominanten und nichtdominanten Augen in der Subgruppenanalyse zu identifizieren. Falls die okuläre Dominanz eine Rolle bei der Entstehung und Progression von Fehlsichtigkeiten spielt, sollte sich dieser Effekt insbesondere in anisometropen Patienten manifestieren.

So war bei Individuen mit einer SE Anisometropie > 2.5 D das nichtdominante Auge in 95,2% (SE $+ 4.7 \pm 1.4$ D) stärker hyperop im Vergleich zu 4,8% der Individuen, bei denen das dominante Auge (SE $+ 1.8 \pm 0.94$ D; $P_{adj} < 0.001$) stärker hyperop war. Mit Hilfe einer multivariat logistischen Regressionsanalyse konnten wir zeigen dass eine Zunahme der SE Anisometropie um 1 D mit einer Odds Ratio (OR) von 2.03 einhergeht. Hierdurch kann die Tendenz, dass das nichtdominante Auge das stärker hyperope Auge ist, quantifiziert werden. Bezüglich astigmatischer Anisometropie > 2.5 D ($n = 27$) war in 89% der hyperopen Patienten die Hornhautverkrümmung im nichtdominanten Auge stärker ausgeprägt ($- 3.8 \pm 1.1$ D) verglichen mit dem dominanten Auge ($- 1.4 \pm 1.4$ D; $P < 0.001$).

Cheng et al. [7] stellten die Hypothese auf, dass die Ausprägung der okulären Dominanz zwischen Individuen variiert und eine stärker ausgebildete okuläre Dominanz eventuell in einer höheren Anisometropie resultieren könnte. In Einklang mit dieser These beobachteten wir eine abnehmende Prävalenz von »unentschlossenen« Individuen (d.h. keine eindeutige Rechts- oder Linksdominanz) mit zunehmender Anisometropie: während 2,4% der Individuen mit einer Anisometropie < 0.5 D bezüglich okulärer Dominanz keine klare Präferenz angaben (= »unentschlossen«) war in der Gruppe mit einer Anisometropie > 2.5 keine Person »unentschlossen«. Die beobachtete Tendenz war allerdings statistisch nicht signifikant ($P = 0.27$).

Im klinischen Alltag bedeutet Excimer Monovision in presbyopen hyperopen Individuen eine Überkorrektur im nichtdominanten Auge, welche mit einem höheren Laser-Gewebeabtrag verbunden ist. Aufgrund unserer Studienergebnisse (nichtdominante Augen stärker hyperop) ist deshalb die Population geeigneter Kandidaten limitiert – nicht zuletzt auch durch eine reduzierte Vorhersagbarkeit und erhöhte Regressionstendenz bei hohen Hyperopiekorrekturen ($+3$ bis $+4$ D). Kritisch bleibt anzumerken, dass aufgrund des Studiendesigns (retrospektive Querschnittsstudie) und der Selektion refraktiver Patienten mit Hilfe unserer Ergebnisse keine abschließenden Thesen zur Kausalität und zeitlichen Assoziation zwischen okulärer Dominanz und Hyperopie formuliert werden können. Der Einfluss möglicher Faktoren wie z.B. Umwelteinflüsse und genetische Determinanten müssen durch weitere, insbesondere longitudinal-prospektive Studien, charakterisiert werden.

Es erscheint sinnvoll, in zukünftigen Studien zur okulären Dominanz nicht nur eine Rechts- bzw. Linksdominanz zu attestieren, sondern durch die Verwendung mehrerer Testverfahren Hinweise auf die Stärke der okulären Dominanz zu gewinnen.

Epidemiologische Studien wie die hier vorgelegte Untersuchung können zusätzliche Aspekte liefern und somit das Verständnis zur Entwicklung und Progression von Fehlsichtigkeiten verbessern. Unsere Studien sind in Anbetracht einer weltweit zunehmenden Prävalenz von Refraktionsanomalien [8] von besonderer Bedeutung.

DIE »HAMBURGER REFRAKTIVE DATENBANK« UND ASSOZIIERTE PROJEKTE

Die tomographische Analyse der Hornhaut ermöglicht eine exakte Lokalisation und Pachymetrie sowohl der zentralen, als auch der dünnsten Stelle der Hornhaut. Als Ausgangspunkt möglicher ektatischer kornealer Veränderungen kommt der dünnsten Stelle der Hornhaut eine besondere Bedeutung zu [9, 10]. Zudem konnten die Entfernung der dünnsten Stelle vom Zentrum und die pachymetrische Differenz zwischen der zentralen und der dünnsten Hornhautdicke bereits als Prädiktor für mögliche ektatische Veränderungen definiert werden [11–13].

In Vorarbeiten unserer Arbeitsgruppe wurden mögliche Einflussfaktoren auf die Hornhautdicke an der dünnsten Stelle [14] sowie zur pachymetrischen Differenz zwischen zentraler und dünnster Stelle der Hornhaut ($\Delta\text{Pachy}_z\text{-Pachy}_d$) systematisch analysiert [15]. Für eine möglichst exakte Abgrenzung zwischen pathologischen und physiologischen Pachymetriewerten, d.h. der Ermittlung von Trennwerten (sogenannte »cut-offs«), ist jedoch der Vergleich mit an Keratokonus erkrankten Augen unumgänglich und Gegenstand aktueller Studien unserer Arbeitsgruppe.

Aufbauend auf den Ergebnissen dieser Arbeiten werden in weiteren, bereits initiierten Studien der Einfluss der untersuchten präoperativen Parameter auf die Sicherheit, die Effektivität und die refraktive Stabilität von Augenlaserbehandlungen (LASIK, PRK) analysiert. Im Sinne der Evidenzbasierten Medizin sind die vorliegenden Daten deshalb unverzichtbar, um kontinuierlich die medizinischen Entscheidungsprozesse bei der Planung und Durchführung einer Augenlaserbehandlung zu optimieren.

Zusammenfassend wird festgehalten, dass mit Hilfe der »Hamburger Refraktiven Datenbank« biometrische Normdaten und deren Interaktionen für ein großes, zentral-europäisches refraktives Kollektiv bezüglich wichtiger prä-operativer Parameter erhoben wurden. Diese bilden in bereits initiierten Studien die Ausgangsbasis für weitere Projekte mit dem Ziel, die Unterscheidung zwischen normaler und erkrankter Hornhaut zu präzisieren und somit u.a. das präoperative Screening von Patienten mit der Frage nach re-

fraktiver Chirurgie weiter zu verbessern [16–18] und den Keratokonus in den sehr frühen Formen (subklinisch) zuverlässiger zu erkennen.

LITERATUR

- Seiler T., Bende T., Wollensak J. [Correction of astigmatism with the Excimer laser]. *Klin Monbl Augenheilkd.* 1987; 191 (3): 179–83.
- Linke S.J., Baviera J., Richard G., Katz T. Association between ocular dominance and spherical/astigmatic anisometropia, age, and sex: analysis of 1274 hyperopic individuals. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2012; 53 (9): 5362–9.
- Farid M., Steinert R.F. Patient selection for monovision laser refractive surgery. *Curr Opin Ophthalmol.* 2009; 20(4): 251–4.
- Garcia-Gonzalez M., Teus M.A., Hernandez-Verdejo J.L. Visual outcomes of LASIK-induced monovision in myopic patients with presbyopia. *Am J Ophthalmol.* 2010; 150 (3): 381–6.
- Linke S.J., Richard G., Katz T. Prevalence and Associations of anisometropia with spherical ametropia, cylindrical power, age and sex in refractive surgery candidates. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2011.
- Linke S.J., Baviera J., Munzer G., Steinberg J., Richard G., Katz T. Association between ocular dominance and spherical/astigmatic anisometropia, age, and sex: analysis of 10,264 myopic individuals. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2011; 52 (12): 9166–73.
- Cheng C.Y., Yen M.Y., Lin H.Y., Hsia W.W., Hsu W.M. Association of ocular dominance and anisometric myopia. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2004; 45 (8): 2856–60.
- Bloom R.I., Friedman I.B., Chuck R.S. Increasing rates of myopia: the long view. *Curr Opin Ophthalmol.* 2010; 21 (4): 247–8.
- Ambrosio R., Jr., Caiado A.L., Guerra F.P., Louzada R., Roy A.S., Luz A., et al. Novel pachymetric parameters based on corneal tomography for diagnosing keratoconus. *J Refract Surg.* 2011; 27 (10): 753–8.
- Ambrosio R., Jr., Alonso R.S., Luz A., Coca Velarde L.G. Corneal-thickness spatial profile and corneal-volume distribution: tomographic indices to detect keratoconus. *J Cataract Refract Surg.* 2006; 32 (11): 1851–9.
- Ashwin P.T., Shah S., Pushpoth S., Wehbeh L., Ilango B. The relationship of Central Corneal Thickness (CCT) to Thinnest Central Cornea (TCC) in healthy adults. *Cont Lens Anterior Eye.* 2009; 32 (2): 64–7.
- Nilforoushan M.R., Speaker M., Marmor M., Abramson J., Tullo W., Morschauser D., et al. Comparative evaluation of refractive surgery candidates with Placido topography, Orbscan II, Pentacam, and wavefront analysis. *J Cataract Refract Surg.* 2008; 34 (4): 623–31.
- Rüfer F., Sander S., Klettner A., Frimpong-Boateng A., Erb C. Characterization of the thinnest point of the cornea compared with the central corneal thickness in normal subjects. *Cornea.* 2009; 28 (2): 177–80.
- Linke S.J., Steinberg J., Eddy M.T., Richard G., Katz T. Relationship between minimum corneal thickness and refractive state, keratometry, age, sex, and left or right eye in refractive surgery candidates. *J Cataract Refract Surg.* 2011; 37 (12): 2175–80.
- Linke S.J., Ceyrowski T., Steinberg J., Kuhnhardt K., Richard G., Katz T. Central Versus Thinnest Pachymetry of the Cornea and Thinnest Point Vector Length: Impact of Ocular Side, Refractive State, Age, and Sex. *Cornea.* 2012.
- Belin M.W., Ambrosio R., Jr. Corneal ectasia risk score: statistical validity and clinical relevance. *J Refract Surg.* 2010; 26 (4): 238–40.
- Randleman J.B., Woodward M., Lynn M.J., Stulting R.D. Risk assessment for ectasia after corneal refractive surgery. *Ophthalmology.* 2008; 115 (1): 37–50.
- Saad A., Gatinel D. Association of corneal indices for the detection of ectasia-susceptible corneas. *J Refract Surg.* 2012; 28 (3): 166; author reply -7.

Priv.-Doz. Dr. med. Stephan J. Linke, Jahrgang 1972, ist leitender Oberarzt der Klinik und Poliklinik für Augenheilkunde des Universitätsklinikums Hamburg-Eppendorf (Direktor: Prof. Dr. med. Gisbert Richard). Nach der Schulausbildung am humanistischen Schönborn Gymnasium in Bruchsal studierte er Humanmedizin an der Ruprecht-Karls Universität in Heidelberg und promovierte dort im Jahr 2000. Nach Abschluss des Studiums arbeitete Herr Dr. Linke als Arzt im Praktikum und wissenschaftlicher Mitarbeiter zunächst im Rahmen eines Forschungsaufenthaltes am Zentrum für Molekulare Neurobiologie in Hamburg in der Arbeitsgruppe Prof. Dr. Udo Bartsch, bevor er im darauffolgenden Jahr an die Universitäts-Augenklinik Hamburg-Eppendorf wechselte. Er erhielt 2005 die Anerkennung als Facharzt für Augenheilkunde. 2012 wurde er habilitiert und erhielt die *venia legendi* für das Fach Augenheilkunde. Seine klinischen Schwerpunkte liegen in der Hornhaut- und refraktiven Chirurgie. Der klinisch-wissenschaftliche Fokus liegt in dem Ausbau der Hamburger Refraktiven Datenbank, der Früherkennung des Keratokonus, und der intraoperativen Wellenfrontaberrometrie. Grundlagenwissenschaftlich arbeitet er an der Entwicklung eines Pikosekundenlasersystems für die Hornhaut.

FÖRDERUNGEN UND AUSZEICHNUNGEN

Die Ergebnisse der wissenschaftlichen Arbeiten von Dr. Linke in Kooperation mit der Arbeitsgruppe Prof. Bartsch wurden mehrfach mit dem Posterpreis der Deutschen Ophthalmologischen Gesellschaft prämiert. Zudem wurde Dr. Linke durch die Forschungsförderung der DOG für innovative wissenschaftliche Projekte in der Augenheilkunde unterstützt. Im Rahmen der diesjährigen Tagung der Vereinigung Norddeutscher Augenärzte wurde Herr Dr. Linke für die Arbeit »Association between ocular dominance and spherical/astigmatic anisometropia, age, and sex: Analysis of 1274 hyperopic individuals« mit dem Hans-Sautter-Preis geehrt. Herr Dr. Linke ist Gutachter zahlreicher internationaler wissenschaftlicher Fachzeitschriften.



Priv.-Doz. Dr. med. Stephan J. Linke

Leitender Oberarzt der Augenklinik
des Universitätsklinikums
Hamburg-Eppendorf
Martinistraße 52
20246 Hamburg
Telefon: 040 7410-53314
Telefax: 040 7410-52338
E-Mail: s.linke@uke.de

KONTAKT



Selektiver Hornhautendothelzellersatz

PRIV.-DOZ. DR. PHILIP MAIER, PROF. DR. DANIEL BÖHRINGER UND
PROF. DR. THOMAS REINHARD

Universitäts-
Augenklinik Freiburg

Die perforierende Keratoplastik ist seit über 100 Jahren das Standardverfahren der Hornhauttransplantation [1, 2]. Hierbei werden typischerweise alle fünf Schichten der Augenhornhaut ersetzt, wobei in Deutschland das Transplantat in der Regel mit der doppelt fortlaufenden Kreuzstichnaht [3] mit einem 10.0 Nylonfaden fixiert wird. Zu den typischen Problemen nach einer perforierenden Keratoplastik zählen Fadenlockerungen, eine verhältnismäßig langsame Sehschärfenerholung, weil die Fäden erst nach 12–18 Monaten gezogen werden können, sowie nicht selten ein hoher Astigmatismus, für dessen Korrektur häufig Kontaktlinsen angepasst werden müssen [4]. Daher ist es nicht verwunderlich, dass schon früh die Idee aufkam, nicht in jedem Fall die gesamte Hornhaut zu ersetzen, sondern nur den entsprechend erkrankten Teil. Für Patienten mit Endothelinsuffizienz, sei es durch eine Fuchssche Endotheldystrophie, eine bullöse Keratopathie oder ein Transplantatversagen nach vorangegangener perforierender Keratoplastik, schlug Tillet bereits 1956 vor, nur die erkrankte Innenschicht zu ersetzen [5]. Bei diesen ersten Versuchen kam es jedoch meist nicht zu einer Sehverbesserung für die Patienten, so dass diese Technik zunächst wieder verlassen wurde.

Eine erste wichtige technische Weiterentwicklung bestand in der so genannten posterior lamellar keratoplasty (PLK) [4] beziehungsweise der deep lamellar endothelial keratoplasty (DLEK) [5], bei der der hintere Teil des Hornhautstromas einschließlich Descemetmembran und erkranktem Endothel entfernt und durch ein entsprechend gleich aufgebautes Transplantat ersetzt wird (**Abbildung 1A**). Dieser komplexe Eingriff führte bei einem Teil der Patienten zwar zu einem Anstieg der Sehschärfe, allerdings war diese bei der Mehrzahl der Patienten auf Grund von Vernarbungsreaktionen an der Grenzfläche zwischen Spender- und Wirtshornhaut (Interface) unbefriedigend und nicht mit den Ergebnissen nach perforierender Keratoplastik vergleichbar [6].

Mit dem Ziel der Verminderung der beobachteten Interfaceprobleme wurde die Operationstechnik

weiter entwickelt und vereinfacht. So wird bei der DSEK (Descemet stripping endothelial keratoplasty) bzw. DSAEK (Descemet stripping automated endothelial keratoplasty) am Patienten nur noch die Descemetsschicht mitsamt dem erkrankten Endothel entfernt (Descemetorhexis) [7], wobei anschließend ein Transplantat aus einer dünnen Stromalamelle, Descemetmembran und Endothel mit Hilfe einer Luftblase nahtfrei an der Rückfläche der Wirtshornhaut adaptiert wird (**Abbildung 1B**). Bei der DSEK wird dabei das Transplantat manuell präpariert, während bei der DSAEK hierfür ein Mikrokeratom zur Hilfe genommen wird, was zu einer deutlichen Standardisierung dieser Operationstechnik geführt hat. Mit Hilfe verschiedener Spezialinstrumente wird das Transplantat anschließend in die Vorderkammer gebracht. Da das Transplantat im Vergleich zur DLEK auf eine glattere Oberfläche trifft, kommt es zu wesentlich geringeren Interfaceproblemen, so dass bessere Visuswerte erreicht werden können. Verglichen mit dem postoperativen Verlauf nach perforierender Keratoplastik erholt sich die Sehschärfe nach DSAEK meist deutlich schneller [8], da auf Grund der Nahtfreiheit der Fadenzug keine Rolle spielt. Auch kommt es nur zu geringfügigen Änderungen des Refraktionszustandes und insbesondere zu einer allenfalls geringen Astigmatismusinduktion [9]. Aus diesen Gründen findet sich nach DSAEK eine hohe Patientenzufriedenheit hinsichtlich Visusentwicklung und Heilungsverlauf [10] insbesondere im Vergleich zur perforierenden Keratoplastik [11]. Obwohl die Hornhaut nach DSAEK klinisch meist optisch klar erscheint, erreicht ein Großteil der Patienten nicht die Sehschärfe, die auf Grund der Ausgangssituation möglich wäre, so dass die mittlere Gesamtsehschärfe um 0,5 liegt [12]. Warum dies so ist, ist bislang noch nicht abschließend geklärt [13]. Möglicherweise spielen dabei Unregelmäßigkeiten zwischen Transplantat und Wirtshornhaut sowie das Aufeinandertreffen von Kollagenfasern unterschiedlicher Struktur und Orientierung eine Rolle, was besonders für Transplantate zu gelten scheint, die mit dem Femtosekundenlaser statt mit einem Mikrokeratom präpariert wurden [14]. Mit Hilfe von Scheimpflugaufnahmen konnten wir

zeigen, dass die Reflektivität im Zwischenbereich zwischen Spender- und Wirtshornhaut negativ mit der Sehschärfe korreliert (Heinzelmann et al., Acta Ophthalmologica, in press), so dass die reduzierten Sehschärfenwerte nach DSAEK zumindest partiell mit Unregelmäßigkeiten in dieser Zwischenschicht erklärt werden können. Die häufigste Komplikation nach DSAEK ist eine Transplantatdislokation, die in bis zu 80% der Fälle auftritt. Diese kann meist mit einer erneuten Luftfüllung der Vorderkammer wieder behoben werden [15]. Sowohl die intraoperativen Manipulationen wie auch Zweiteingriffe führen zu einem deutlich höheren primären Endothelzellverlust nach DSAEK im Vergleich zur perforierenden Keratoplastik und damit auch zu einer höheren Rate an primären Transplantatversagen [16]. Auf lange Sicht allerdings scheint der chronische Endothelzellverlust nach DSAEK geringer zu sein als nach perforierender Keratoplastik, so dass das Langzeittransplantatüberleben nach erfolgreicher DSAEK möglicherweise nicht beeinträchtigt ist [17]. Dies könnte unter anderem auch darin begründet sein, dass nach DSAEK etwas seltener und klinisch schwächer ausgeprägte Immunreaktionen als nach perforierender Keratoplastik beobachtet werden [18]. In unserem Patientengut war es allerdings nicht immer ein endotheliales Transplantatversagen, das zu einer Re-Keratoplastik führte, sondern auch die nicht selten unbefriedigende Sehschärfe nach DSAEK, so dass die Retransplantationsrate bei etwa 10% lag. Trotz dieser Probleme hat sich die DSAEK in den vergangenen Jahren wegen des hohen Standardisierungsgrades, der raschen visuellen Rehabilitation und der Refraktionsneutralität als Standardtransplantationsverfahren bei Patienten mit Endothelinsuffizienz etabliert.

Die entscheidende technische Verbesserung zur Überwindung der oben beschriebenen Nachteile der DSAEK gelang Melles mit der Einführung der Descemet Membrane Endothelial Keratoplasty (DMEK). Hierbei wird schließlich nur noch selektiv die erkrankte Descemettschicht samt Endothel durch eine gesunde Descemettschicht mit dem Endothel des Spenders ersetzt [19]. Es wird also kein Stroma mehr übertragen, sondern eine Rekonstruktion des anatomischen Ausgangszustandes erreicht. Das in der Regel nur 15–20 µm dünne Transplantat wird dabei rein manuell präpariert, sodass im Gegensatz zur DSAEK kein kostenintensives Mikrokeratom notwendig ist. Allerdings kann es während der Präparation zu einem Einreißen des Transplantates und somit zum Transplantatverlust kommen. Durch eine zunehmende Standardisierung der Präparationstechnik lässt sich die Verlustquote jedoch auf unter 5% senken [20]. Transplantateinrisse lassen sich nicht immer vermeiden, da bei manchen Spendern aberrierende Stromafasern in die Descemet einstrahlen [21], so dass sich diese nicht ohne Einrisse vom posterioren Stroma abziehen

lässt. Wurde die Descemet erfolgreich abgelöst, rollt sie sich spontan zusammen, sobald sie in Flüssigkeit kommt. Dabei befinden sich die Endothelzellen stets auf der Außenseite dieser Transplantatrollen. Je enger sich die Descemet einrollt, desto länger dauert die anschließende Entfaltung in der Vorderkammer, was wiederum mit einem erhöhten Endothelzellverlust einhergeht. Da das Ausmaß der Einrollung negativ mit dem Spenderalter korreliert, d.h. je älter der Spender desto breiter die Descemetrolle, empfiehlt es sich für eine DMEK eher Transplantate von älteren Spendern (z.B. über 65 Jahre) zu verwenden (Hein-

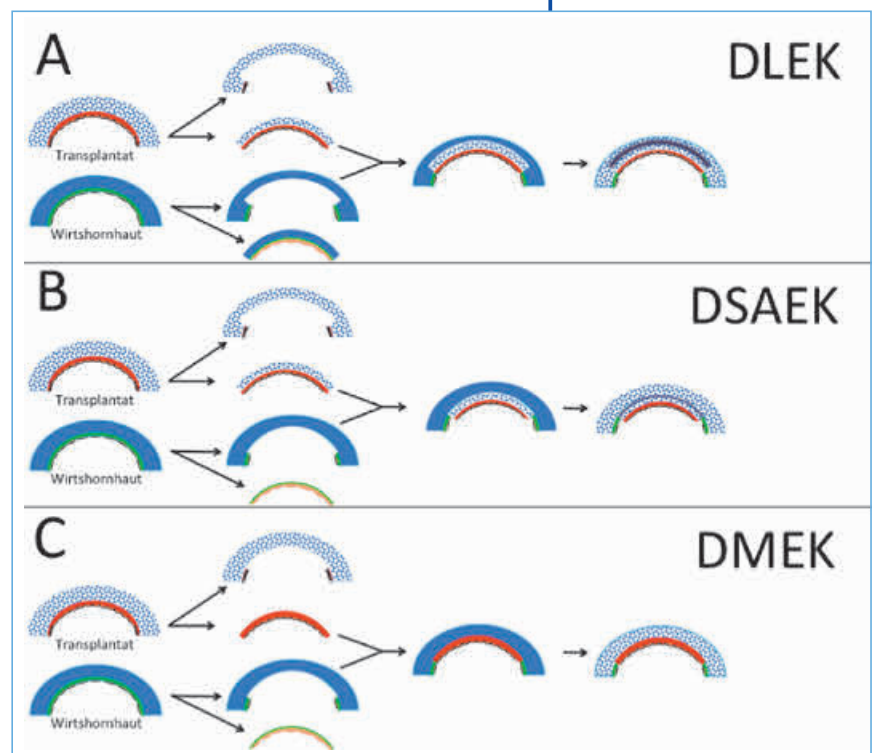


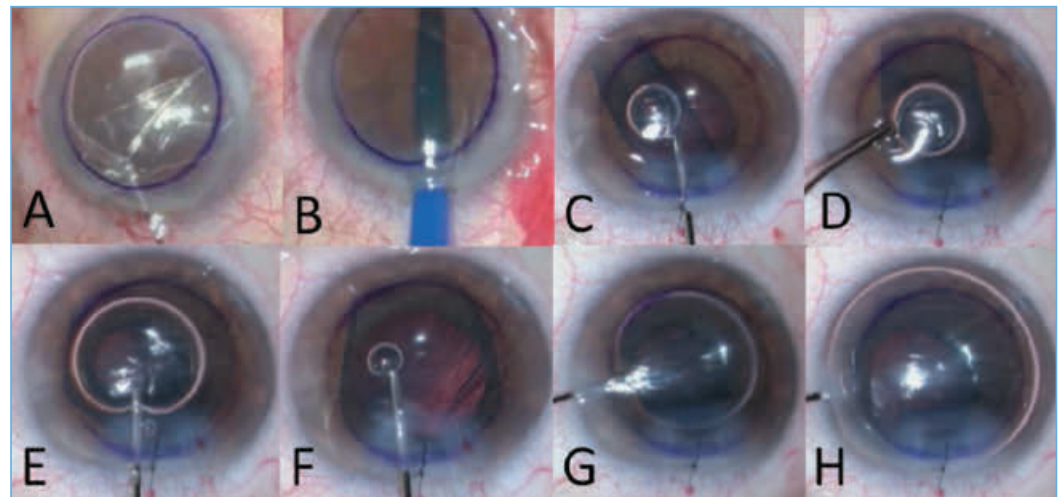
Abbildung 1

■ Verschiedene Techniken der posterioren lamellären Hornhauttransplantation

A: Deep Lamellar Endothelial Keratoplasty (DLEK): In der Wirtshornhaut wird zunächst das posteriore Stroma (blau) mit Descemetmembran (grün) und Endothel (beige) ausgeschnitten und in die Exzisionsstelle ein Transplantat aus Stroma (hellblau-schraffiert), Descemetmembran (rot) und Endothel (beige) eingesetzt. Dabei kommt es meist zu deutlichen Vernarbungsreaktionen an der Grenze zwischen Spender- und der aufgeklärten Wirtshornhaut (grau).

B: Descemet Stripping Automated Endothelial Keratoplasty (DSAEK): Von der Wirtshornhaut wird ausschließlich die Descemetmembran (grün) samt Endothel (beige) entnommen und durch ein Transplantat aus Stroma (hellblau-schraffiert), Descemetmembran (rot) und Endothel (beige) ersetzt. Die Vernarbungsreaktionen (grau) zwischen Spender- und der aufgeklärten Wirtshornhaut fallen schwächer aus bei der DLEK.

C: Descemet Membrane Endothelial Keratoplasty (DMEK): Von der Wirtshornhaut wird ausschließlich die Descemetmembran (grün) und das erkrankte Endothel (beige) entnommen und danach ein Transplantat aus Descemetmembran (rot) und Endothel (beige-schwarz) an der Rückfläche der Wirtshornhaut nahtfrei adaptiert. Hierbei kommt es nicht zur Entstehung von Vernarbungsreaktionen zwischen Spender- und der aufgeklärten Wirtshornhaut.

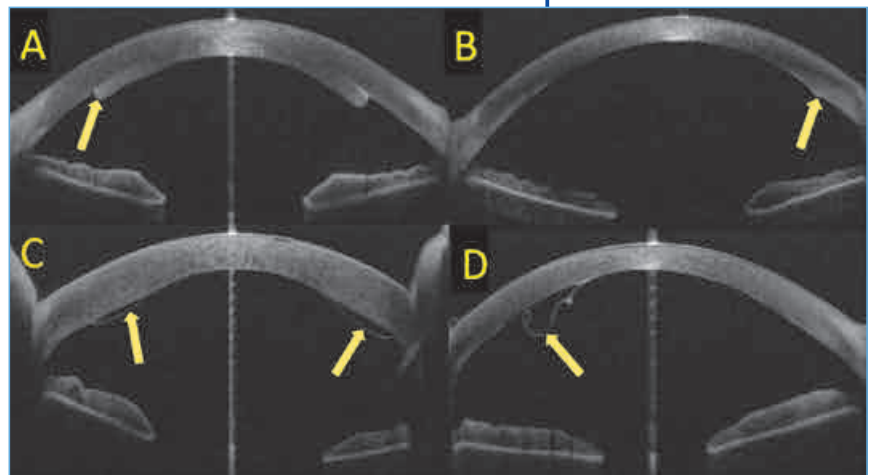
Abbildung 2■ **Ablauf einer DMEK.****A:** Descemetorhexis.**B:** Injektion des Transplantates in die Vorderkammer.**C:** Platzierung einer ersten kleinen Luftblase in der Transplantatrolle.**D:** Beginn der Transplantatentfaltung durch vorsichtige massierende Eindellungen an der Hornhautoberfläche.**E:** Vollständige Entfaltung des Transplantates auf der Iris.**F:** Rasches Ablassen der Luftblase, so dass sich das Transplantat nicht mehr einrollen kann.**G:** Langsame Expansion der Luftblase unterhalb des Transplantates.**H:** Komplette Luftfüllung der Vorderkammer mit vollständig an der Rückfläche der Wirtshornhaut anliegendem Transplantat.

zelmann et al., eingereicht). Das Einrollen der Endotheltransplantate wiederum macht es möglich, dass die Transplantate mit Hilfe von Intraokularlinseninjektoren oder feinen Glaspipetten über einen kleinen kornealen Tunnel (2–2,5 mm) in die Vorderkammer implantiert werden können. Anschließend wird das Transplantat zunächst auf der Iris entfaltet und schließlich durch eine Luftblase an der Rückfläche der Wirtshornhaut adaptiert (**Abbildung 2**). Das Fehlen von Stromafasern am Transplantat bei der DMEK führt dazu, dass deutlich bessere visuelle Ergebnisse als nach DSAEK oder perforierender Keratoplastik erreicht werden können [16]. Nach eigenen Erfahrungen erreichten beim Fehlen von visuslimitierenden Begleiterkrankungen nahezu alle Patienten eine Sehschärfe von $\geq 0,8$ innerhalb von nur 6 Monaten nach DMEK. In einer Serie von Price et al. erreichten 38% der Patienten nach DMEK eine Sehschärfe von $\geq 1,0$ und nur 8% der Patienten nach DSAEK [22], so dass in einer Patientenbefragung 85% die DMEK der DSAEK vorziehen würden. Daneben sind die Änderungen des Refraktionszustandes nach DMEK ebenfalls geringer als nach DSAEK oder perforierender Keratoplastik [23]. Neben den offensichtlichen visuellen Vorteilen kommt es nach DMEK außerdem wesentlich seltener zu Abstoßungsreaktionen [18]. Allerdings ist der primäre Endothelzellverlust nach DMEK ähnlich wie bei der DSAEK durch Transplantatpräparation und -entfaltung im Vergleich zur perforierenden Keratoplastik deutlich erhöht [16]. Außerdem scheint die Rate an primären Transplantatversagen nach DMEK höher zu sein als nach perforierender Keratoplastik, was vermutlich ebenfalls an der perioperativen Endothelschädigung liegt. Mit zunehmender Erfahrung des Operateurs mit dieser anspruchsvollen Operationstechnik scheint diese Rate jedoch deutlich zu sinken [16]. Der chronische Endothelzellverlust nach DMEK wiederum scheint geringer [24, 25] auszufallen als nach perforierender Keratoplastik, so dass das langfristige Transplantatüberleben möglicherweise

nicht eingeschränkt ist, obwohl hierzu noch nicht ausreichend Ergebnisse von Langzeitstudien vorliegen. Schließlich ist die Rate an Transplantatdislokationen und damit einhergehend die Rate an wiederholten Luftfüllungen der Vorderkammer nach DMEK höher als nach DSAEK, was für die frühe postoperative Nachsorge in den ersten 2–3 Wochen nach der Operation von Bedeutung ist [26, 27]. Bezüglich der langfristigen Nachbetreuung wird trotz des verminderten Abstoßungsrisikos empfohlen, über 6–12 Monate nach DMEK ausschließlich mit topischen Steroiden nachzubehandeln.

Schließlich bleibt zu berücksichtigen, dass die Auswahl der Patienten hinsichtlich des jeweiligen Operationsverfahrens von entscheidender Bedeutung ist. So scheint die perforierende Keratoplastik bei Patienten mit lange bestehender bullöser Keratopathie, die zu einem fibrotischen Umbau des kornealen Stromas mit irreversiblen Transparenzverlust geführt hat, oder in komplexen klinischen Situationen (zum Beispiel Aphakie und Aniridie) weiterhin die Methode der ersten Wahl. Die DSAEK wiederum erscheint in schwierigen Ausgangssituationen (zum Beispiel bei Aphakie oder Aniridie oder bei sehr tiefer Vorderkammer nach Vitrektomie), die eine Entfaltung des DMEK Transplantates erschweren bzw. unmöglich machen, besser geeignet als eine DMEK. Die DMEK schließlich ist Methode der ersten Wahl bei allen anderen Patienten, wobei auf Grund der sehr guten visuellen Ergebnisse und des geringen Abstoßungsrisikos die Operationsindikation auch in früheren Stadien des Endothelversagens gestellt werden kann, um den irreversiblen Umbauprozessen in der Kornea vorzubeugen. Dies gilt besonders im Falle von geplanten Kataraktoperationen bei Patienten mit Fuchsscher Endotheldystrophie, die dann als kombinierte Operation mit einer DMEK durchgeführt werden sollten.

Trotz der augenscheinlichen optischen Vorteile scheint der Respekt vor einem präparationsbedingten Transplantatverlust und einem manipulationsbedingten Transplantatversagen der Grund zu sein, warum sich die DMEK weltweit noch nicht gegenüber der besser standardisierten DSAEK durchgesetzt hat. Letztlich scheint es jedoch nur eine Frage der Zeit, bis ausreichend klinische Daten vorliegen, die die Überlegenheit der DMEK gegenüber der DSAEK und der perforierenden Keratoplastik weiter untermauern und so zu einer weiteren Verbreitung dieser Operationstechnik beitragen werden.



LITERATUR

- Zirm E.K. Eine erfolgreiche totale Keratoplastik (A successful total keratoplasty). 1906. *Refract Corneal Surg.* 1989 Aug; 5 (4): 258–61.
- Cursiefen C., Seitz B., Kruse F. Hornhauttransplantation: Glänzende Bilanz und viele Perspektiven. *Dtsch Arztebl.* 2005; 102 (45): A–3078/B–2603/C–2445.
- Hoffmann F. [Suture technique for perforating keratoplasty (author's transl)]. *Klin Monatsbl Augenheilkd.* 1976; 169 (5): 584–90.
- Maier P., Reinhard T. [Keratoplasty: laminate or penetrate? Part 1: penetrating keratoplasty]. *Ophthalmologe.* 2009 Jun; 106 (6): 563–569; quiz 570.
- Tillet C. Posterior lamellar keratoplasty. *Am J Ophthalmol.* 1956; 41: 530–3.
- Maier P., Reinhard T. [Keratoplasty: laminate or penetrate? Part 2: lamellar keratoplasty]. *Ophthalmologe.* 2009 Jul; 106 (7): 649–662; quiz 663.
- Melles G.R.J., Wijdh R.H.J., Nieuwendaal C.P. A technique to excise the descemet membrane from a recipient cornea (descemetorhexis). *Cornea.* 2004 Apr; 23 (3): 286–8.
- Bahar I., Kaiserman I., Lvinger E., Sansanayudh W., Slomovic A.R., Rootman D.S. Retrospective contralateral study comparing descemet stripping automated endothelial keratoplasty with penetrating keratoplasty. *Cornea.* 2009 Jun; 28 (5): 485–8.
- 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 Aug; 21 (4): 339–45.
- Bachmann B.O., Pogorelov P., Kruse F.E., Cursiefen C. [Patient satisfaction after posterior lamellar keratoplasty (DSAEK)]. *Klin Monatsbl Augenheilkd.* 2008 Jun; 225 (6): 577–81.
- Bahar I., Kaiserman I., McAllum P., Slomovic A., Rootman D. Comparison of posterior lamellar keratoplasty techniques to penetrating keratoplasty. *Ophthalmology.* 2008 Sep; 115 (9): 1525–33.
- Anshu A., Price M.O., Tan D.T.H., Price F.W. Jr. Endothelial keratoplasty: a revolution in evolution. *Surv Ophthalmol.* 2012 Jun; 57 (3): 236–52.
- Heinzelmann S., Maier P., Reinhard T. [Perspectives of posterior lamellar keratoplasty. In search of the perfect lamella]. *Ophthalmologe.* 2011 Sep; 108 (9): 825–32.
- Heinzelmann S., Maier P., Böhringer D., Auw-Hädrich C., Reinhard T. Visual outcome and histological findings following femtosecond laser-assisted versus microkeratome-assisted DSAEK. *Graefes Arch. Clin. Exp. Ophthalmol.* 2013 May 10.
- Arenas E., Esquenazi S., Anwar M., Terry M. Lamellar corneal transplantation. *Surv Ophthalmol.* 2012 Nov; 57 (6): 510–29.
- Maier P., Reinhard T., Cursiefen C. Descemet stripping endothelial keratoplasty-rapid recovery of visual acuity. *Dtsch Arztebl Int.* 2013 May; 110(21):365–71.
- Ratanasit A., Gorovoy M.S. Long-term results of Descemet stripping automated endothelial keratoplasty. *Cornea.* 2011 Dec; 30 (12): 1414–8.
- Anshu A., Price M.O., Price F.W. Jr. Risk of corneal transplant rejection significantly reduced with Descemet's membrane endothelial keratoplasty. *Ophthalmology.* 2012 Mar; 119 (3): 536–40.
- Melles G.R.J., Ong T.S., Ververs B., van der Wees J. Descemet membrane endothelial keratoplasty (DMEK). *Cornea.* 2006 Sep; 25 (8): 987–90.
- Kruse F.E., Laaser K., Cursiefen C., Heindl L.M., Schlötzer-Schrehardt U., Riss S., et al. A stepwise approach to donor preparation and insertion increases safety and outcome of Descemet membrane endothelial keratoplasty. *Cornea.* 2011 May; 30 (5): 580–7.
- Schlötzer-Schrehardt U., Bachmann B.O., Laaser K., Cursiefen C., Kruse F.E. Characterization of the cleavage plane in Descemet's membrane endothelial keratoplasty. *Ophthalmology.* 2011 Oct; 118 (10): 1950–7.
- Guerra F.P., Anshu A., Price M.O., Price F.W. Endothelial keratoplasty: fellow eyes comparison of Descemet stripping automated endothelial keratoplasty and Descemet membrane endothelial keratoplasty. *Cornea.* 2011 Dec; 30 (12): 1382–6.
- Ham L., Dapena I., Moutsouris K., Balachandran C., Frank L.E., van Dijk K., et al. Refractive change and stability after Descemet membrane endothelial keratoplasty. Effect of corneal dehydration-induced hyperopic shift on intraocular lens power calculation. *J Cataract Refract Surg.* 2011 Aug; 37 (8): 1455–64.
- Cursiefen C., Kruse F.E. [DMEK: Descemet membrane endothelial keratoplasty]. *Ophthalmologe.* 2010 Apr; 107 (4): 370–6.

Abbildung 3

■ *Optische Kohärenztomographie der vorderen Augenabschnitts.*

A: Anliegendes DSAEK Transplantat (Pfeil).

B: Das vollständig anliegende DMEK Transplantat liegt vor dem kornealen Tunnel und ist eben so erkennbar (Pfeil).

C: Hornhautödem mit peripher nicht vollständig anliegendem DMEK Transplantat zwei Tage postoperativ.

D: Nicht vollständig anliegendes DMEK Transplantat 3 Monate postoperativ, wobei zu beachten ist, dass sich darüber kein Hornhautödem gebildet hat.

25. Baydoun L., Tong C. M., Tse W. W., Chi H., Parker J., Ham L., et al. Endothelial Cell Density After Descemet Membrane Endothelial Keratoplasty: 1 to 5-Year Follow-up. *Am. J. Ophthalmol.* 2012 Oct; 154 (4): 762–3.
26. 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 Jun; 153 (6): 1082–1090.e2.
27. Guerra F.P., Anshu A., Price M. O., Giebel A. W., Price F.W. Descemet's membrane endothelial keratoplasty: prospective study of 1-year visual outcomes, graft survival, and endothelial cell loss. *Ophthalmology.* 2011 Dec; 118 (12): 2368–73.



KONTAKT



PD Dr. med. Philip Maier studierte nach der Schulausbildung am Eberhard Ludwigs-Gymnasium in Stuttgart zunächst von 1993 bis 1994 Biologie in Konstanz und anschließend von 1994 bis 2001 Humanmedizin in Freiburg. 2001 erfolgte seine Promotion am Institut für Medizinische Mikrobiologie und Hygiene, in der Abteilung Virologie an der Albert-Ludwigs-Universität Freiburg. Seit 2001 ist er wissenschaftlicher Mitarbeiter der Universitäts-Augenklinik. 2006 wurde er Facharzt für

Augenheilkunde und Leiter der Lions Hornhautbank Baden-Württemberg sowie Oberarzt an der Universitäts-Augenklinik Freiburg, wo er 2007 die Leitung des Schwerpunkts »Refraktive Chirurgie« übernahm. Im Jahr 2010 wurde er Lehrbeauftragter der Universitäts-Augenklinik Freiburg und leitet seit 2011 außerdem den Schwerpunkt »Hornhaut- und Bindehauterkrankungen«. 2012 folgte seine Habilitation an der Albert-Ludwigs-Universität Freiburg, mit dem Thema »Bedeutung von Zytokinen im Kammerwasser für das Risiko und die Entstehung von Abstoßungsreaktionen nach perforierender Keratoplastik«. Bisher hat er mehr als 47 Publikationen in Peer reviewed Journals sowie 3 Buchkapitel veröffentlicht. Daneben ist er Mitglied in verschiedenen Fachgesellschaften und als Gutachter für zahlreiche wissenschaftliche Zeitschriften tätig.

PD Dr. Philip Maier

Universitäts-Augenklinik
Killianstraße 5
79106 Freiburg
Telefon: 0761 270-40060
Telefax: 0761 270-40630
E-Mail: philip.maier@uniklinik-freiburg.de



KONTAKT



Prof. Dr. Daniel Böhringer ist seit 2007 Oberarzt und Leiter des Schwerpunktes klinische Studien an der Universitäts-Augenklinik Freiburg. Seine Approbation als Arzt erfolgte 1999. Von 2000 bis 2003 arbeitete er als

Weiterbildungsassistent an der Universitäts-Augenklinik Düsseldorf (Direktor Prof. Dr. R. Sundmacher). 2003 wechselte er an die Universitäts-Augenklinik Freiburg, dort nahm er eine Stelle als Weiterbildungsassistent an. 2005 übernahm er die Facharztstätigkeit an der Universitäts-Augenklinik Freiburg. 2008 folgte seine Habilitation durch die hohe Medizinische Fakultät der Universität zu Freiburg. 2008 folgte der Studienleiterkurs (incl. GCP-Training). 2011 erhielt er den Troutman Price of the Cornea Society. Die Ernennung zum außerplanmäßigen Professor für Augenheilkunde erfolgte 2011. Seit 2012 ist er Mitglied des Editorial Boards Cornea Journal.

Prof. Dr. Daniel Böhringer

Universitäts-Augenklinik
Killianstraße 5
79106 Freiburg
E-Mail:
daniel.boehringer@uniklinik-freiburg.de

Prof. Dr. Thomas Reinhard ist seit 2003, als Ärztlicher Direktor an der Universitäts-Augenklinik Freiburg tätig. Er promovierte 1989 an der RWTH Aachen. Seine Habilitation erfolgte 1996 an der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf. Seit 2008, ist er Mitglied des Gesamtpräsidiums der Deutschen Ophthalmologischen Gesellschaft (DOG) und seit 2009 des Geschäftsführenden Präsidiums. Außerdem ist er Sprecher der Sektion Gewebetransplantation und Biotechnologie der DOG (seit 2008). Zudem ist er seit 2001 Vorstandsmitglied der Sektion Kornea der DOG. Und seit 2006 Mitglied des Wissenschaftlichen Beirats der Bundesärztekammer. 2009 wurde er Mitglied des Stiftungsrats der Stiftung Europäischer Gewebebanken. Außerdem betätigt er sich auch als Fachredakteur, Rubrik-/Sektionsherausgeber *European Manual of Ophthalmology* (2003–2011), *Der Ophthalmologe* (seit 2006), *Deutsches Ärzteblatt* (seit 2010). Präsident der DOG war er von 2010 bis 2011, Vizepräsident von 2009 bis 2012. Zudem ist er Mitglied des Vorstands von *EUCornea* (2009 bis 2013). Herr Prof. Dr. Reinhard war außerdem Prodekan der Medizinischen Fakultät Freiburg (von 2006 bis 2009), Erster Vorsitzender der *Freiburger Medizinischen Gesellschaft* (2004 bis 2007), *Sprecher des Augennetzes Süd-*

den (2008 bis 2011) und von 2006 bis 2009 Vorstandsmitglied von *Bio Implant Services (BIS, Leiden/Niederlande)*. 1994 bis 2003 half er beim Aufbau und der Leitung der *LIONS Hornhautbank NRW*. 2003 bis 2005 folgte der Aufbau und die Leitung der *LIONS Hornhautbank Baden-Württemberg*. 2006 bis 2009 war er Vorstandsmitglied des Bundes der Deutschen Ophthalmochirurgen (BDOC). Bisher hat er 307 schriftliche Arbeiten (darunter 251 in wissenschaftlichen Zeitschriften mit Review-System) veröffentlicht, Impact-Factor-Summe 363, Zitationen 2.915 (google), Hirsch-Index 29 (google), i10-Index 93 (google). Außerdem hat er 740 mündliche Beiträge (eingeladene Referate, Vorträge, Kurse, Poster, Videos) gehalten. Er organisierte 97 wissenschaftliche Tagungen/Kongresse, Treffen, Symposien und Augenärzteabende, darüberhinaus auch Moderationen von 65 wissenschaftlichen Sitzungen.



Prof. Dr. Thomas Reinhard

Universitäts-Augenklinik
Killianstraße 5
79106 Freiburg
E-Mail:
thomas.reinhard@uniklinik-freiburg.de

KONTAKT



Biotechnologische Therapieansätze zur Behandlung chronischer Erkrankungen der Augenoberfläche

PROF. DR. MED. DANIEL MELLER, DIPL.-BIOL. HENNING THOMASEN, SIMONE SCHOLZ, KHALEDA AMIR, PROF. DR. MED. KLAUS-PETER STEUHL

Klinik für Erkrankungen des vorderen Augenabschnitts,
Zentrum für Augenheilkunde,
Universität Duisburg-Essen,
Essen, Deutschland

BEDEUTUNG EPITHELIALER STAMMZELLEN FÜR DIE AUGENOBERFLÄCHE

Die Augenoberfläche setzt sich aus Hornhaut-, Limbus- und Bindehautepithel zusammen (**s. Abb. 1**). Diese drei Strukturen und ein stabiler präokulärer Tränenfilm bestimmen maßgeblich die Integrität der Augenoberfläche. Erkrankungen wie z. B. das Stevens-Johnson Syndrom, das okuläre Narbenpemphigoid, Verätzungen und Verbrennungen, Kontaktlinsen-induzierte Keratopathien, oder multiple chirurgische Eingriffe am Limbus führen in der Regel zum Zusammenbruch der Integrität der Augenoberfläche [1]. Dieser ist mit einem deutlichem Verlust der Sehschärfe, Einwachsen von Gefäßen, chronischer Entzündung und Transparenzverlust der Hornhaut bis hin zur Erblindung verbunden. Ursache dieser der Erkrankungen ist der Verlust der Population der epithelialen Stamm- und Progenitorzellen des Limbus (LSPZs) [1].

STAMMZELLEN DES HORNHAUTEPITHEL

Eine Charakterisierung der LSPZs ist bisher noch nicht ausreichend erfolgt. Zu den anerkannten Eigenschaften dieser Zellen gelten derzeit folgende Charakteristika:

Sie sind im basalen Epithel des Limbus lokalisiert, der die anatomische Brücke zwischen Bindehaut und Hornhaut bildet, und eine gut geschützte, vaskularisierte anatomische Nische darstellt. Die LSPZ sind sowohl unter physiologischen und als auch unter pathologischen Bedingungen die regenerative Quelle des Hornhautepithels. Untersuchungen zur Differenzierung des okulären Oberflächenepithels haben gezeigt, dass das basale Limbusepithel die im differenzierten Hornhautepithel typischerweise vorkommenden Zytokeratine K3 und K12 und Connexine Cx43 und Cx26 nicht exprimiert. Weiterhin zeigen sie eine niedrige Zellteilungsrate, die aber aktivierbar ist. Sie sind

dabei in der Lage DNS-Markierungen längerfristig zu binden (sogenannte »label retaining cells«), beides typische Merkmale von Stammzellen. Des Weiteren besitzen LSPZs bei gemeinsamer Kultur mit 3T3 Fibroblasten eine große Koloniebildungsfähigkeit und eine hohe Resistenz gegenüber Phorbol ester. Bisher konnten noch keine definitiven Biomarker zur Identifikation von limbalen SPZs etabliert werden. Der Transkriptionsfaktor p63, der in der Tumorsuppression und Morphogenese eine wichtige Rolle spielt und als ein Marker für limbale SPZs vorgestellt wurde, zeigt nach neuesten Untersuchungen eher die zelluläre Proliferationskapazität an und wird deshalb nicht nur alleine in limbalen Stamm- und Vorläuferzellen gefunden. ABCG2, ein Transporterprotein der ATP-Familie, wurde hingegen als genereller Stammzellmarker beschrieben und stellt ein geeignetes Hilfsmittel zur Anreicherung von primitiven Vorläuferzellen dar. Aufgrund der Tatsache, dass es keinen Biomarker gibt, der als alleiniger limbaler Stammzellmarker angesehen werden kann, ist es zweckmäßig zur Charakterisierung von LSPZs eine Kombination verschiedener Marker anzuwenden mit denen unterschiedliche den Stammzellen zugeschriebene Eigenschaften erfasst werden können [2–6].

THERAPIEKONZEPTE BEI STAMMZELLINSUFFIZIENZ

Obwohl die Hornhautverpflanzung eine etablierte chirurgische Methode mit hoher Erfolgsrate darstellt, ist in Fällen mit Beteiligung und Zerstörung der Limbusregion der Hornhaut eine Hornhauttransplantation alleine wegen der hohen Abstoßungsrate nicht sinnvoll. So haben die in den letzten Jahren gewonnenen Erkenntnisse der Biologie der Augenoberfläche zur Entwicklung neuer therapeutischer Strategien zur Rekonstruktion der Augenoberfläche geführt.

Zur Therapie der verschiedenen Formen der Stammzellinsuffizienz ist eine chirurgische Intervention notwendig, die Übertragung gesunder

Interessenkonflikt:

Die Autoren geben an, dass keine Interessenkonflikte bestehen.

Stammzellen zum Ziel hat. Verschiedene chirurgische Methoden wie z. B. die autologe oder allogene Limbustransplantation allein oder kombiniert mit einer Amnionmembrantransplantation wurden in der Literatur mit unterschiedlichen Erfolgsraten als Technik für den Stammzellersatz beschrieben. Die Weiterentwicklung zellbiologischer Methoden, insbesondere das sogenannte *Tissue-Engineering* erlauben mittlerweile die Kultur von Limbusepithelzellen [7–9]. Mit dieser Technik ist es möglich geworden aus der heterogenen Zellpopulation in der Kultur ein transplantationsfähiges Epithel zu erzeugen. Ob dabei eine Expansion von repopulierenden limbalen Stammzellen stattgefunden hat, ist zurzeit unklar und wird in eigenen, durch die DOG- und DFG-geförderten Untersuchungen analysiert.

TISSUE-ENGINEERING VON LIMBUSEPITHEL MIT HILFE DER AMNIONMEMBRAN

Seit nunmehr über 10 Jahren wird kultiviertes, autologes Limbusepithel zur Therapie der limbalen Stammzellinsuffizienz eingesetzt. Es existieren dabei verschiedene Techniken zur Kultivierung, die von verschiedenen Gruppen angewendet werden. Diese umfassen im Vergleich zueinander oftmals sehr unterschiedliche Konzepte, darunter finden sich zum Beispiel die Co-Kultivierung der limbalen Epithelzellen mit α 3T3 Fibroblasten der Maus oder die Anwendung des so genannten »Air-lifting« zur Generation von stratifiziertem Epithel. Als Parameter für die Evaluation des Therapieerfolges der jeweiligen Kultivierungsmethoden werden sowohl der Visus des Patienten als auch die Ausbildung und Stabilität des neugebildeten Hornhautepithels herangezogen. Ein Vergleich zeigt dabei, dass alle Techniken in der Lage sind zu einer Verbesserung des klinischen Befundes zu führen. Besonders gute Ergebnisse wurden mit der autologen *ex-vivo* Expansion limbalen Epithelzellen auf einer Amnionmembran erzielt [7–9]. Bei der Methode werden, klinisch und experimentell, bei unilateraler Stammzellinsuffizienz vom gesunden Auge eine 1-2 mm große Biopsie am Limbus entnommen und die Epithelzellen *in vitro* auf Amnionmembranen expandiert. Diese *ex-vivo* Expansion von limbalen Vorläuferzellen ist im Vergleich zu der traditionellen autologen Limbustransplantation, in der bis zu 50% des Limbus vom gesunden Partnerauge auf das erkrankte Auge transplantiert werden, weniger traumatisierend.

Der Amnionmembran kommt bei diesem Verfahren die Rolle des Wachstumsstrats, auf dem die LSPZs zu einem Monolayer heranwachsen, und des Carriers, mit dem zusammen die Zellen transplantiert werden, zu. Da die auf Amnionmembran kultivierten LSPZ einen undifferenzierten Phänotyp aufweisen, geht man davon aus,

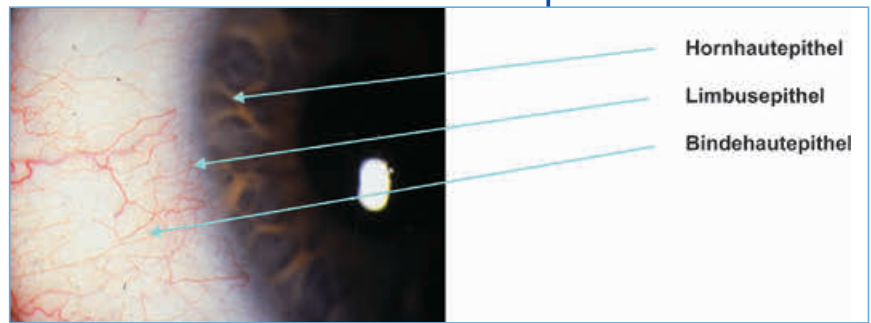


Abbildung 1

■ Oberflächenepithelien
des menschlichen Auges.

dass die Membran eine Mikroumgebung bildet, welche die ursprüngliche limbale Stammzellnische simuliert. Vergleichende Untersuchungen zur Basalmembran des Limbus und der Amnionmembran zeigten, dass die limbale Stammzellnische und die Amnionmembran in diesem Punkt nicht vollständig identisch sind. Die Amnionmembran stellt somit keinen identischen Ersatz für die eigentliche Nische dar, kommt dieser aber als Surrogat recht nahe. Aufgrund dieser Eigenschaft ist es von Bedeutung bei der Präparation des Gewebes dessen Nischenfunktion möglichst zu erhalten.

Erste Ergebnisse der von uns durchgeführten klinischen Studie wurden kürzlich veröffentlicht [9]. In dieser Studie sollte die Wirksamkeit der *ex-vivo* Expansion von Limbusepithel zur Oberflächenrekonstruktion bei limbalen Stammzellinsuffizienz (LSZI) untersucht werden. Die Transplantation des *ex-vivo* expandierten Limbusepithels führte zur Stabilisierung des kornealen Oberflächenepithels und zu einem signifikanten Visusgewinn (**Abbildung 2**). Die Prognose wurde durch die Verwendung autologen Ausgangsmaterials und die Rekonstruktion der Hornhautoberfläche deutlich verbessert. Postoperativ zeigte sich überwiegend ein stabiles Hornhautepithel mit einer deutlichen Reduktion der Hornhautvaskularisation und Steigerung der Hornhauttransparenz und Sehschärfe. Experimentelle Befunde zeigten zudem, dass durch die Transplantation von kultivierten LSPZs bei den Patienten eine reguläre Hornhautoberfläche rekonstruiert werden konnte.

Trotz der erreichten klinischen Erfolge beim Tissue-Engineering der Hornhautoberfläche liegt die Erfolgsquote bei der autologen Transplantation von kultiviertem Limbusepithel im Mittel bei 77% (abhängig von der Ursache der Stammzellinsuffizienz) (**Abbildung 2**). In den übrigen behandelten Fällen kommt es zu keiner dauerhaften Stabilisierung des Hornhautepithels. Eine mögliche Erklärung hierfür ist häufig die primär vorliegende Ausgangssituation einer schweren Stammzellinsuffizienz, es könnte aber auch an der Qualität des Transplantates bzw. in der zu geringen Gesamtzahl der transplantierten Stamm- und Vorläuferzellen liegen. Dass die Zahl der trans-

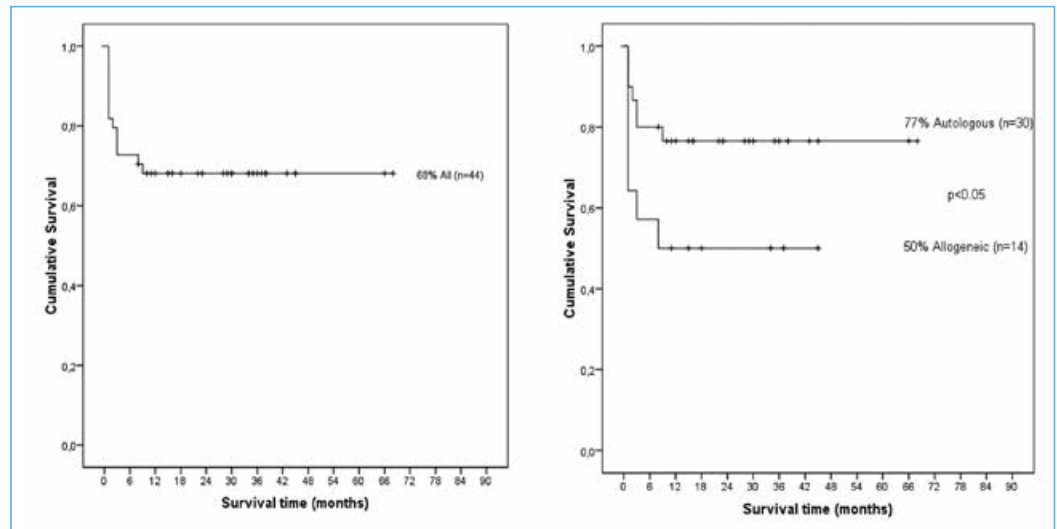
Abbildung 2

■ Überlebensrate von *ex-vivo* expandierten Stammzell-Transplantaten (Pauklin et al. 2010)

Linke Abbildung: Gesamtüberlebensrate der insgesamt transplantierten, expandierten Zellen (autolog und allogene) in Abhängigkeit der Zeit.

Y-Achse: Überlebensrate, X-Achse: Zeit (Monate);

Rechte Abbildung: Überlebensrate der Transplantate unterteilt in autologe und allogene Transplantation Y-Achse: Überlebensrate, X-Achse: Zeit (Monate).



plantierten LSPZs für den Erfolg einer Behandlung essentiell ist, wurde im klinisch am besten etablierten Stammzellsystem, der Hämatopoese, vielfach gezeigt. Aus diesem Grunde nehmen wir an, dass ein möglichst hoher Anteil an undifferenzierten Stammzellen während der *ex-vivo* Expansion erreicht werden sollte, um nach Transplantation auf der Augenoberfläche eine effiziente Regeneration und langfristige Erhaltung des Cornea-Epithels zu erreichen.

LITERATUR

1. Tseng S. C. G. (1996) Regulation and clinical implications of corneal epithelial stem cells. *Mol Biol Rep* 23: 47–58.
2. Schermer A., Galvin S., Sun T.-T. Differentiation-related expression of a major 64K corneal keratin in vivo and in culture suggests limbal location of corneal epithelial stem cells. *J Cell Biol* 1986; 103: 49–62.
3. Coatsarelis G., Cheng S. Z., Dong G., et al. Existence of slow-cycling limbal epithelial basal cells that can be preferentially stimulated to proliferate: implications on epithelial stem cells. *Cell* 1989; 57: 201–9.
4. Matic M., Petrov I. N., Chen S., et al. Stem cells of the corneal epithelium lack connexins and metabolite transfer capacity. *Differentiation* 1997; 61: 251–60.
5. Pellegrini G., Dellambra E., Golisano O., et al. p63 identifies keratinocyte stem cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2001; 98: 3156–61.
6. Budak M. T., Alpdogan O. S., Zhou M., Lavker R. M., Akinci M. A., Wolosin J. M. (2005) Ocular surface epithelia contain ABCG2-dependent side population cells exhibiting features associated with stem cells. *J Cell Sci*. Apr 15; 118 (Pt 8): 1715–24.
7. Tsai R. J. F., Li L.-M., Chen J.-K. (2000) Reconstruction of damaged corneas by transplantation of autologous limbal epithelial cells. *N Eng J Med* 343: 86–93.
8. Pauklin M., Steuhl K. P., Meller D. (2009) Characterization of the corneal surface in limbal stem cell deficiency and after transplantation of cultivated limbal epithelium. *Ophthalmology* 116: 1048–56.
9. Pauklin M., Fuchsluger T. A., Westekemper H. et al. (2010) Midterm results of cultivated autologous and allogeneic limbal epithelial transplantation in limbal stem cell deficiency. *Dev Ophthalmol* 45: 57–70.

Prof. Dr. med. Daniel Meller ist Ophthalmologe an dem Zentrum für Augenheilkunde, Klinik für Erkrankungen des vorderen Augenabschnitts in Essen (Direktor: Prof. Dr. med. Klaus-Peter Steuhl). Er studierte Humanmedizin an der Ruhr-Universität Bochum und promovierte dort 1995. Seine klinische Ausbildung zum Ophthalmologen hat er an der Augenklinik der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn absolviert. Er erhielt 1996 die Anerkennung als Facharzt für Augenheilkunde. Seine chirurgische Ausbildung zum Ophthalmochirurgen absolvierte er bei Herrn Professor Klaus-Peter Steuhl am Zentrum für Augenheilkunde, Klinik für Erkrankungen des vorderen Augenabschnitts in Essen. 2004 wurde er habilitiert und erhielt die *venia legendi* für das Fach Augenheilkunde. 2010 erfolgte die Verleihung einer außerplanmäßigen Professur und 2011 die Ernennung zum akademischen Direktor an der Universität Duisburg-Essen. Seit seinem dreijährigen Forschungsaufenthalt bei Professor Scheffer Tseng, Bascom Plamer Eye Institute, University of Miami, FL, USA leitet er verschiedene wissenschaftliche Projekte in dem von ihm gegründeten Hornhautlabor, die unter anderem durch die Deutsche Ophthalmologische Gesellschaft, Dr. Werner Jackstädt-Stiftung und die Deutsche Forschungsgemeinschaft (DFG) gefördert werden. Er beschäftigt sich mit der Pathologie und Behandlung von Erkrankungen des vorderen Augenabschnittes. Insbesondere die Entwicklung innovativer Behandlungsmethoden für Erkrankungen des okulären Oberflächenepithels stellt seinen klinischen und wissenschaftlichen Schwerpunkt dar. Ferner wurde unter seiner Federführung ein Musterantrag für die Beantragung zur Inverkehrbringung von Amniongewebe gemäß des Arzneimittelgesetzes (AMG §21a) in Zusammenarbeit mit der Sektion Gewebetransplantation und Biotechnologie der DOG beim Paul Ehrlich Institut erfolgreich gestellt. Hiermit wurden erstmalig sowohl die medizinischen als auch juristischen Grundlagen für die weitere, zukünftige Verwendung von Amniongewebe als Biomatrix in der Behandlung von Erkrankungen der Augenoberfläche geschaffen.

FÖRDERUNGEN UND AUSZEICHNUNGEN

Prof. Meller war während seines Studiums Stipendiat der Carl Duisberg Stiftung. Sein Forschungsaufhalt am Bascom Palmer Eye Institute in Miami, FL, USA wurde durch ein Habilitandenstipendium der Deutschen Forschungsgemeinschaft unterstützt. 2003 wurden seine Untersuchungen zur Transplantation von Amnionmembran und expandierten Stammzellen des okulären Oberflächenepithels mit dem Leonhard-Klein Preis der Leonhard-Klein Stiftung ausgezeichnet. Seine wissenschaftlichen Projekte wurden mehrfach durch Forschungsförderungspreise der AG Trockenes Auge und der Deutschen Ophthalmologischen Gesellschaft gefördert. 2011 erhielt Prof. Meller mit Dr. Pauklin den Julius Springer Preis für die beste wissenschaftliche Originalarbeit, die im Laufe des Jahres in der Zeitschrift *Der Ophthalmologe* erschienen war. Aktuell werden 2 große Forschungsvorhaben zur Stammzellforschung durch die Dr. Werner Jackstädt Stiftung (Thema: »Untersuchungen zur Expression von Stammzell-/Pluripotenzmarkern in epithelialen Tumoren der Augenoberfläche«) und der Deutschen Forschungsgemeinschaft (Thema: »Molekulare und funktionelle Charakterisierung von Stamm- und Progenitorzellen der menschlichen Hornhaut«; ME 1623/5-1) gefördert.



Professor Dr. med. Daniel Meller, FEBO

Ltd. Oberarzt
Zentrum für Augenheilkunde
Klinik für Erkrankungen
des vorderen Augenabschnitts
Universitätsklinikum Essen
Hufelandstraße 55
45122 Essen
Telefon: 0201 723-3745
Telefax: 0201 723-5645
E-Mail: daniel.meller@uk-essen.de

KONTAKT



Epidemiologie und Augenheilkunde: Erste Ergebnisse der Gutenberg-Gesundheitsstudie

PRIV.-DOZ. DR. MED. ALIREZA MIRSHAHI, FEBO
DR. MED. RENÉ HÖHN, FEBO
PROF. DR. MED. NORBERT PFEIFFER

Augenlinik der
Universitätsmedizin
Mainz

EINLEITUNG UND METHODEN

Die Epidemiologie der Augenkrankheiten ist ein wenig bearbeitetes Forschungsgebiet in Deutschland. Fast alle epidemiologischen Daten über die Prävalenz und Inzidenz augenärztlicher Erkrankungen sowie die große Mehrheit der Studientaten über Risikofaktoren und Assoziationen wichtiger Augenkrankheiten stammen aus dem Ausland. Darüber hinaus gibt es in der Bundesrepublik nur begrenzte Resultate über die ophthalmologische Versorgungslage. Vorhandene Studien aus dem Ausland zeigen, dass es eine erhebliche Variabilität in den epidemiologischen Daten gibt, die unter anderem auf unterschiedliche geografische, ethnische und soziale Faktoren der untersuchten Kohorten zurückzuführen ist. Der augenärztliche Teil der Gutenberg Gesundheitsstudie (*engl.* Gutenberg Health Study, kurz *GHS*) wurde konzipiert, um den nationalen Informationsbedarf über die Prävalenz, Inzidenz und Versorgung der wichtigen Augenkrankheiten zu decken und einen international konkurrenzfähigen wissenschaftlichen Beitrag zu den Risikofaktoren, Assoziationen und systemischen Implikationen von ophthalmologischen Krankheiten zu leisten [1, 2].

Die GHS ist eine prospektive, monozentrische, populationsbasierte Kohortenstudie an der Universitätsmedizin der Johannes Gutenberg-Universität Mainz. Es handelt sich um ein interdisziplinäres Projekt zur Untersuchung von Erkrankungen des Auges, des Herz-Kreislauf-Systems, der Psyche und des Immunsystems. Die Gesamtkohorte beinhaltet 15010 zufällig aus der Stadt Mainz und dem Landkreis Mainz-Binden ausgewählte Teilnehmer im Alter von 35 bis 74 Jahren beim Einschluss in die Studie. Die Fallzahlkalkulation beruht auf dem primären Endpunkt der Studie, nämlich dem erstmaligen Auftreten von Myokardinfarkt oder kardialen Tod. Gleichzeitig wird eine Biomaterialbank für zukünftige gezielte Untersuchungen aufgebaut. Darüber hinaus wurde die DNA der ersten 5000 Teilnehmer genotypisiert. Transkriptom-Analysen der RNA wurden bei 2200

Probanden durchgeführt. Eine detaillierte Darstellung des Studiendesigns wurde kürzlich publiziert [1]. **Tabellen 1 und 2** geben einen Überblick über die Untersuchungsprotokolle der Gutenberg Gesundheitsstudie. Zur Untersuchung von Assoziationen genetischer Polymorphismen und ophthalmologischer Phänotypen arbeitet die GHS als Mitglied zweier internationaler Konsortien – CREAM (Consortium Refractive Error and Myopia) und IGGC (International Glaucoma Genetics Consortium) – mit.

ERSTE ERGEBNISSE DER GHS

Im März 2012 konnten die Baseline-Untersuchungen der Gesamtkohorte von 15010 Teilnehmern abgeschlossen werden. Der 5-Jahres-Follow-up der Kohorte begann im April 2012. Die Studienkohorte ist nach Alter, Geschlecht und Wohnort (städtisch vs. ländlich) stratifiziert, wobei dies auch für Teilnehmer bis 5000 und bis 10000 gilt, so dass aussagekräftige Ergebnisse von Subkohorten bestimmt werden können.

CORNEOLOGISCHE RESULTATE:

Die GHS ist die erste populationsbasierte Studie in der Bundesrepublik, die die Alters- und Geschlechtsverteilung der zentralen Hornhautdicke ermittelt [3, 4]. Sie betrug im Mittel 557 μm ($\pm 34,2$) bei Männern und 552 μm ($\pm 35,3$) bei Frauen. Jüngere Teilnehmer hatten im Durchschnitt eine dickere Hornhaut. Der intraokulare Druck korrelierte mit der zentralen Hornhautdicke (IOD um 0,35–0,38 mmHg höher gemessen pro 10 μm Zunahme der Hornhautdicke; $r=0,45$ für Männer und $r=0,48$ für Frauen). Entgegen der vorliegenden asiatischen Daten konnte keine Korrelation zwischen der zentralen Hornhautdicke und kardiovaskulären Risikofaktoren bzw. Diabetes mellitus festgestellt werden [5]. Das heißt, dass die in Asien gefundene Assoziation nicht auf die Bevölkerung Mitteleuropas zutrifft. Die genomweite Analyse der Daten zeigte eine Assoziation von Loci

Allgemeine Daten	Anthropometrie
	Körpertemperatur
	Aktuelle Wetterdaten
	Körperliche Aktivität
	Ernährung
	Erfassung der Medikation
Kardiologische, angiologische und pulmonologische Untersuchungen	Elektrokardiogramm, Rhythmusstreifen
	Zwei- und dreidimensionale Echokardiographie
	Ruheblutdruck und Ruhepuls
	Sonographie der Halsschlagadern
	Neurokardiale Regulation
	Verschlussdruckmessung der Beine mit Bestimmung des Ankle-Brachial-Index
	Spirometrie
	Flussmedierte Vasodilatation und arterielle Steifigkeit, Volumenplethysmografie der Digitalarterie, digitale photoplethysmografische Pulskurvenanalyse
	Messung von Kohlenmonoxid in der Alveolarluft
Laborchemische Messungen	Blutbild, Elektrolyse, Nieren- und Leberwerte, Blutfette
	Basis- und Spezialwerte der Blutgerinnung, Herzenzyme
	Entzündungsparameter, Vitamine, ausgewählte Hormone
	Parameter des oxidativen Stresses, Urinanalyse
Psycho-soziale Erhebungen	Soziodemografie
	Inanspruchnahme medizinischer Versorgung
	Krebsvorsorge
	Geschlechtsspezifische Fragen
	Medizinische Anamnese – Gesundheit und Erkrankungen
	Klassische Risikofaktoren
	Erkrankungsspezifische Beschwerden und Pathologie
	Familienanamnese
	Kinder
	Gesundheitsverhalten
	Hobbys und Freizeitverhalten
	Rauchen, Passivrauchen, Alkoholkonsum
	Berufsanamnese
	Feinstaub- und Lärmbelastung
	Lebenszufriedenheit und Umweltfaktoren
	Häusliche Umgebung
	Neurokognitive Funktion
	Persönlichkeit, psychische Erkrankung und seelische Belastung
	Alltägliche Belastungen
	Soziale Integration
Psychosoziale Belastung am Arbeitsplatz	
Lebensereignisse	
Visuelle Lebensqualität	
Biomaterialien	Plasma, Serum, DNA, RNA, Urin, Zahntaschenabstrich, Tränenflüssigkeit

Tabelle 1

■ Kurzzusammenfassung der nicht-ophthalmologische Untersuchungen der GHS

Untersuchung	Gerät/Hersteller/Spezifikationen	
	Baseline	Follow-up
Objektive Refraktion	Humphrey® Automatisches Refrakto-/Keratometer (HARK) 599™,a	Humphrey® Automatisches Refrakto-/Keratometer (HARK) 599™,a
Korrigierter Visus		
Pachy- und Keratometrie	Pachycam™,b	Pentacam™,b
Gesichtsfeld	FDT Humphrey® Matrix Perimeter ^a	FDT Humphrey® Matrix Perimeter ^a
Augeninnendruck	Nidek NT-2000™ Non-Kontakt-Tonometer ^c	Nidek NT-2000™ Non-Kontakt-Tonometer ^c
Biometrie	–	Lenstar LS 900®, b
Biomikroskopie vorderer Augenabschnitt	Spaltlampe ^d	–
Fotodokumentation Augenhintergrund	Visucam ^{PRO NM,™,a} 45° Übersichtsaufnahme 30° Aufnahme Papille und Makula	Visucam ^{PRO NM,™,a} 45° Übersichtsaufnahme 30° Aufnahme Papille und Makula
Optische Kohärenztomographie	Spectralis™,e,* (Makula und Papille)	Spectralis™,e (Makula und Papille)
Schirmer-II-Test/ Tränenflüssigkeitsabnahme	Oxybuprocain-Hydrochlorid 0,4 % Augentropfen ^f , Schirmerteststreifen ^g	Oxybuprocain-Hydrochlorid 0,4 % Augentropfen ^f , Schirmerteststreifen ^g

^a Carl Zeiss Meditac AG, Jena, Deutschland, ^b Oculus, Wetzlar, Deutschland, ^c Nidek Co., Japan, ^d Haag Streit, Bern, Schweiz, ^e Heidelberg Engineering, Heidelberg, Deutschland, ^f OmniVision, Puchheim, Deutschland, ^g Optitech Eyecare, Allahabad, Indien
* seit 2011 Teil der Untersuchung

Tabelle 2

■ *Augenuntersuchung der Gutenberg Gesundheitsstudie bei Baseline (2007–2012) und Follow-up (2012–2017)*

auf Chromosomen 9q34 (Kollagen 5) und 16q24 mit der Hornhautdicke [6]. Eine genetische Kollaboration entdeckte multiple Keratokonus-assoziierte Loci [7].

GLAUKOMATOLOGISCHE ERGEBNISSE

Der Augeninnendruck (IOD) hatte – gemessen mit einem Non-Kontakt-Verfahren – einen Mittelwert von $14,0 \pm 2,6$ mmHg, was den niedrigsten Wert in kaukasischen populations-basierten Studienkohorten darstellt [8]. Es wurden positive Assoziationen mit der zentralen Hornhautdicke, brauner Irisfarbe, männlichem Geschlecht, Bluthochdruck, Rauchen und Taille-Hüft-Verhältnis (waist-hip-ratio) sowie eine negative Assoziation mit dem Alter bei Frauen gefunden. Die größte Korrelation fand sich zwischen dem IOD und der zentralen Hornhautdicke mit Zunahme des IOD um $0,35–0,38$ mmHg/10µm zentraler Hornhautdicke ($r=0,45$ für Männer und $r=0,48$ für Frauen). Der Einfluss dieser Assoziationen auf den klinischen Alltag sollte jedoch nicht überschätzt werden: es gibt einen statistisch untermauerten Zusammenhang zwischen dem Intraokular- und dem Blutdruck, die klinische Relevanz ist jedoch fragwürdig [9]. Konträr zu der bisherigen Lehrmeinung haben wir im Rahmen der GHS festgestellt, dass systemische Betablocker **keinen** Einfluss auf den Intraokulardruck haben. Dagegen fanden wir bei Probanden mit Einnahme von blutdrucksenkenden Mitteln, welche im Renin-Angiotensin-System (z. B. ACE-Hemmer und AT-Blocker) wirken, einen leicht höheren Augeninnendruck [10].

NEUROOPHTHAMOLOGISCHE DATEN:

Die Auswertung der Papillenfotos der ersten 5000 Teilnehmer ergab eine Prävalenz von ophthalmoskopisch sichtbaren Drusen der Papille von 0,5 % [11]. Papillenrandblutungen wurden bei 0,3 % und myelinisierte retinale Nervenfasern bei 0,1 % detektiert. Es wurde eine positive Assoziation zwischen einem erhöhten intraokularen Druck und Gesichtsfelddefekten und dem Nachweis von Drusen an der Papille gefunden. Auch ein erhöhter Serumcalciumwert war stark damit assoziiert. Ein Zusammenhang zwischen Fibrae medullares und anthropometrischen oder kardiovaskulären Risikofaktoren wurde nicht gefunden.

REFRAKTIVE ERGEBNISSE:

Erstmals wurde in einer kaukasischen Kohorte der Zusammenhang zwischen Refraktionsfehlern und Bildungsgrad untersucht. Es wurde nachgewiesen, dass sowohl eine höhere Schul-, als auch Berufsausbildung mit einem »myopic shift« in der Refraktion verbunden sind [12]. Im Unterschied zu den bisher verfügbaren Untersuchungen [13, 14], in denen Daten zur Korrelation zwischen Myopie und Bildung nach der Schulzeit fehlen, konnte gezeigt werden, dass sich der Trend in der Bildungsphase nach der Schulzeit fortsetzt: Auch Hochschulabsolventen sind häufiger kurzsichtig als Personen mit geringerer beruflicher Bildung. Einer multivariaten Analyse zufolge ist eine Person mit Hochschulabschluss und Abitur ca. eine Dioptrie myoper als jemand mit Hauptschul- und

Berufsschulabschluss. Erklären lässt sich diese Beobachtung damit, dass der Bildungsgrad als Surrogat für die Gesamtsumme der Nahsehleistung angesehen werden kann [13].

Eine vorläufige Auswertung der Refraktionsfehler von 9316 Studienteilnehmern zeigt, dass das sphärische Äquivalent bei diesen zwischen -21,5 und +13,88 Dioptrien lag (Mittelwert: $-0,36 \pm 2,53$). 34,6% der Personen waren myop und 33,0% hyperop, ein Astigmatismus bestand bei 32,3% und eine Anisometropie bei 13,2%. Die Prävalenz der Myopie nahm mit dem Alter ab, während Hyperopie, Astigmatismus und Anisometropie mit dem Alter zunahm. Daten der genomweiten Analyse zeigen einen Zusammenhang zwischen Variationen auf dem Chromosom 15q14 und dem Auftreten von Kurzsichtigkeit [15]. Auch wurden weitere assoziierte Single Nucleotide Polymorphisms (SNPs) entdeckt, deren ausführliche Darstellung den Rahmen dieser Arbeit sprengen würde [16].

RETINOLOGISCHE ERGEBNISSE:

Erstmalig liefert die GHS Daten aus Deutschland über die Prävalenz der altersbedingten Makuladegeneration (AMD) [17]. Anhand einer Auswertung der Fundusfotos von 4340 Studienteilnehmern wurden kleinere harte Drusen bei 37,4% gefunden, bei 11,9% fanden sich Frühzeichen einer AMD (weiche Drusen, Auffälligkeiten des retinalen Pigmentepithels). Eine fortgeschrittene AMD (geographische Atrophie oder neovaskuläre AMD) bestand in lediglich 0,1%. Hierbei ist zu beachten, dass die Altersobergrenze der Kohorte bei 74 Jahren liegt und eine höhere Prävalenz der neovaskulären AMD nach der ersten Follow-up-Untersuchung zu erwarten ist.

Die Gesamtprävalenz der diabetischen Retinopathie (DR) lag bei 21,7% der Zuckerkranken, wobei 5% an einer visusbedrohenden Retinopathie litten (diabetische Makulopathie und/oder proliferative DR und/oder schwerere nicht-proliferative DR). Detaillierte Ergebnisse der Retinopathiedaten werden in Kürze veröffentlicht. Mit Spannung erwarten wir auch die populationsbasierten Ergebnisse der Aderhautdickenmessung mittels Optischer Kohärenztomographie (OCT) in unserer Kohorte, die ab 2014 zu erwarten sind.

SCHLUSSFOLGERUNG UND AUSBLICK

Besonderheiten und Stärken der GHS verglichen mit anderen Kohortenstudien sind der populationsbasierte Ansatz, die außergewöhnliche Größe der Kohorte, die Interdisziplinarität der Datenerhebung und das Vorhandensein von fundierten genetischen Untersuchungen. Die Ergebnisse der Gutenberg Gesundheitsstudie (GHS) aus über

15000 Teilnehmern werden uns helfen, Diagnosekriterien und Krankheitsstadien genauer zu definieren, mögliche Assoziationen zwischen Augenkrankheiten und systemischen Faktoren zu erkennen und genetische Grundlagen der ophthalmologischen Krankheitsbilder besser zu verstehen. Wichtige aktuelle Auswertungsschwerpunkte sind neben epidemiologischen Grunddaten interdisziplinäre Fragestellungen, wie z.B. die mögliche Rolle des Vitamin-D-Stoffwechsels bei der Pathogenese der Myopie oder die Aussagekraft der diabetischen Retinopathie – als mikroangiopathische Komplikation der Zuckerkrankheit – bei der Vorhersage von kardiovaskulären Ereignissen, sowie deren Assoziation mit kardialen Funktions- und Strukturparametern. Im Dezember 2013 wird die 5-Jahres-Nachkontrolle einer GHS-Subkohorte von 5000 Teilnehmern abgeschlossen sein, sodass die Ergebnisse der Inzidenzanalyse 2014 zu erwarten sind.

LITERATUR

1. Mirshahi A., Ponto K.A., Höhn R., Wild P.S., Pfeiffer N. Ophthalmologische Aspekte der Gutenberg Gesundheitsstudie: Eine interdisziplinäre prospektive populationsbasierte Kohortenstudie. *Ophthalmologie*. 2013; 110 (3): 210–7.
2. Wild P.S., Zeller T., Beutel M., Blettner M., Dugi K.A., Lackner K.J., et al. [The Gutenberg Health Study]. *Bundesgesundheitsblatt, Gesundheitsforschung, Gesundheitsschutz*. 2012; 55 (6–7): 824–9.
3. Lamparter J., Hoffmann E.M., Kottler U., Mirshahi A., Hoehn R., Wolfram C., et al. Central Corneal Thickness and its Association with Ocular Parameters in a Large Central European Population – Results from the GHS (Gutenberg Health Study). *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2011; 52: ARVO Abstract #5185.
4. Hoffmann E.M., Lamparter J., Mirshahi A., Hoehn R., Wolfram C., Lorenz K., et al. Distribution of central corneal thickness and its association with ocular parameters in a large central European cohort: the Gutenberg Health Study. 2013 *PLoS one* (accepted for publication).
5. Su D.H., Wong T.Y., Wong W.L., Saw S.M., Tan D.T., Shen S.Y., et al. Diabetes, hyperglycemia, and central corneal thickness: the Singapore Malay Eye Study. *Ophthalmology*. 2008; 115 (6): 964–8 e1.
6. Hoehn R., Zeller T., Verhoeven V.J., Grus F., Adler M., Wolfs R.C., et al. Population-based meta-analysis in Caucasians confirms association with COL5A1 and ZNF469 but not COL8A2 with central corneal thickness. *Hum Genet*. 2012; 131 (11): 1783–93.
7. Lu Y., Vitart V., Burdon K.P., Khor C.C., Bykhovskaya Y., Mirshahi A., et al. Genome-wide association analyses identify multiple loci associated with central corneal thickness and keratoconus. *Nat Genet*. 2013; 45 (2): 155–63.
8. Hoehn R, Mirshahi A, Hoffmann EM, Kottler UB, Wild PS, Laubert-Reh D, et al. Distribution of intraocular pressure and its association with ocular features and cardiovas-

- cular risk factors: the Gutenberg Health Study. *Ophthalmology*. 2013;120(5):961-8.
9. Höhn R., Mirshahi A., Zwiener I., Laubert-Reh D., Pfeiffer N. Hängt der Intraokulardruck mit dem Blutdruck zusammen? *Ophthalmologie*. 2013; 110 (3): 218–23.
 10. Hoehn R., Mirshahi A., Schulz A., Wild P.S., Lackner K.J., Blettner M., et al. Intraocular pressure: Seasonal variations and associations with cardiovascular medication in the Gutenberg Health Study. *DOG-Abstract* 2013.
 11. Hoehn R., Butsch C., Zwiener I., Blankenberg S., Pfeiffer N., A M. Optic Disc Drusen: Prevalence, ocular and systemic associations in the Gutenberg Health Study. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2012; 53: ARVO Abstract #4885.
 12. Mirshahi A., Ponto K.A., Hoehn R., Zwiener I., Laubert-Reh D., N P. Myopia and Level of Education: The Gutenberg Health Study (GHS). *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2012; 53: ARVO Abstract #2739.
 13. Morgan I.G., Ohno-Matsui K., Saw S.M. Myopia. *Lancet*. 2012; 379 (9827): 1739–48.
 14. Schaeffel F. [Clinical risk factors for progressive myopia]. *Ophthalmologie*. 2012; 109 (8): 738–48.
 15. Verhoeven V.J., Hysi P.G., Saw S.M., Vitart V., Mirshahi A., Guggenheim J.A., et al. Large scale international replication and meta-analysis study confirms association of the 15q14 locus with myopia. The CREAM consortium. *Hum Genet*. 2012; 131 (9): 1467–80.
 16. Verhoeven V.J., Hysi P.G., Wojciechowski R., Fan Q., Guggenheim J.A., Hohn R., et al. Genome-wide meta-analyses of multiancestry cohorts identify multiple new susceptibility loci for refractive error and myopia. *Nat Genet*. 2013; 45 (3): 314–8.
 17. Kottler U.B., Kramann C., Hoehn R., Mirshahi A., Wolfgram C., Lorenz A., et al. Prevalence Of Age-related Maculopathy In A Large Central European Population: Results From The Population-based GHS (Gutenberg Heart Study). *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2011; 52: ARVO Abstract #93.



Privatdozent Dr. med. Alireza Mirshahi, FEBO, Jahrgang 1973, ist Oberarzt der Augenklinik der Universitätsmedizin Mainz (Direktor: Prof. Dr. med. Norbert Pfeiffer). Mirshahi studierte als Stipendiat der Aga Khan Foundation Humanmedizin in Frankfurt a.M., hatte Studienaufenthalte in Halifax und Leicester sowie einen Forschungsaufenthalt an der Harvard

Medical School, wo er den experimentellen Teil seiner Promotion durchführte. Nach der Facharztanerkennung 2005 wurde er Oberarzt am Klinikum Ludwigshafen. Es folgten der Europäische Facharztstitel 2006, die Habilitation 2009 und der Wechsel an die Mainzer Universitätsklinik 2010. Sein klinischer Schwerpunkt ist die operative Augenheilkunde, hier insbesondere die Netzhaut- und Glaskörper- sowie die Vorderabschnittschirurgie. Wissenschaftlich befasst er sich neben klinischen Studien mit der ophthalmologischen Epidemiologie mit besonderem Interesse an interdisziplinären Fragestellungen. Dr. Mirshahi ist der Herausgeber des *Video Journal of Vitreoretinal Surgery*, Editorial Board Member und Gutachter mehrerer internationaler Zeitschriften, sowie Träger der Kiewiet de Jonge-Medaille der ESCRS.

KONTAKT



Priv.-Doz. Dr. Alireza Mirshahi, FEBO
 Oberarzt der Augenklinik
 Universitätsmedizin der J. Gutenberg-Universität Mainz
 Langenbeckstraße 1
 55131 Mainz
 Telefon: 06131 17-7085
 Telefax: 06131 17-473339
 E-Mail: Dr.Mirshahi@gmail.com

Retinaler Venenverschluss – Pathogenese und aktuelle Therapie

PRIV.-DOZ. DR. HABIL. MATUS REHAK

Der retinale Venenverschluss (RVV) ist nach der diabetischen Retinopathie die häufigste vaskuläre Netzhauterkrankung, die zu einer erheblichen Sehbeeinträchtigung führt [Rogers et al. 2010]. Es werden zwei unterschiedliche Formen des RVV unterschieden: Astvenenverschluss (VAV) und Zentralvenenverschluss (ZVV). Das klinische Bild, die Prognose und der Therapieerfolg sind von der Form, Lokalisation und dem Ausmaß der Netzhautischämie abhängig.

Die Pathogenese des RVV ist sehr komplex und weil sie bis heute nicht vollständig geklärt ist, wird diese Problematik seit Jahren in der Klinik und Poliklinik für Augenheilkunde der Universität Leipzig intensiv untersucht. Eine der oft diskutierten Fragen ist die Rolle der Gerinnungsstörungen in der Pathogenese eines RVV. Die zahlreichen Studien, die diese Fragestellung untersuchten, brachten widersprüchliche Ergebnisse. Ein RVV entsteht überwiegend bei Patienten mit systemischen kardiovaskulären Risikofaktoren. Da diese Risikofaktoren bei jüngeren Patienten meistens fehlen, wird von mehreren Autoren angenommen, dass die Gerinnungsstörungen bei jüngeren RVV-Patienten eine wesentlich wichtigere Rolle als bei älteren Patienten spielen.

Die Ergebnisse unseren Studien und Metaanalysen zeigten, dass in der klinischen Praxis die Indikation zum Screening der Gerinnungsstörungen nicht vom Alter des RVV-Patienten abhängig gemacht werden soll. Eine wichtigere Rolle spielt das Vorliegen systemischer kardiovaskulärer Risikofaktoren wie Hypertonie, Hyperlipidämie oder Diabetes mellitus. Eine Abklärung der Gerinnungsstörungen wird bei allen Patienten empfohlen, bei denen die systemischen kardiovaskulären Risikofaktoren nicht vorliegen [Rehak et al. 2008 und 2010]. Die häufigste Gerinnungsstörung, die in der Pathogenese eines RVV diskutiert wird, ist die Faktor-V-Leiden-Mutation (FVL). Unsere Metaanalyse zeigte [Rehak et al. 2008], dass FVL bei Patienten mit einem RVV signifikant häufiger als in der gesunden Normalbevölkerung vorkommt. Der Unterschied ist jedoch klinisch von geringer

Bedeutung. Das Vorhandensein der FVL-Mutation stellt aus internistischer Sicht bei RVV-Patienten keine Indikation zur Antikoagulation. Damit unterscheidet sich die Behandlung der RVV-Patienten mit dieser Mutation nicht von der Behandlung der Patienten ohne diese Gerinnungsstörung. Ein Screening für die FVL-Mutation bei allen RVV-Patienten ist nicht indiziert.

Im Gegenteil zu FVL kann ein Antiphospholipid-syndrom (APS) zu lebensbedrohlichen Rethrombosen führen. Deswegen werden die Patienten mit APS antikoaguliert [Robertson & Greaves, 2006]. Das APS wird definiert durch das Vorhandensein eines klinischen Kriteriums (Thrombose) sowie durch den wiederholten positiven Nachweis zumindest eines der drei unterschiedlichen Antiphospholipid-Antikörper (APA). Unsere Metaanalyse zeigte [Rehak et al. 2009], dass die Prävalenz der APA bei RVV-Patienten signifikant höher als in der Normalbevölkerung ist. Ob man einen RVV zu den klinischen Kriterien für ein APS zählt ist aus internistischer Sicht nicht unumstritten. Die Ergebnisse unserer Studie fordern die Durchführung einer prospektiven, kontrollierten randomisierten Studie. In dieser muss die Rezidivrate einer Thrombose bei unbehandelten RVV-Patienten mit einem APS und der Nutzen einer Antikoagulation geklärt werden.

Die wichtigste Ursache für die Sehverschlechterung bei RVV-Patienten ist das Makulaödem. Zu den Spätkomplikationen eines RVV gehört die Ausbildung von retinalen Neovaskularisationen, die zu einer Glaskörpereinblutung, einer traktiven Netzhautablösung oder zu einem Neovaskularisationsglaukom führen können [McIntosh et al. 2007].

In den letzten Jahren kam es in der Therapie des Makulaödems bei einem RVV zu bedeutsamen Fortschritten. Durch die intravitreale Applikation von Steroiden oder VEGF-Hemmern (VEGF = Vascular Endothelial Growth Factor) kann das Makulaödem beim Großteil der RVV-Patienten reduziert werden. Dadurch kommt es bei den meisten

Klinik und Poliklinik
für Augenheilkunde
der Universität Leipzig

Patienten zu einer Sehverbesserung. Eine genaue Abklärung der Pathogenese des Makulaödems bei einem RVV und eine Erkennung der Wirkungsmechanismen der unterschiedlichen intravitreal applizierten Medikamente würden zu einer signifikanten Verbesserung der Behandlung der RVV-Patienten beitragen. Deswegen untersuchten wir in einem Tiermodell die zellulären und molekularen Veränderungen nach einem experimentell induzierten RVV und nach der intravitrealen Gabe von Steroiden und Anti-VEGF-Antikörpern.

Im Rattenmodell eines laserinduzierten RVV wurden die retinalen Venen am Rand der Papille mittels eines blau-grünen Argon-Lasers indirekt mit einer 90-D-Funduslinse durch ein Spaltlampenmikroskop koaguliert. Am definierten Zeitpunkt wurden die Tiere mit einer Überdosis CO₂ getötet und die RNA-Expression der untersuchten Gene in den neuronalen Netzhäuten und RPE-Zellen separat analysiert.

Unsere Experimente [Rehak et al. 2009] zeigten bei einem RVV eine schnelle aber transiente Hochregulation der VEGF-Expression in der Neuroretina. Bei der mRNA-Expression für Pigment Epithelium-Derived Factor (PEDF), der als natürlicher Inhibitor von VEGF wirkt, zeigte sich eine verspätete Hochregulation. Des Weiteren wurde die Genexpression der Wasser (Aquaporin)- und Kaliumkanäle (Kir4.1) in der Neuroretina und RPE-Zellen in allen untersuchten Zeitintervallen signifikant herab reguliert. Die Müllerzellen zeigten weiter eine signifikante Reduktion der Kalium-Einströme und daraus resultierende Schwellung der Somata. Im Modell eines Venenastverschlusses wurde gezeigt, dass sich die Veränderungen der mRNA-Expression von VEGF und Kalium- und Wasserkanälen nicht nur auf die okkludierte Netzhaut beschränken, sondern dass auch die Netzhautareale außerhalb des Okklusionsgebietes mitbetroffen sind.

Die intravitreale Triamcinolon-Gabe beschleunigt die Normalisierung der Expression von Kir4.1 und Aquaporin 4 (AQP-4) genauso wie von Interleukinen (IL-1 β und IL-6). Bei der Expression von VEGF wurde kein signifikanter Effekt durch diese Behandlung beobachtet [Rehak et al. 2011]. Die Anti-VEGF-Therapie hat keinen Effekt auf die Expression von glialen Kalium- und Wasserkanälen und von IL-6. Im Gegensatz zur Triamcinolon-Applikation beruht die Wirkung der Anti-VEGF-Medikamente auf der ausgeprägten Reduktion der Expression von VEGF und teilweise von IL-1 β [Drechsler et al. 2012].

Die Ergebnisse unserer Tierexperimente zeigten, dass die meisten VEGF-Molekülen in den ischämischen Netzhautbereichen exprimiert werden. Die intravitrealen Anti-VEGF-Medikamente blockieren nur die sich im Glaskörper befindbaren

VEGF-Molekülen, eine erneute Produktion in der Netzhaut wird durch diese Therapie kaum beeinflusst. Die Neuproduktion von VEGF könnte z. B. durch eine Laserphotokoagulation reduziert werden.

Entsprechend der Central Vein Occlusion Study Group (1997) ist keine prophylaktische Laserphotokoagulation der Netzhautperipherie bei allen Patienten mit einem RVV empfohlen. Diese Behandlung ist nur bei einem ischämischen RVV mit aktiven Neovaskularisationen indiziert und soll eine Glaskörpereinblutung oder die Entwicklung eines Sekundärglaukoms verhindern.

Es liegt nahe, dass eine Kombination der intravitrealen Anti-VEGF-Gabe und einer selektiven Laserphotokoagulation der ischämischen Netzhaut zu einer schnelleren und dauerhaften VEGF-Inhibition führt. Diese Hypothese wurde in der Augenklinik Leipzig in der prospektiven, randomisierten Pilotstudie CoRaLa (Combination of Ranibizumab and Laser) untersucht. Die Studie evaluierte die Effektivität und Sicherheit der kombinierten Therapie mit intravitrealer Applikation von Ranibizumab und selektiver Laserphotokoagulation der ischämischen Netzhautareale bei Patienten mit Makulaödem bei Zentralvenenverschluss.

Die Ergebnisse nach sechs Monaten zeigten in der experimentellen Gruppe (Ranibizumab und Laser) eine mittlere Verbesserung der Sehschärfe um 7,3 \pm 5,1 ETDRS-Buchstaben im Vergleich zu 4,8 \pm 5,3 Buchstaben in der Kontrollgruppe (Monotherapie mit Ranibizumab). Dieser Unterschied ist zwar aufgrund der kleinen Fallzahl nicht statistisch signifikant, zeigt aber eine Tendenz zu besseren Visusergebnissen bei Patienten, die zu Ranibizumab-Injektionen eine zusätzliche selektive Laserphotokoagulation erhielten. Die Ergebnisse der CoRaLa-Studie müssen in einer größeren Studie bestätigt werden, um eine ausreichende statistische Power zu erreichen.

LITERATUR

1. Central Vein Occlusion Study Group (1997). Natural history and clinical management of central retinal vein occlusion. The Central Vein Occlusion Study Group. *Archives of Ophthalmology* 115: 486–491.
2. Drechsler F., Köferl P., Hollborn M., Wiedemann P., Bringmann A., Kohen L., Rehak M. (2012) Effect of intravitreal anti-vascular endothelial growth factor treatment on the retinal gene expression in acute experimental central retinal vein occlusion. *Ophthalmic Res.* 47: 157–162.
3. McIntosh R. L., Rogers S. L., Lim L., Cheung N., Wang J. J., Mitchell P., Kowalski J. W., Nguyen H. P., Wong T. Y. (2010). Natural history of central retinal vein occlusion: an evidence-based systematic review. *Ophthalmology* 117: 1113–1123.

4. Rehak M., Drechsler F., Köferl P., Hollborn M., Wiedemann P., Bringmann A., Kohen L. (2011). Effects of intravitreal triamcinolone acetonide on retinal gene expression in a rat model of central retinal vein occlusion. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 249: 1175–1183.
5. Rehak M., Hollborn M., Landiev I., Pannicke T., Karl A., Wurm A., Kohen L., Reichenbach A., Wiedemann P., Bringmann A. (2009). Retinal gene expression and Müller cell responses after branch retinal vein occlusion in the rat. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 50: 2359–2367.
6. Rehak M., Müller M., Scholz M., Wiercinska J., Niederwieser D., Wiedemann P. Antiphospholipidsyndrom und retinale venöse Verschlüsse. Metaanalyse publizierter Studien. *Ophthalmologie*. 2009; 106: 427–434.
7. Rehak M., Krcova V., Slavik L., Fric E., Langova K., Ulehlova J., Rehak J. (2010). The role of thrombophilia in patients with retinal vein occlusion and no systemic risk factors. *Can J Ophthalmol* 45: 171–175.
8. Rehak M., Rehak J., Müller M., Faude S., Faude F., Siegemund A., Krcova V., Slavik L., Hasenclever D., Scholz M., Wiedemann P. (2008). The prevalence of activated protein C (APC) resistance and factor V Leiden is significantly higher in patients with retinal vein occlusion without general risk factors. Case-control study and meta-analysis. *Thromb Haemost* 99: 925–929.
9. Rehak M., Tilgner E., Franke A., Rauscher F.G., Brosteanu O., Wiedemann P. (2013) Early Peripheral Laser Photocoagulation of Nonperfused Retina Improves Vision in Patients with Central Retinal Vein Occlusion (Results of a Proof of Concept Study). submitted
10. Robertson B. & Greaves M. (2006). Antiphospholipid syndrome: an evolving story. *Blood Rev* 20: 201–212.
11. Rogers S., McIntosh R.L., Cheung N., Lim L., Wang J.J., Mitchell P., Kowalski J.W., Nguyen H., Wong T.Y.; International Eye Disease Consortium (2010). The prevalence of retinal vein occlusion: pooled data from population studies from the United States, Europe, Asia, and Australia. *Ophthalmology* 117: 313–319.

Dr. Matus Rehak ist Oberarzt an der Klinik und Poliklinik für Augenheilkunde am Universitätsklinikum Leipzig. Sein klinischer Schwerpunkt liegt in der Retinologie, speziell in der Behandlung der retinalen Venenverschlüsse. Das Thema seiner Habilitation widmete sich der Pathogenese und den prognostischen Faktoren bei Patienten mit retinalen Venenverschlüssen. Dr. Rehak untersuchte bei seinen Forschungsaufenthalten in den Jahren 2010 und 2011 im Laboratorium von Prof. N.A. Rao am Doheny Eye Institute, University of Southern California in Los Angeles, die molekularen Netzhautveränderungen bei Ischämie und die Möglichkeiten der Neuroprotektion.

Im Rahmen seiner klinischen Forschungstätigkeit untersuchte Dr. Rehak die Rolle der selektiven Laserphotokoagulation der ischämischen Netzhautareale bei Patienten mit einem Zentralvenenverschluss.

Priv.-Doz. Dr. habil. Matus Rehak

Klinik und Poliklinik für Augenheilkunde
der Universität Leipzig
Liebigstraße 10–14
04103 Leipzig
E-Mail:
matus.rehak@medizin.uni-leipzig.de

KONTAKT



Brillouin-Spektroskopie in der Augenheilkunde

DR. RER. NAT. STEPHAN REISS^{1,2}, PROF. DR. RER. NAT. HEINRICH STOLZ²,
 PROF. DR. RER. NAT. OLIVER STACHS¹, PROF. DR. MED. RUDOLF F. GUTHOFF¹

1 **Universitäts-
 augenkl
 inik**
 Universität Rostock

2 **Institut für Physik**
 Universität Rostock

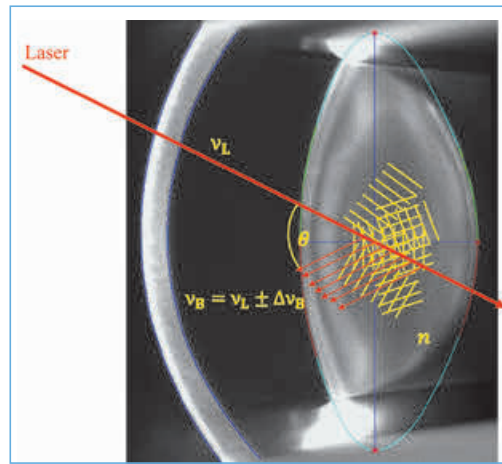


Abbildung 1

■ Schematische Darstellung der Brillouin-Streuung. ν_L – Laser-Frequenz; ν_B – Brillouin-Frequenz; $\Delta\nu_B$ – Brillouin-Frequenzversatz; n – Brechungsindex des Materials; θ – Streuwinkel.

Die Entwicklung von Methoden zur nicht-invasiven Bestimmung der biomechanischen Eigenschaften von verschiedenen Kompartimenten des Auges ist eine der aktuellen Herausforderungen in der Ophthalmologie. Derartige diagnostische Werkzeuge können Hinweise für ein besseres Verständnis der Kataraktentstehung, der Presbyopie oder der Entstehung und Progression eines Keratokonus liefern. Eines dieser Werkzeuge könnte die konfokale Brillouin-Mikroskopie, eine laserbasierte Spektroskopie, sein, welche die Möglichkeit bietet rheologische und biophysikalische Eigenschaften des Auges ortsaufgelöst und *in vivo* zu bestimmen.

Das Messverfahren beruht auf nicht elastischen Streueffekten von Licht an Wellenfeldern (**Abbildung 1**). Diese treten auf, wenn kohärentes Licht (ν_L), also beispielsweise Laserlicht, in zu untersuchendes Gewebe an thermisch bedingten Dichtefluktuationen, die als Schallwellen aufgefasst werden können, streut. Dabei erfährt das Licht eine spektrale Frequenzverschiebung ($\Delta\nu_B$), die eine Aussage über Gewebeeigenschaften, wie z. B. Volumenelastizität (K) liefert. Dieses Streulicht wird als Brillouin-Licht (ν_B) bezeichnet.

Die Brillouin-Spektroskopie selbst erlaubt die Bestimmung dieses informationsenthaltenden Frequenzversatzes, der im Gewebe ca. 3–8 GHz beträgt. **Abbildung 2** zeigt ein typisches Brillouin-Spektrum. Aufgrund des Dopplereffektes tritt das Brillouin-Signal als Stokes und Anti-Stokes Signal auf. Das Rayleigh-Signal, als elastisches Streusignal entspricht der eingestrahlten Laser-Frequenz (ν_L).

Aus dem Frequenzversatz ($\Delta\nu_B$) der unelastisch gestreuten Brillouin-Signale (ν_B) zum elastisch gestreuten Rayleigh-Signal lässt sich auf die rheologischen Eigenschaften in Form der Volumenelastizität, auch als Kompressionsmodul bezeichnet, des Messortes schließen und kann mit folgendem mathematischen Zusammenhang berechnet werden:

$$K = \left(\frac{\Delta\nu_B \cdot c}{2n \cdot \cos\left(\frac{\theta}{2}\right)} \right)^2 \cdot \rho \quad (1)$$

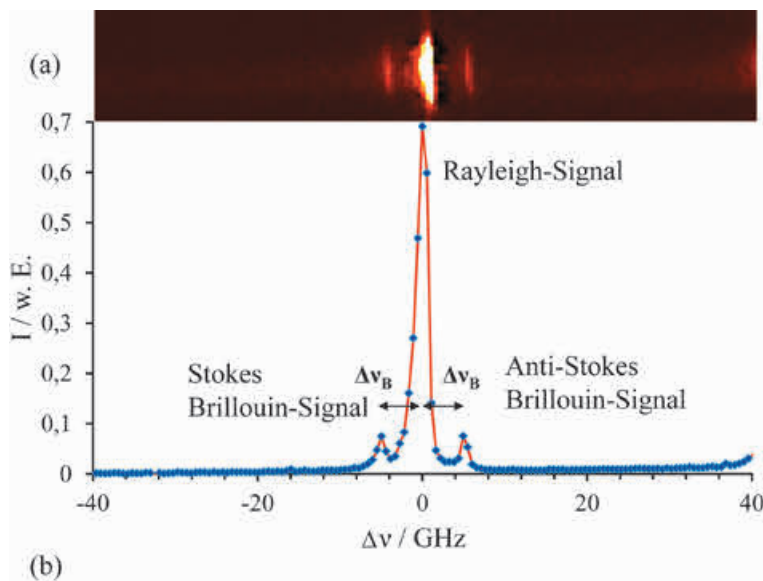
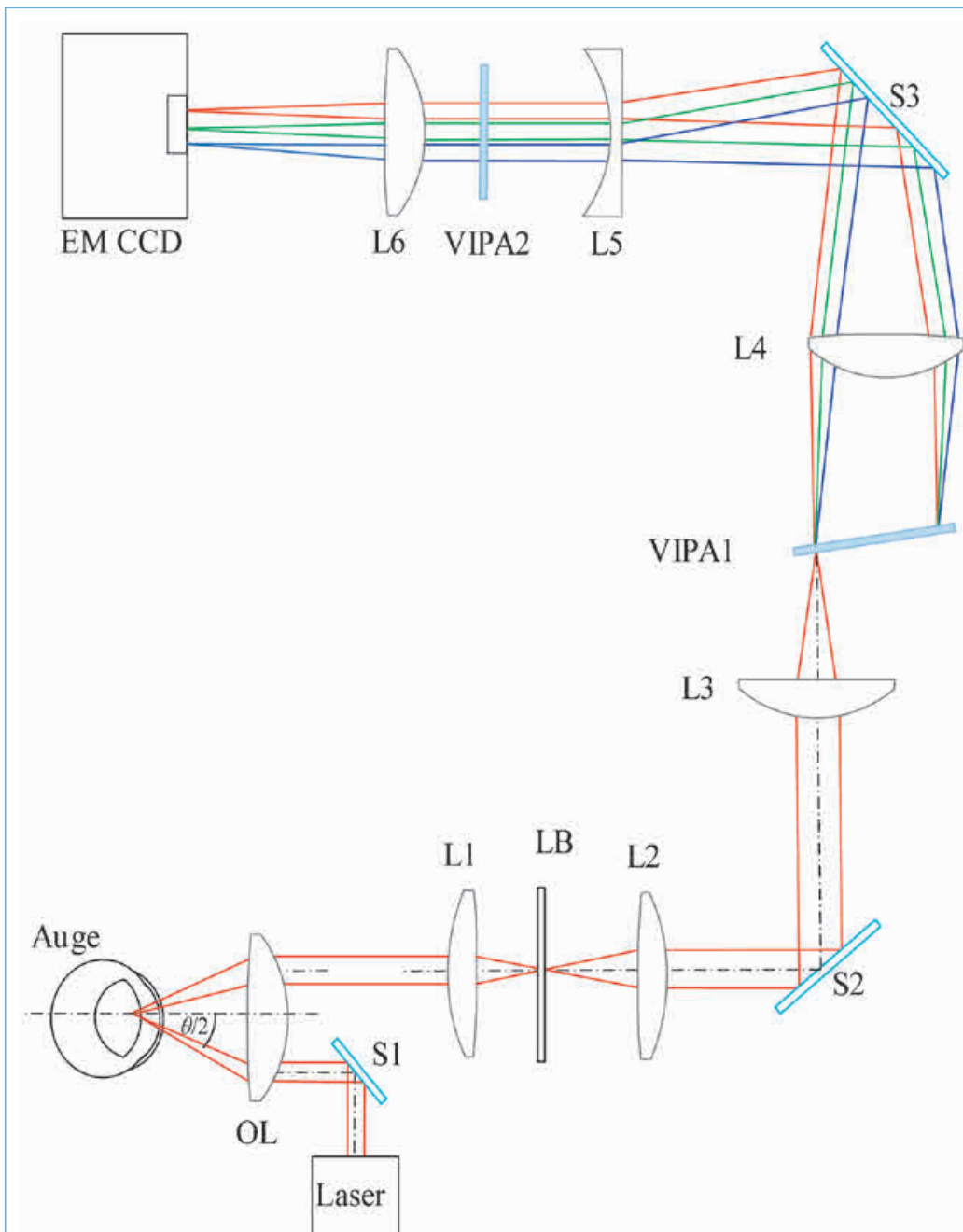


Abbildung 2

■ (a) Typisches CCD-Bild eines Brillouin-Spektrums von Wasser. (b) Brillouin-Spektrum basierend auf Messdaten von Wasser. Die Intensität I wurde auf Eins normiert. Die Frequenzverschiebung des Stokes- und des Anti-Stokes Brillouin-Signals vom zentralen Rayleigh-Signal beträgt je 4,96 GHz.

**Abbildung 3**

■ Schematische Darstellung des experimentellen Aufbaus.

S₁: Spiegel; OL: Objektivlinse; L₁: Abbildungslinse; LB: Lochblende; L₂: Linse; S₂: Spiegel; L₃: positive Zylinderlinse; VIPA₁: dispersive Element; L₄: Abbildungslinse; S₃: Spiegel; L₅: negative Zylinderlinse; VIPA₂: dispersive Element; L₆: Abbildungslinse; EMCCD: Detektor.

Hier beschreibt c die Lichtgeschwindigkeit, n den Brechungsindex, ρ die Dichte und θ den Streuwinkel.

Zur Bestimmung des Frequenzversatzes ist ein spektroskopisch hochauflösender experimenteller Aufbau notwendig, der eine spektrale Auflösung von ca. 3 GHz erreichen muss (**Abbildung 3**). Derartige Spektrometer sind nicht Standard, sondern mussten speziell für diese Applikation entwickelt werden [1].

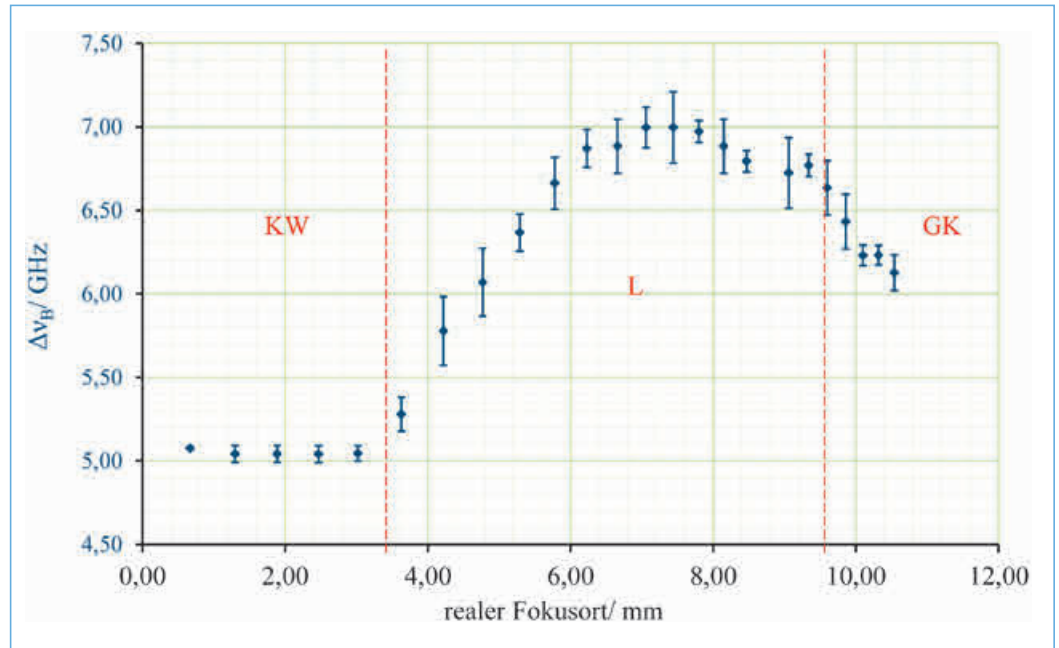
Bei der in Rostock entwickelten Methode wird Laserlicht mit einer Wellenlänge von $\lambda = 780$ nm verwendet und beispielsweise in die zu unter-

suchende Augenlinse fokussiert (OL). Das dort gestreute Licht wird konfokal in Rückstreuung abgebildet (L₁, LB, L₂). So wird die notwendige axiale Auflösung erzielt. Anschließend wird das Streulicht spektral in einem sogenannten Virtually Imaged Phased Array (VIPA₁) zerlegt. Im gezeigten Aufbau werden zwei dieser sogenannten Vielstrahlinterferometer verwendet, um die spektrale Auflösung weiter zu verbessern [2]. Ein spezieller hochempfindlicher Detektor ermöglicht Messzeiten von ca. 0,3 s pro Messpunkt.

Ein derartiger Aufbau wurde an der Universität Rostock im Rahmen einer Kooperation zwischen dem Institut für Physik und der Universitäts-

Abbildung 4

■ **Abhängigkeit des Brillouin-Frequenzversatzes Δv_B vom realen Fokusort im vorderen Augenabschnitt eines Kaninchenauges [4].**
 KW – Kammerwasser;
 L – Linse; GK – Glaskörper.



augenkl. realisiert [1, 2, 3]. Mit diesem Aufbau können sowohl *ex vivo* als auch *in vivo* Messungen durchgeführt werden. **Abbildung 4** zeigt beispielsweise das gemessene axiale Profil eines *in vivo* untersuchten Kaninchenauges, beginnend von der Hornhaut bis zum Glaskörper [4]. Die Elemente des vorderen Augenabschnittes sind deutlich durch die Höhe des gemessenen Brillouin-Frequenzversatzes unterscheidbar. Das Kammerwasser besitzt einen konstanten Brillouin-Frequenzversatz von ca. 5,04 GHz. Innerhalb der Linse nimmt der Brillouin-Frequenzversatz von 5,30 GHz auf 7,00 GHz zu, um zum Glaskörper hin wieder abzunehmen.

Um die Volumenelastizität aus dem gemessenen Brillouin-Frequenzversatz zu berechnen müssen

nach Gleichung (1) zusätzlich der Brechungsindex und die Dichte am Messort bekannt sein. Auf der Basis von Eichmessungen konnte ein Zusammenhang zwischen Brillouin-Frequenzversatz und Brechungsindex abgeleitet werden [4] (**Abbildung 5**).

Diese Beziehung wurde auf die gemessenen Brillouin-Frequenzversätze angewandt. So ist es möglich, die Brechungsindexverteilung im untersuchten Medium zu bestimmen. Für das Beispiel der *in vivo* Messungen am Kaninchen ergibt sich für den Bereich des Kammerwassers ein Brechungsindex von 1,336. Dieses Ergebnis entspricht sehr gut den Literaturangaben [5, 6], welche mit 1,337 und 1,335 angegeben werden. Auch Messungen mittels Abbe-Refraktometer am punktierten Kammerwasser des Kaninchenauges ergaben mit $n=1,336$ exakte Übereinstimmungen. Ein Vergleich der so bestimmten Refraktionsindices des Linsenbereiches mit der Literatur, führte ebenfalls zu sehr guten Übereinstimmungen. Für einen Brillouin-Frequenzversatz von 7,00 GHz ergab sich so ein Brechungsindex von 1,472. In der Literatur [5, 6, 7] wird dieser Wert mit $n=1,465$ angegeben. Die auftretende Abweichung von 0,5 % ist geringer als der Messfehler, welcher 0,8 % beträgt.

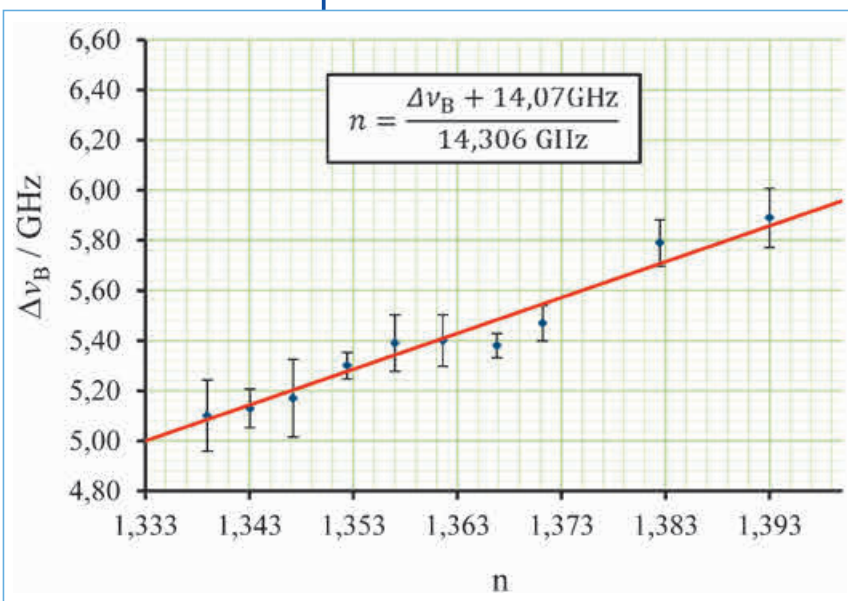
Mit Hilfe des Gladstone-Dale Verhältnisses (2) [8, 9] ist es möglich ausgehend vom Brechungsindex auf die Proteinkonzentration zu schließen.

$$C = \frac{n - 1,333}{0,1800 \text{ cm}^3/\text{g}} \quad (2)$$

Wiederum für das Beispiel Kaninchen ergibt dies für den Linsenkern eine maximale Proteinkonzentration von 0,77 g/cm³. Dieses Ergebnis findet eine sehr gute Übereinstimmung mit den Daten

Abbildung 5

■ **Brillouin-Frequenzversatz Δv_B und Brechungsindex n in Abhängigkeit zur Albumin-Proteinkonzentration [4].**



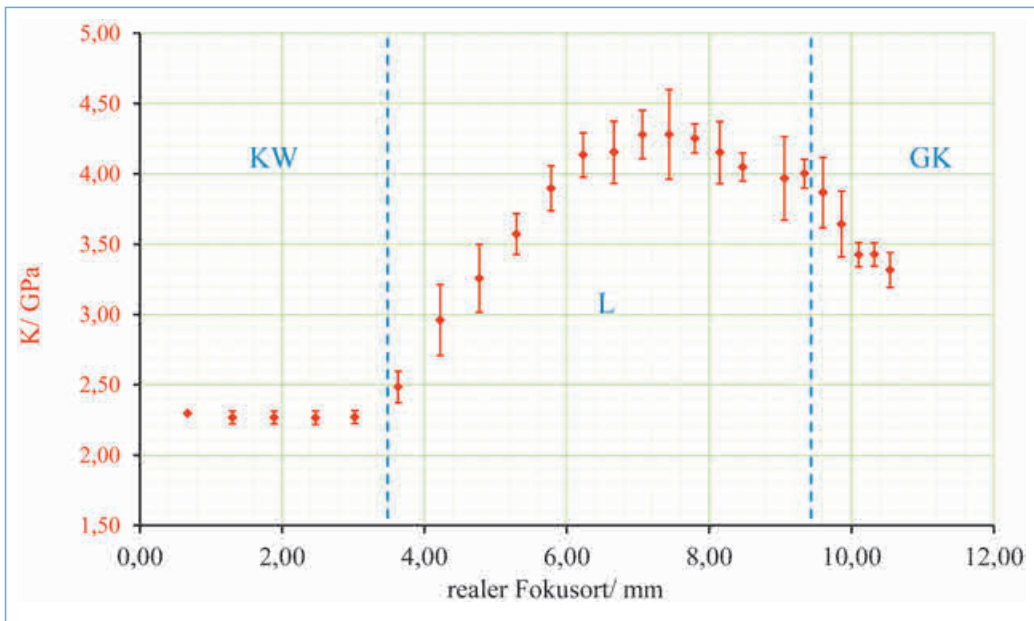


Abbildung 6
 ■ Abhängigkeit des Kompressionsmodul K vom realen Fokusort eines Kaninchenauges [4].
 KW – Kammerwasser; L – Linse; GK – Glaskörper.

von Latina et al. [10], welche für Messungen an einem 50 Wochen altem Kaninchen einen Maximalwert von $0,75 \text{ g/cm}^3$ angeben.

weitere potentielle Anwendung ist auch im Real-time-Monitoring der Quervernetzung der Hornhaut zu sehen.

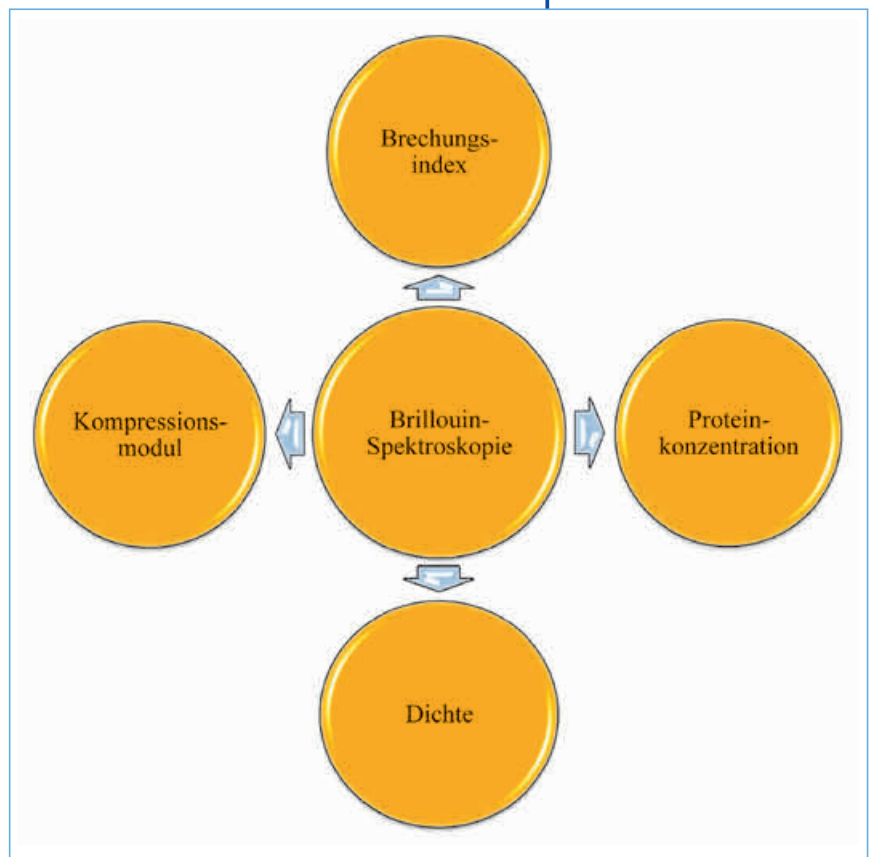
Aus dem empirisch gefundenen Zusammenhang (3) von Proteinkonzentration und Dichte der von Randall et al. [11] veröffentlicht wurde, ist es möglich die Dichte zu bestimmen.

$$\frac{\rho}{\text{g/cm}^3} = 1 + 0,35 \frac{c}{\text{g/cm}^3} \quad (3)$$

Hier ergeben sich für das Beispiel Kaninchen Dichtewerte im Linsenbereich von 1100 kg/m^3 für die Linsenrinde und 1270 kg/m^3 für den Linsenkern. Aufgrund des gefundenen Zusammenhanges zwischen Brillouin-Frequenzversatz und Brechungsindex (**Abbildung 5**) ist es letztendlich möglich die Volumenelastizität aus dem gemessenen Brillouin-Frequenzversatz ohne Annahmen für Brechungsindex und Dichte zu berechnen. Die Verteilung der Volumenelastizität durch den vorderen Augenabschnitt ist in **Abbildung 6** dargestellt [4].

Die Brillouin-Spektroskopie ermöglicht die nicht-invasive Bestimmung unterschiedlichster biophysikalischer Parameter, wie Brechungsindex, Dichte, Proteinkonzentration und Volumenelastizität, die mit anderen Methoden nicht oder nur sehr schwer zugänglich sind (**Abbildung 7**). Für eine Translation der Technologie vom Experiment in die klinische Anwendung sind noch eine Reihe von Herausforderungen, wie beispielsweise eine Miniaturisierung des Aufbaus, zu bewältigen. Bereits jetzt zeichnet sich jedoch ein sehr breites Anwendungsspektrum der Methode für die nichtinvasive Diagnostik von gewebespezifischen biomechanischen Eigenschaften am Auge ab. Hier sind vor allem Erkrankungen der Hornhaut zu nennen. Eine

Abbildung 7
 ■ Parameter, die mit der Brillouin-Spektroskopie gemessen werden können.



LITERATUR

1. REIß, S., BURAU, G., STACHS, O., GUTHOFF, R., STOLZ, H., Spatially resolved Brillouin spectroscopy to determine the rheological properties of the eye lens, *Biomedical Optics Express* 2011; 2: 2144–2159.
2. REIß, S., SPERLICH, K., HOVAKIMYAN, M., MARTIUS, P., GUTHOFF, R., STOLZ, H., STACHS, O., Ex Vivo Measurement of Postmortem Tissue Changes in the Crystalline Lens by Brillouin Spectroscopy and Confocal Reflectance Microscopy, *IEEE transactions on bio-medical engineering* 2012; 59: 2348–2354.
3. REIß, S., STACHS, O., GUTHOFF, R., STOLZ, H., Non-invasive, orts aufgelöste Bestimmung von Gewebeeigenschaften der Augenlinse hinsichtlich Rheologie, Brechungsindex, Dichte und Proteinkonzentration unter Anwendung der Brillouin-Spektroskopie, *Klinische Monatsblätter der Augenheilkunde* 2011; 228: 1079–1085.
4. STACHS, O., REIß, S., GUTHOFF, R., STOLZ, H., Spatially resolved Brillouin spectroscopy for in vivo determination of the biomechanical properties of the crystalline lenses, *Proc. SPIE's Ophthalmic Technologies XXII* 2012; 8209, San Francisco, CA.
5. Hughes A., A Schematic eye for the rabbit *Vision Res* 1972; 12: 123–138.
6. Nakao S., Fujimoto S., Nagata R., Iwata, K., Model of refractive-index distribution in the rabbit crystalline lens, *Model of refractive-index distribution in the rabbit crystalline lens. Journal of the Optical Society of America* 1968; 58: 1125–1130.
7. Freytag G., Die Brechungsindices der Linse und den flüssigen Augenmedien bei Katzen und beim Kaninchen. *Arch. vergl. ophthal.* 1910; 1: 61–72.
8. Barer, R., Joseph S., Refractometry of living cells, *Q J Microsc Sci.* 1954; 95: 399–423.
9. Michael, R., Brismar, H., Lens growth and protein density in the rat lens after in vivo exposure to ultraviolet radiation. *Investigative ophthalmology & visual science.* 2001; 42: 402–408.
10. Latina, M., Chylack, L. T., Fagerholm, P., Nishio, I., Tanaka, T., Palmquist, B. M., Dynamic light scattering in the intact rabbit lens. Its relation to protein concentration. *Investigative ophthalmology & visual science* 1987; 28: 175–183.
11. Randall, J., Vaughan, J. M., The measurement and interpretation of Brillouin scattering in the lens of the eye. *Proceedings of Royal Society of London, Biological Science* 1982; 214: 449–470.



Dr. rer. nat. Stephan Reiß, Jahrgang 1966, ist wissenschaftlicher Mitarbeiter des Instituts für Physik und der Universitätsaugenklinik der Universität Rostock. An der Fachhochschule

Jena studierte er Augenoptik und beendete dieses Studium 2004 mit dem Abschluss Dipl.-Ing. (FH). 2007 erhielt er nach einem Masterstudium im Studiengang Laser- und Optotechnologien den Abschluss Master of Engineering. Im Februar 2013 promovierte Herr Stephan Reiß erfolgreich an der Universität Rostock in der Fachrichtung Experimentalphysik. Er ist Mitglied der Deutschen Physikalischen Gesellschaft sowie der Optometrie/Vision Science der Fachhochschule Jena. Der wissenschaftliche Fokus liegt auf dem Gebiet der ophthalmologischen Spektroskopie.

KONTAKT



Dr. rer. nat. Stephan Reiß
 Universitätsaugenklinik
 Universität Rostock
 Doberaner Straße 140
 18057 Rostock
 E-Mail: stephan.reiss@uni-rostock.de

Farbe in neuem Licht

93615-002 INT.D13 © Heidelberg Engineering GmbH

Zukunft sichern mit
Advanced Upgrade Package

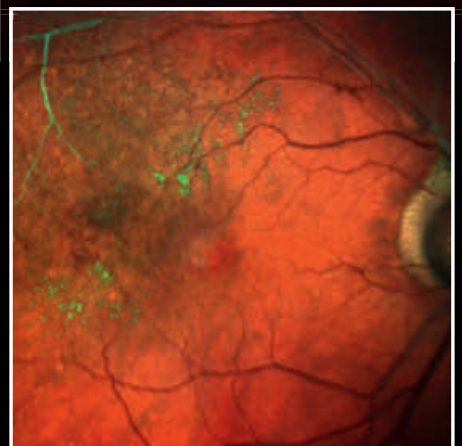
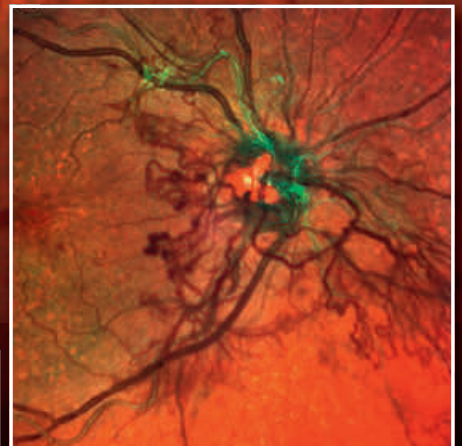
SPECTRALIS[®]
multicolor[™]

Mit MultiColor[™] Laser-Fundusbildern erkennen Sie mehr. Die spezifischen Laserfarben dringen unterschiedlich tief in die Netzhaut ein und ergeben plastische, kontrastreiche und detailgetreue Fundusbilder.

Simultan mit SD-OCT aufgenommen ergibt sich durch SPECTRALIS mit MultiColor eine ganz neue diagnostische Dimension.

MultiColor ist für alle SPECTRALIS-Modelle optional verfügbar. Mit dem Advanced Upgrade Package können Sie MultiColor auch später nachrüsten.

Mehr Informationen unter
www.SPECTRALIS-MultiColor.de



DOG: Stand A.31

**HEIDELBERG
ENGINEERING**



Analyse der Progression atrophischer Makuladegeneration mittels cSLO-basierter Detektion und Quantifizierung funktionsrelevanter Atrophie-Flächen

PRIV.-DOZ. DR. MED. STEFFEN SCHMITZ-VALCKENBERG UND
 PROF. DR. MED. FRANK G. HOLZ

Universitäts-
 Augenlinik Bonn

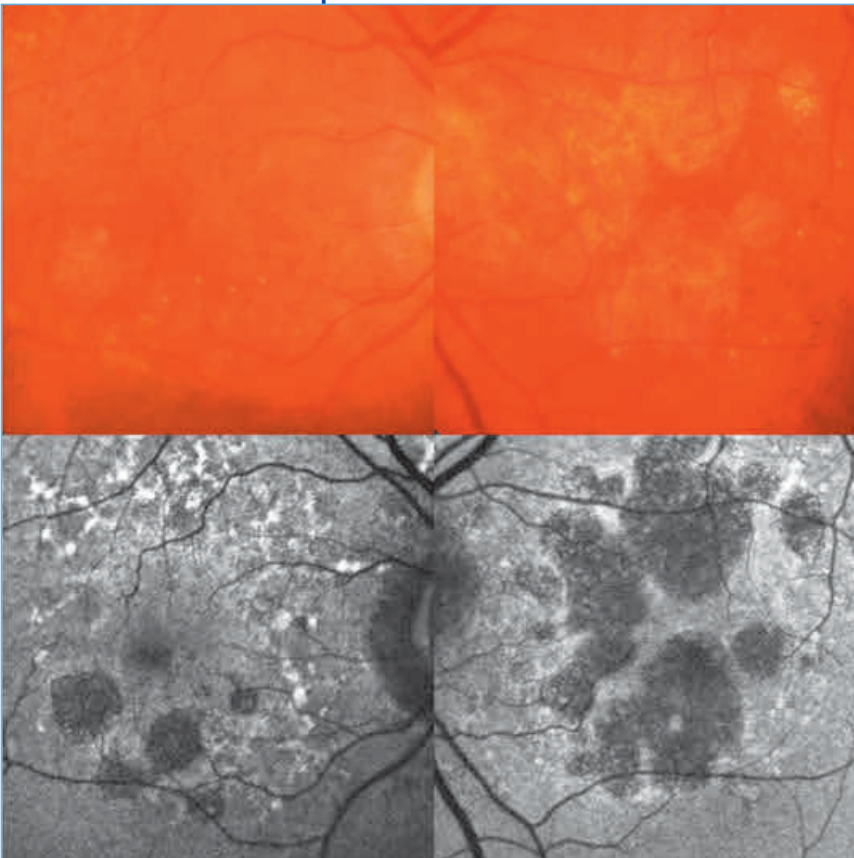
Die altersabhängige Makuladegeneration (AMD) gilt als die häufigste Ursache für Erblindung nach gesetzlichen Vorgaben in allen Industrienationen. Für die atrophische oder sog. »trockene« Spätform steht bislang keine wirksame Therapie zur Behandlung zur Verfügung [1]. Sie manifestiert sich durch die Entstehung von Atrophiearealen am hinteren Augenpol, die über die Zeit kontinuierlich an Größe zunehmen [2]. Histopathologisch sind in diesen Bereichen klinisch sichtbarer Atrophieareale die Zellen des retinalen Pigmentepithels sowie der äußeren neurosensorischen Netzhaut abgestorben [3]. Das Wachstum dieser Atrophieareale stellt damit für den Patienten einen zunehmenden Sehverlust dar.

Unter Verwendung von herkömmlichen Methoden wie der Ophthalmoskopie oder der Farb-Fundusfotografie ist das Erkennen von Atrophiearealen am Augenhintergrund möglich [4]. Allerdings stellt die genaue Abgrenzung von einzelnen Läsionen und damit die Dokumentation des Wachstums über die Zeit eine große Herausforderung dar (**Abbildung 1**). Für die Bestimmung der Krankheitsprogression ist die Visusbestimmung ebenso unzureichend, da Atrophieareale typischerweise initial parafoveal auftreten und die Fovea selbst erst in sehr fortgeschrittenen Stadien mitbeteiligt ist [5, 6]. Gleichzeitig erleiden die Betroffenen zunehmende Seheinschränkungen. Beispielsweise »verspringen« beim Lesen immer mehr die Zeilen, da Wörter mit der verbliebenen und kleiner werdenden Restinsel in der Mitte nicht sicher erkannt werden können.

Zur Überprüfung der Wirksamkeit von innovativen therapeutischen Strategien bei atrophischer AMD sind bisher in der Augenheilkunde eingesetzte Parameter wie die Bestimmung der zentralen Sehschärfe oder die Überprüfung des Gesichtsfelds ungeeignet. Als Alternative ist die Detektion und Quantifikation von Atrophiearealen mittels Fundusautofluoreszenz (FAF)-Bildgebung – maßgeblich durch Arbeiten unserer Forschergruppe – etabliert worden [7–9]. Hierbei wird die mögliche Veränderung des Wachstums der Atrophieflächen über die Zeit durch eingesetzte Testpräparate als Surrogate-Marker für Funktionsverlust herangezogen. Dieser Ansatz beruht auf der Annahme, dass im Bereich erniedrigter FAF die äußere Netzhaut einschließlich der Fotorezeptoren abge-

Abbildung 1

■ Dieses repräsentative Beispiel retinaler Bildgebung bei hoher Vergrößerung eines Patienten mit bilateraler atrophischer altersabhängiger Makuladegeneration verdeutlicht, dass zwar das Vorhandensein von Atrophie mittels Farbfundus-Fotografie (**obere Reihe**) möglich ist. Allerdings ist die genaue Abgrenzung einzelner Areale wesentlich besser mittels Fundusautofluoreszenz-Bildgebung (**untere Reihe**) zu erkennen.



storben und es somit zu einem umschriebenen Gesichtsfeldausfall gekommen ist. Im Gegensatz zur konventionellen Farb-Fundusfotografie oder der invasiven Fluoreszein-Angiographie sind die entscheidenden Vorteile der FAF-Bildgebung die akkuraten Abgrenzbarkeit von Atrophieflächen und die schnelle, nicht-invasive Durchführbarkeit (**Abbildung 1**).

Im Rahmen des Schwerpunktprogramms AMD (SP1088) der Deutschen Forschungsgemeinschaft (DFG) haben wir in der Fundus Autofluorescence in Age-Related Macular Degeneration (FAM)-Studie, einer multizentrischen natürlichen Verlaufsbeobachtung, von 2000 bis 2006 intensiv Patienten mit atrophischer AMD untersucht [8–10]. Hierbei haben wir das Potenzial der FAF-Bildgebung zur nicht-invasiven und schnellen Detektion von Atrophiearealen erkannt, um damit die zugrunde liegenden Wachstumsmechanismen genauer zu bestimmen. Als nächster logischer Schritt wurden unter Verwendung von Bildanalyse-Software verschiedene semi-automatische Methoden zur Quantifizierung von Atrophie-Flächen entwickelt und auf deren Reproduzierbarkeit überprüft [7, 9]. Diese wurden anschließend intensiv bei Patienten der FAM-Studie eingesetzt [8, 11]. Hiermit gelang nicht nur eine genauere und präzisere Bestimmung der interindividuellen Progressionsraten, die eine sichere Bestimmung des Läsionswachstums innerhalb eines durchschnittlichen Beobachtungszeitraum von etwa 6 Monaten ermöglichen, sondern es konnten auch wichtige Unterschiede zwischen einzelnen Patientengruppen herausgearbeitet werden. Damit verbunden war auch die Identifikation von bestimmten Hochrisikomerkmalen, die im Sinne von prädiktiven Markern die Rate des zukünftigen Progressionsverhaltens vorhersagen. Dieses Erkenntnis ist insbesondere für Therapiestudien interessant, und zwar in der Weise, dass im Rahmen des Patienteneinschluss zielgerichtet nur Hochrisikopatienten (sog. »fast-progressors«) re-

krutiert werden können, um so den Beobachtungszeitraum, die erforderliche Anzahl von Patienten und letztendlich auch den finanziellen Aufwand zu reduzieren. Diese Ergebnisse sind mittlerweile von anderen Arbeitsgruppen mehrfach bestätigt worden und werden im Rahmen des Screening von Therapiestudien bei atrophischer AMD intensiv eingesetzt [12, 13].

Mit Entwicklung von Analysestrategien des natürlichen Verlaufs der atrophischen AMD durch unsere Arbeitsgruppe und gleichzeitig zunehmenden Interesse seitens der pharmazeutischen Industrie, therapeutische Strategien bei dieser häufigen Ursache für Erblindung zu erproben, haben wir im Jahre 2006 das **GRADE (Grading of Digital Fundus Examination) Reading Center** gegründet. An der ersten randomisierten, multizentrischen Phase II-Studie (NCT00429936) bei geographischer Atrophie im Rahmen der AMD war das GRADE Reading sowohl im Design als auch im Screening-Prozess in den Jahren 2006–2007 beteiligt.

Das GRADE Reading Center dient als *Referenzzentrum zur standardisierten Analyse von retinalen Bildgebungsbefunden*, die im Rahmen von *multizentrischen, prospektiven Therapiestudien* ausgewertet werden. Hierbei werden an jeweiligen Prüfzentren weltweit Patienten für Studien rekrutiert und mittels Netzhaut-Bildgebung nach standardisiertem Aufnahmeprotokoll untersucht. Die Befunde werden digital über ein *Internet Portal* an das GRADE Reading Center übermittelt. Dort erfolgt dann die Analyse durch verblindete und unabhängige Auswerter-Gruppen nach vorher festgelegten Kriterien. Dies schließt die Bestimmung von sowohl primären als auch sekundären Endpunkten ein, die als Marker für die Effekte von neuen Testsubstanzen dienen.

Für die Analyse der *Veränderung der Progressionsrate von Atrophie-Flächen als primärer Endpunkt im Rahmen interventioneller Studien* bei

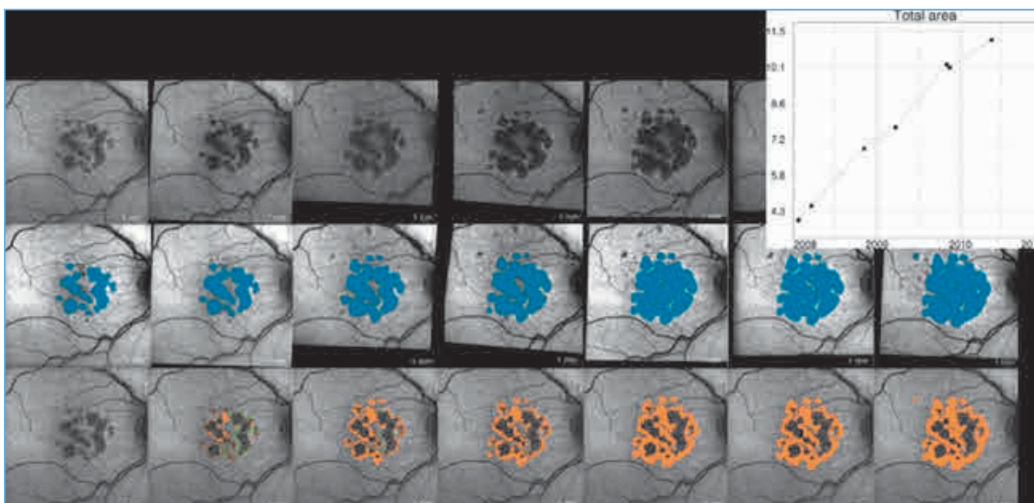


Abbildung 2

Anhand serieller Fundusautofluoreszenz-Aufnahmen über 2,5 Jahre des rechten Auges eines Patienten mit atrophischer Makuladegeneration wird die Krankheitsprogression mittels semi-automatischer Bilddatenverarbeitungssoftware (»RegionFinder«) nicht-invasiv und akkurat bestimmt.

atrophischer AMD ist nicht nur die Entwicklung eines praktischen, an großen Patientenpopulationen einsetzbaren Messverfahren für Atrophieareale auf FAF-Aufnahmen erforderlich. Auch müssen behördlichen Anforderungen hinsichtlich Reliabilität und Validität erfüllt sein. In dieser Situation trat das GRADE Reading Center in Kontakt mit der Firma Heidelberg Engineering GmbH, die wesentliche Pionierarbeit und ein hohe Expertise auf dem Gebiet der retinalen Bildgebung auszeichnet.

In Kooperation mit dem GRADE Reading Center wurde von der Firma Heidelberg Engineering GmbH ein komplett neues Verfahren zur *Detektion und Quantifizierung von Atrophie-Arealen mittels FAF-Bildgebung* entwickelt, das in dem nun kommerziell verfügbaren Produkt »RegionFinder« mündete (**Abbildung 2**) [14]. Einzelne Verläufe können direkt aus der Bilddatenbank des Aufnahmeegeräts geöffnet und prozessiert werden. Kernstück ist ein Segmentierungsalgorithmus, der einzelne Flächen semi-automatisch nach Setzen eines Saatkpunktes durch den Anwender erkennt. Zusätzlich bestehen weitere Algorithmen, wie beispielsweise die Erkennung von Blutgefäßen und die Korrektur von Schattierungen, die durch Aufnahmeartefakte entstehen können.

Der RegionFinder ist die erste *validierte* und gleichzeitig bisher einzige kommerziell verfügbare *Softwarelösung*, die eine sichere und *präzise Detektion und Quantifikation und damit des longitudinalen Wachstums von Atrophie-Arealen mittels FAF-Bildgebung* am Augenhintergrund bei Patienten mit atrophischer Makuladegeneration ermöglicht. Er stellt die Weiterentwicklung von uns entwickelten semi-automatischen Messverfahren da, die im Rahmen von longitudinalen Untersuchungen entwickelt und evaluiert wurden. Er ermöglicht eine robuste und unkomplizierte Analyse von Atrophiearealen und Berechnung deren Progression über die Zeit. Der RegionFinder wird mittlerweile bei mehreren großen Phase II und Phase III Therapiestudien für die Bestimmung des primären Endpunktes eingesetzt. Nach kurzer Einarbeitung kann er auch zielgerichtet und einfach in der klinischen Routine eingesetzt werden, um individuelle Verläufe der Krankheitsprogression bei Patienten mit atrophischer AMD zu bestimmen.

In den nächsten Jahren ist verstärkt mit der Entwicklung und dem Einsatz von Bildverarbeitungs-Software zur Analyse von bildgebenden Befunden der Netzhaut zu rechnen. Dabei erscheint es unwahrscheinlich, dass automatische Messverfahren die Aufgabe des Arztes in der Auswertung von Bilddaten ersetzen. Vielmehr liegt der Nutzen in der praktischen Unterstützung des Arztes, um Auswertungsprozesse zu erleichtern oder diese überhaupt zu ermöglichen. Die letztendliche Interpretation und Einordnung der Aus-

wertungsergebnisse in gesunde und krankhafte Befunde wird dabei wohl eher nicht maschinell zu ersetzen sein.

LITERATUR

- Schmitz-Valckenberg S., Mossner A., Fleckenstein M., Wiedemann P., Holz F.G. [Therapy approaches for geographic atrophy]. *Ophthalmologie* 2010; 107: 1016–1019.
- Sunness J.S. The natural history of geographic atrophy, the advanced atrophic form of age-related macular degeneration. *Mol Vis* 1999; 5: 25.
- Sarks S.H. Ageing and degeneration in the macular region: a clinico-pathological study. *Br J Ophthalmol* 1976; 60: 324–341.
- Scholl H.P., Dandekar S.S., Peto T., et al. What is lost by digitizing stereoscopic fundus color slides for macular grading in age-related maculopathy and degeneration? *Ophthalmology* 2004; 111: 125–132.
- Sunness J.S., Gonzalez-Baron J., Applegate C.A., et al. Enlargement of atrophy and visual acuity loss in the geographic atrophy form of age-related macular degeneration. *Ophthalmology* 1999; 106: 1768–1779.
- Schmitz-Valckenberg S., Fleckenstein M., Helb H.M., Charbel Issa P., Scholl H.P., Holz F.G. In-vivo imaging of foveal sparing in geographic atrophy secondary to age-related macular degeneration. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2009; 50: 3915–3921.
- Deckert A., Schmitz-Valckenberg S., Jorzik J., Bindewald A., Holz F.G., Mansmann U. Automated analysis of digital fundus autofluorescence images of geographic atrophy in advanced age-related macular degeneration using confocal scanning laser ophthalmoscopy (cSLO). *BMC Ophthalmol* 2005; 5: 8.
- Holz F.G., Bindewald-Wittich A., Fleckenstein M., Dreyhaupt J., Scholl H., Schmitz-Valckenberg S. Progression of geographic atrophy and impact of fundus autofluorescence patterns in age-related macular degeneration. *Am J Ophthalmol* 2007; 143: 463–472.
- Schmitz-Valckenberg S., Jorzik J., Unnebrink K., Holz F.G. Analysis of digital scanning laser ophthalmoscopy fundus autofluorescence images of geographic atrophy in advanced age-related macular degeneration. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2002; 240: 73–78.
- Fleckenstein M., Charbel Issa P., Helb H.M., et al. Funktionelles und mikrostrukturelles Korrelat diskreter Linien erhöhter Fundus-Autofluoreszenz bei Netzhaut- und Makula-Dystrophien. *Ophthalmologie* 2008; 105 (Suppl): DO 15.03 [Abstract – Vortrag].
- Fleckenstein M., Adrion C., Schmitz-Valckenberg S., et al. Concordance of disease progression in bilateral geographic atrophy due to AMD. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2009; 51: 637–642.
- Bearely S., Khanifar A.A., Lederer D.E., et al. Use of Fundus Autofluorescence Images to Predict Geographic Atrophy Progression. *Retina* 2011; 31: 81–86.
- Holz F.G., Schmitz-Valckenberg S., Fleckenstein M., Jaffe G.J., Hohman T.C. Lesion Characteristics and Progression in the Natural History of Geographic Atrophy (GAP) – Study. *Invest Ophthalmol* 2010; 51: E-Abstract 94.

14. Schmitz-Valckenberg S., Brinkmann C.K., Alten F., et al. Semiautomated image processing method for identification and quantification of geographic atrophy in age-related macular degeneration. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2011; 52: 7640–7646.

Prof. Dr. med. Frank G. Holz ist Direktor der Universitäts-Augenklinik Bonn. Sein wissenschaftlicher Schwerpunkt sind Netzhaut- und Makulaerkrankungen und retinale Bildgebungsverfahren. Er war klinischer Leiter der FAM-Studie, der ersten multizentrischen Ver-

laufsbeobachtung mit Einsatz hochauflösender retinaler Bildgebung bei atrophischer AMD. Er war weiterhin Mitbegründer des DFG-Schwerpunktprogramms AMD und Gründer des GRADE-Reading Center Bonn.

Privatdozent Dr. med. Steffen Schmitz-Valckenberg ist als Oberarzt an der Universitäts-Augenklinik Bonn tätig. Zunächst als medizinischer Doktorand an der Universitäts-Augenklinik Heidelberg, später wissenschaftlicher Mitarbeiter als Arzt in Weiterbildung an der Universitäts-Augenklinik Bonn hat er sich in der Arbeitsgruppe von Prof. Holz seit 2000 kontinuierlich und intensiv mit der Fundusautofluoreszenz-Bildgebung bei atrophischer Makuladegeneration beschäftigt. Sein wissenschaftlicher Werdegang ist mit der Entwicklung und Etablierung einer Analysestrategie zur Bestimmung der Krankheitsprogression

bei atrophischer altersabhängiger Makuladegeneration sowie der Gründung des GRADE Reading Centers Bonn eng verbunden.

Priv.-Doz. Dr. med.

Steffen Schmitz-Valckenberg

Universitäts-Augenklinik Bonn

Ernst-Abbe-Straße 2

53127 Bonn

Telefon: 0228 2871-6826

Telefax: 0228 2871-1470

E-Mail:

steffen.schmitz-valckenberg@ukb.uni-bonn.de

KONTAKT



Morphologische und funktionelle Zielparameter bei experimentellen Therapien erblicher Netzhauterkrankungen

PRIV.-DOZ. DR. DR. KNUT STIEGER, PROF. DR. BIRGIT LORENZ

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

Abbildung 1

■ *Morphologische Zielparameter. (A) Segmentierungsergebnis eines OCT B-Scans mithilfe der Software DIOCTA. (B) Schichtdaten für das RPE wurden in einer heatmap grafisch dargestellt und mit den Werten der funduskontrollierten Perimetrie am Nidek MP1 überlagert. Dadurch können räumliche Funktionsänderungen mit morphologischen Veränderungen korreliert werden. Daneben ist das zugehörige Fundusautofluoreszenzbild dargestellt. (C) Intraretinale Hohlräume können ebenfalls mit DIOCTA segmentiert werden. Dies wird für alle B-Scans eines Volumenscans automatisch durchgeführt und die Volumen können berechnet werden.*

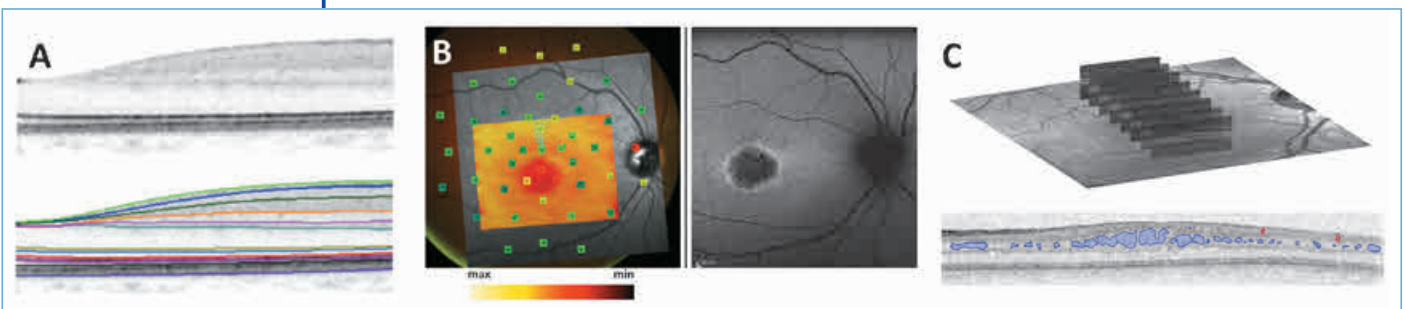
Erbliche Netzhauterkrankungen entstehen durch den mutationsbedingten Ausfall jeweils eines einzelnen hochspezialisierten Proteins in den retinalen Pigmentepithelzellen (RPE) oder den Photorezeptoren. Dies führt zu einem Funktionsverlust der gesamten Zellen und endet in der Degeneration der Zellen, wobei die Geschwindigkeit dieses Vorgangs stark variieren kann. Daher gibt es frühkindliche Formen wie die schwere frühkindliche Netzhautdegeneration und spätere Formen wie die Stäbchen-Zapfen-Dystrophie Retinitis pigmentosa, die erst im Erwachsenenalter zu deutlichen Seheinschränkungen führen [1]. Darüber hinaus kann der Zapfenverlust dominieren bzw. früher einsetzen (Zapfendystrophien, Zapfenstäbchendystrophien). Neben progredienten Erkrankungen kommen (weitgehend) stationäre Zapfendysfunktionen vor (Achromatopsie).

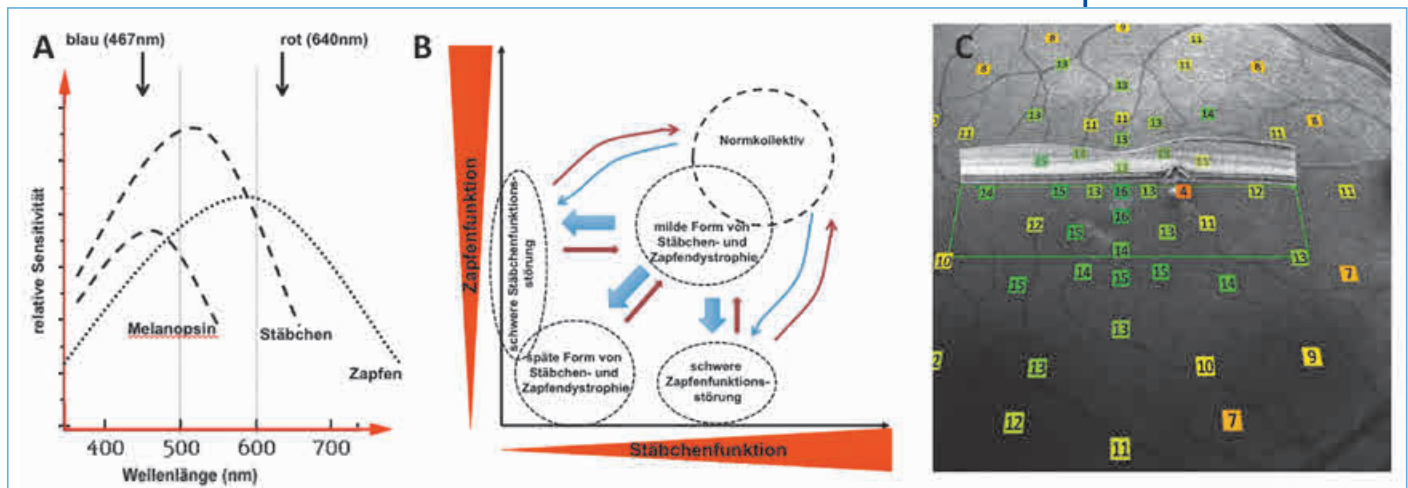
In den letzten 10 Jahren wurden bahnbrechende Fortschritte bei der Behandlung von erblichen Netzhauterkrankungen erzielt. Die Art der Therapiestrategie hängt dabei vom Grad der Degeneration in der Netzhaut ab [2]. Sind Photorezeptoren noch vorhanden, dann kann die spezifische Gentherapie oder eine pharmakologische Ersatztherapie versucht werden. Für Patienten, bei denen die Degeneration jedoch schon weiter fortgeschritten ist und keine Photorezeptoren mehr vorhanden sind, werden momentan Stammzelltherapieansätze bzw. Retinale Chip-Implantate erforscht.

Die spezifische Gentherapie ermöglicht die Expression eines korrekten und funktionellen

Proteins bei Erkrankungen, die aufgrund des Funktionsausfalls des endogenen Proteins entstehen [3, 4]. Pharmakologische Ansätze arbeiten mit Molekülen, die den ausgefallenen visuellen Zyklus ersetzen und die Photorezeptoren mit lichtsensitiven Retinoiden versorgen. Vor allem für diese beiden Therapieansätze, die momentan in verschiedenen klinischen Studien erprobt werden, ist die Definition von aussagekräftigen morphologischen und funktionellen Zielparametern ein aktuelles Problem.

Bei den meisten Patienten, die in oben beschriebene klinische Studien eingeschleust werden, ist die retinale Degeneration schon weit fortgeschritten, sodass mit klassischen ophthalmologischen Untersuchungsmethoden wie Ganzfeld-ERG, multifokalem ERG, kinetischer Perimetrie nach Goldmann oder auch dem Visus entweder keine oder nur Werte an der unteren Nachweisgrenze erhoben werden können [5, 6]. Veränderungen der Gesamtretnadicke, wie sie mit heutigen OCT (optische Kohärenztomographie) Geräten erhoben werden können, sind ebenfalls nicht aussagekräftig, da intraretinale Umbauprozesse im Rahmen der Erkrankungen nicht erfasst werden [7, 8]. Trotzdem sind es gerade solche Parameter, die häufig in den klinischen Studien mit erhoben werden, da sie von den länderspezifischen Kontrollgremien als primäre Endpunkte gefordert werden. Da die therapeutischen Effekte in den bisherigen Studien eher subtil ausfielen, waren sie daher mit den genannten Endpunkten nur schwer zu belegen [9, 10]. Die Arbeitsgruppe an der Augenklinik in Gießen befasst sich seit einiger





Zeit mit der Entwicklung von neuen Auswertemethoden, die sowohl morphologische als auch funktionelle Daten für eine quantifizierbare Prüfung der klinischen Effekte von experimentellen Therapiemethoden liefern und diese von Placeboeffekten abgrenzen können.

MORPHOLOGISCHE PARAMETER

Seit Einführung der spectral domain OCT Technik ist es möglich, hochauflösende Daten der retinalen Strukturen zu erheben. Obwohl dies bei Patienten mit fortgeschrittener Netzhautdegeneration aufgrund des häufig auftretenden Nystagmus nicht einfach ist, können auch hier präzise Daten zur Schichtung erhoben werden. Da sich völlig neue Auswertemöglichkeiten ergeben, arbeiten verschiedene Arbeitsgruppen momentan an der Entwicklung automatischer Segmentierungsalgorithmen für die detaillierte Untersuchung der morphologischen Veränderungen vor und nach Therapie [11, 12]. In Gießen wurde zur Auswertung der Daten eine Software entwickelt (DIOCTA, device independent OCT analysis), die in der Lage ist, automatisch bis zu 11 intraretinale Schichten zu segmentieren und Schichtdicken und deren Veränderungen grafisch darzustellen (**Abb. 1A**) [13]. Diese Daten können dann für sich oder in Kombination mit funktionellen Daten genutzt werden, um Regionen der Netzhaut zu finden, die mit hoher Wahrscheinlichkeit von einer Therapie profitieren können (**Abb. 1B**). Darüber hinaus kann mithilfe solcher Analysen der Therapieeffekt hinsichtlich der Dicke bestimmter Schichten oder der Darstellbarkeit bestimmter Linien analysiert werden [14]. Bei Erkrankungen, die mit Bildung intraretinaler Hohlräume einhergehen, wie X-chromosomaler Retinoschisis, Bestrophinopathien oder zystoidem Makulaödem bei RP kann mithilfe der Software das Volumen und die genaue Lage dieser Strukturen bestimmt und im Therapieverlauf verglichen werden (**Abb. 1C**) [15]. Eine Analyse der Gefäßdurchmesser und ihrer Änderungen im

Verlauf von Therapien ist ebenfalls möglich [16]. Momentan werden in Gießen Patientenkohorten verschiedener Erkrankungen, für die eine experimentelle Therapie in Kürze zur Verfügung stehen könnte, mithilfe dieser Analysemethoden untersucht und die »pre-treatment« Daten erhoben.

FUNKTIONELLE PARAMETER

Auch in der Analyse der Photorezeptorrestfunktion gibt es seit einigen Jahren verschiedene Methoden, die die verbliebene Sehfunktion der Patienten deutlich besser als mit »klassischen« Methoden beschreiben und mit denen sich therapeutische Effekte quantitativ erfassen lassen. Hierzu zählen die Lichtempfindlichkeitsmessung mit dem Ganzfeld Stimulus Test (full field stimulus test, FST) oder der Zweifarbenschwel lenperimetrie, die funduskontrollierte Perimetrie- und Dunkeladaptationsmessung oder auch die chromatische Pupillometrie [17–20]. Bei den perimetrischen Verfahren können durch Nutzung unterschiedlicher Lichtempfindlichkeiten für blaues und rotes Licht unter skotopischen Bedingungen Informationen über die Funktionalität der Stäbchen und Zapfen separat erhoben werden (**Abb. 2A**). Dies gilt ebenso für die chromatische Pupillometrie, bei der neben den Farben auch Dauer und Intensität des Stimulus variiert wird, um die lichtsensitiven Zellen separat zu testen (**Abb. 2B**). Die Arbeitsgruppe in Gießen hat in den letzten Jahren mit der chromatischen Pupillometrie und einer Erweiterung der funduskontrollierten Perimetrie sensitive Messmethoden entwickelt oder etabliert, die speziell bei experimentellen Therapiever suchen eingesetzt werden sollen [21, 22].

Bezeichnenderweise sind es gerade die Ergebnisse des FST mit weißem und farbigem Licht, welche bisher die deutlichsten Unterschiede in der Stäbchenfunktion vor und nach Therapie bei Patienten mit Mutationen im RPE65 Gen zeigten [9, 10]. Momentan werden diese Methoden in al-

Abbildung 2

■ funktionelle Parameter. (A) Grundlage der Zweifarbenperimetrie und der chromatischen Pupillometrie sind die unterschiedlichen spektralen Sensitivitäten von Stäbchen und Zapfen. Reize bei 460 nm unter skotopischen Bedingungen stimulieren nur die Stäbchen, während Reize bei 640 nm unter photopischen Bedingungen nur Zapfen stimulieren. Die Melanopsin-haltigen Ganglienzellen werden ebenfalls bei 460 nm stimuliert, können in der Pupillometrie aber durch die verzögerte Redilatation der Pupillen gemessen werden. (B) Grafische Darstellung der Stäbchen- und Zapfenantworten bei unterschiedlichen Netzhauterkrankungen. Blaue Pfeile: Krankheitsprogression; rote Pfeile: möglicher Therapieeffekt. (C) Graphische Darstellung der funduskontrollierten Perimetrie mit Goldmann I Stimulus zur Detektion auch kleinster morphologischer Veränderungen. Abbildung modifiziert aus [22].

len laufenden Studien eingesetzt und es bleibt zu hoffen, dass sie sich auch bei den Regulierungsbehörden als geeignete Endpunkte durchsetzen werden.

LITERATUR

- Lorenz B., Preising M., Stieger K. Retinal blinding disorders and gene therapy-molecular and clinical aspects. *Curr Gene Ther.* 2010 10 (5): 350–70.
- Jacobson S.G., Cideciyan A.V. Treatment possibilities for retinitis pigmentosa. *N Engl J Med.* 2010 363 (17): 1669–71.
- Lipinski D.M., Thake M., MacLaren R.E. Clinical applications of retinal gene therapy. *Prog Retin Eye Res.* 2013 32: 22–47.
- Boye S.E., Boye S.L., Lewin A.S., Hauswirth W.W. A comprehensive review of retinal gene therapy. *Mol Ther.* 2013 21 (3): 509–19.
- Roman A.J., Cideciyan A.V., Schwartz S.B., Olivares M.B., Heon E., Jacobson S.G. Intervisit variability of visual parameters in Leber congenital amaurosis caused by RPE65 mutations. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2013 54 (2): 1378–83.
- Jacobson S.G., Aleman T.S., Cideciyan A.V., Roman A.J., Sumaroka A., Windsor E.A., Schwartz S.B., Heon E., Stone E.M. Defining the residual vision in leber congenital amaurosis caused by RPE65 mutations. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2009 50 (5): 2368–75.
- Jones B.W., Watt C.B., Frederick J.M., Baehr W., Chen C.K., Levine E.M., Milam A.H., Lavail M.M., Marc R.E. Retinal remodeling triggered by photoreceptor degenerations. *J Comp Neurol.* 2003 464 (1): 1–16.
- Jacobson S.G., Cideciyan A.V., Aleman T.S., Sumaroka A., Windsor E.A., Schwartz S.B., Heon E., Stone E.M. Photoreceptor layer topography in children with leber congenital amaurosis caused by RPE65 mutations. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2008 49 (10): 4573–7.
- Jacobson S.G., Cideciyan A.V., Ratnakaram R., Heon E., Schwartz S.B., Roman A.J., Peden M.C., Aleman T.S., Boye S.L., Sumaroka A., Conlon T.J., Calcedo R., Pang J.J., Erger K.E., Olivares M.B., Mullins C.L., Swider M., Kaushal S., Feuer W.J., Iannaccone A., Fishman G.A., Stone E.M., Byrne B.J., Hauswirth W.W. 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.
- Maguire A.M., High K.A., Auricchio A., Wright J.F., Pierce E.A., Testa F., Mingozzi F., Bencicelli J.L., Ying G.S., Rossi S., Fulton A., Marshall K.A., Banfi S., Chung D.C., Morgan J.I., Hauck B., Zelenia O., Zhu X., Raffini L., Coppieters F., De Baere E., Shindler K.S., Volpe N.J., Surace E.M., Acerra C., Lyubarsky A., Redmond T.M., Stone E., Sun J., McDonnell J.W., Leroy B.P., Simonelli F., Bennett J. Age-dependent effects of RPE65 gene therapy for Leber's congenital amaurosis: a phase 1 dose-escalation trial. *Lancet.* 2009 374 (9701): 1597–605.
- Vámos R., Tátrai E., Németh J., Holder G.E., DeBuc D.C., Somfai G.M. The structure and function of the macula in patients with advanced retinitis pigmentosa. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2011 52 (11): 8425–32.
- Yang Q., Reisman C.A., Chan K., Ramachandran R., Raza A., Hood D.C. Automated segmentation of outer retinal layers in macular OCT images of patients with retinitis pigmentosa. *Biomed Opt Express.* 2011 2 (9): 2493–503.
- Ehnes A., Wenner Y., Friedburg C., Preising M.N., Bowl W., Sekundo W., Meyer zu Bexten E., Stieger K., Lorenz B. Optical Coherence Tomography (OCT) Device Independent Intra-retinal Layer Segmentation. *Transl Vis Sci Technol* 2013, submitted.
- Hood D.C., Zhang X., Ramachandran R., Talamini C.L., Raza A., Greenberg J.P., Sherman J., Tsang S.H., Birch D.G. The inner segment/outer segment border seen on optical coherence tomography is less intense in patients with diminished cone function. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2011 52 (13): 9703–9.
- Pilch M., Stieger K., Wenner Y., Preising M.N., Friedburg C., Meyer Zu Bexten E., Lorenz B. Automated segmentation of pathological cavities in optical coherence tomography scans. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2013 54 (6): 4385–93.
- Pilch M., Wenner Y., Strohmayer E., Preising M., Friedburg C., Meyer Zu Bexten E., Lorenz B., Stieger K. Automated segmentation of retinal blood vessels in spectral domain optical coherence tomography scans. *Biomed Opt Express.* 2012 3 (7): 1478–91.
- Jacobson S.G., Voigt W.J., Parel J.M., et al. Automated light- and dark-adapted perimetry for evaluating retinitis pigmentosa. *Ophthalmology.* 1986 93: 1604–1611.
- Roman A.J., Schwartz S.B., Aleman T.S., Cideciyan A.V., Chico J.D., Windsor E.A., Gardner L.M., Ying G.S., Smilko E.E., Maguire M.G., Jacobson S.G. Quantifying rod photoreceptor-mediated vision in retinal degenerations: dark-adapted thresholds as outcome measures. *Exp Eye Res.* 2005 80 (2): 259–72.
- Kardon R., Anderson S.C., Damarjian T.G., Grace E.M., Stone E., Kawasaki A. Chromatic pupil responses: preferential activation of the melanopsin-mediated versus outer photoreceptor-mediated pupil light reflex. *Ophthalmology.* 2009 116 (8): 1564–73.
- Park J.C., Moura A.L., Raza A.S., Rhee D.W., Kardon R.H., Hood D.C. Toward a clinical protocol for assessing rod, cone, and melanopsin contributions to the human pupil response. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2011 52 (9): 6624–35.
- Lorenz B., Strohmayer E., Zahn S., Friedburg C., Kramer M., Preising M., Stieger K. Chromatic pupillometry dissects function of the three different light-sensitive retinal cell populations in RPE65 deficiency. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2012 53 (9): 5641–52.
- Bowl W., Lorenz B., Jäger M., Friedburg C. Improving Detection of Mild Loss of Retinal Light Increment Sensitivity at the Posterior Pole With the Microperimeter MP1. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2013 54 (7): 4666–4674.

Priv.-Doz. Dr. Dr. med. vet. Knut Stieger, Jahrgang 1978, ist wissenschaftlicher Mitarbeiter und Leiter der Arbeitsgruppe »retinale Gentherapie« an der Augenklinik in Gießen. Nach einem Studium der Veterinärmedizin in Leipzig und Forschungsaufenthalten in Philadelphia und Cornell, absolviert 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 Gentherapie 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 Europä-

ischen Kommission zur Entwicklung eines neuen Therapieansatzes für erbliche Erkrankungen in der Netzhaut. Dr. Stieger ist Gründungsmitglied und Sekretär der Sektion DOG Genetik. Er ist Gutachter für zahlreiche Fachzeitschriften und Förderorganisationen und Autor von über 20 peer reviewed Veröffentlichungen.

Priv.-Doz. Dr. Dr. med. vet. Knut Stieger

Klinik und Poliklinik für Augenheilkunde
Justus-Liebig-Universität Gießen
Fachbereich 11 – Medizin
Friedrichstraße 18
35392 Gießen
Telefon: 0641 985-43835
Telefax: 0641 985-43999
E-Mail: knut.stieger@uniklinikum-giessen.de



KONTAKT



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 Ophthal-

mologica Internationalis (AOI) und der European Academy of Ophthalmology (EAO). Sie ist Präsidiumsmitglied der DOG, sowie Gründungsmitglied und Sprecherin der Sektion DOG-Genetik und war mehrere Jahre Präsidentin der European Pediatric Ophthalmological Society (EPOS). Im Jahr 2012 was Frau Lorenz Visiting Professor am Childrens Hospital der Harvard University. Frau Lorenz ist Gutachterin zahlreicher internationaler Fachzeitschriften und Forschungsförderinstitutionen und Autorin von über 200 peer reviewed Veröffentlichungen sowie Herausgeberin mehrerer Bücher.

Univ.-Prof. Dr. med. Birgit Lorenz, FEBO

Direktorin der Klinik und Poliklinik für Augenheilkunde
Justus-Liebig-Universität Gießen
Fachbereich 11 – Medizin
Klinik und Poliklinik für Augenheilkunde
Friedrichstraße 18
35392 Gießen
Telefon: 0641 985-43801
Telefax: 0641 985-43809
E-Mail: Birgit.Lorenz@uniklinikum-giessen.de
www.augen-giessen.de



KONTAKT



Subretinale elektronische Implantate in der klinischen Anwendung

DR. MED. KATARINA STINGL¹,
 PROF. DR. MED. DR. H.C. MULT. EBERHART ZRENNER²

1 Department für Augenheilkunde, Forschungsinstitut für Augenheilkunde
 Eberhard-Karls-Universität Tübingen

2 Werner Reichardt Centrum für Integrative Neurowissenschaften (CIN)
 Eberhard Karls-Universität Tübingen
 Forschungsinstitut für Augenheilkunde

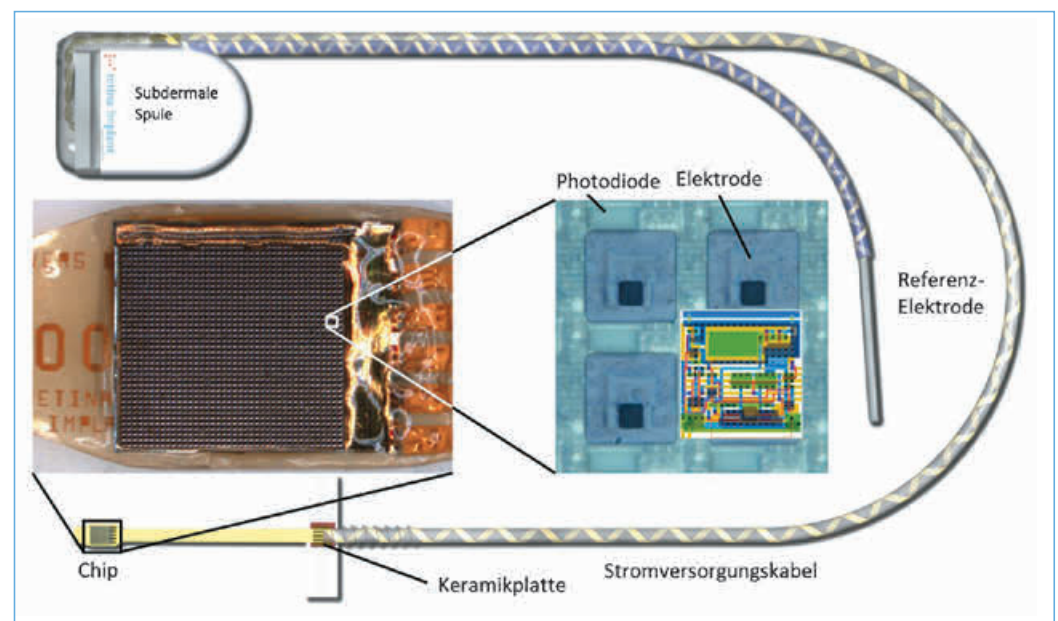
Elektronische Sehimplantate haben das Ziel, Teilfunktionen der neuronalen visuellen Sehbahn zu ersetzen. Ein subretinales visuelles Implantat ersetzt die Funktion degenerierter Photorezeptoren – ein Ansatz, der aktuell in einer multizentrischen klinischen Studie an blinden Patienten mit Retinitis pigmentosa verfolgt wird. In der gesunden Netzhaut wandeln die Photorezeptoren das Licht in Nervensignale durch Veränderung der Zellmembranpolarisation um. Bei Erkrankungen, die durch einen Verlust der Zapfen und Stäbchen gekennzeichnet sind, ersetzt ein subretinales Implantat teilweise diese Funktion, indem die den Photorezeptoren nachgeschalteten Zellen direkt elektrisch gereizt werden. Der subretinale Mikrochip Alpha IMS (Retina Implant AG, Reutlingen, Deutschland) besteht aus 1500 Elementen, die auf einer Fläche von 3mm x 3mm regelmäßig angeordnet sind. Jedes dieser 1500 Pixel (**Abb. 1 Mitte, links**) besteht jeweils aus einer lichtempfindlichen Photodiode, einem Differenzverstärker und einer Elektrode. Einfallendes Licht wird Punkt für Punkt von Photodioden aufgefangen und in elektrische Signale umgewandelt. Der jeder Photodiode nachgeschaltete Verstärker und seine Elektrode

(**Abb. 1 Innenausschnitt**) sorgen für ausreichend starke elektrische Ladung, die an jedem Punkt an die Bipolarzellen der Netzhaut weitergegeben wird. Da dieser Prozess in jedem Pixel unabhängig stattfindet und die räumlich zugeordnete Gruppe von Bipolarzellen gereizt wird, bleibt die natürliche Retinotopie der Wahrnehmung erhalten.

Elektronische Implantate benötigen eine Stromversorgung, da die Energie des einfallenden Lichtes nicht ausreichend ist, um die beschriebenen Vorgänge anzusteuern. Das gesamte Implantat besteht daher nicht nur aus dem subretinalen Mikrochip, sondern auch aus einem System einer externen Stromversorgung durch ein Kabel (**Abb. 1 unten links**), das zunächst als dünne Folie, dann als Rundkabel subretinal verläuft und den Bulbus transchoroidal und transskleral verlässt, dann als Rundkabel und unter dem Temporalis-muskel hinter das Ohr verläuft, dort mündet es in eine subperiostale Empfangsspule für Stromversorgung und Steuersignale ähnlich der Empfangsspule des Cochleaimplantats (**Abb. 1, oben links und Abb. 2a**).

Abbildung 1

■ *Das subretinale Implantat mit einem Ausschnitt des eigentlichen Mikrochips, der aus 1500 Mikrophotodioden besteht, von denen jede an einen Verstärker und eine Elektrode gekoppelt ist. Das gesamte Implantat besteht außerdem aus einem Stromversorgungskabel mit Sekundärspule [aus Stingl K et al. (2012) Was können blinde Patienten mit dem subretinalen Alpha IMS Implantat im Alltag sehen? Aktuelle Übersicht aus der Tübinger klinischen Studie. Der Ophthalmologe 109: 136–141].*



In der Pilotstudie, die in den Jahren 2005–2009 in der Tübinger Universitäts-Augenklinik durchgeführt wurde, war zunächst experimentell ein transdermales Kabel mit einem Stecker für die externe Stromversorgung benutzt worden. Da dies ein erhöhtes Infektionsrisiko darstellt, war es damals nicht möglich, das Implantat lange und außerhalb der Klinik zu benutzen. Diese Implantate wurden immer spätestens wegen des Kabels nach 3 Monaten wieder chirurgisch entfernt.

In der aktuellen klinischen Studie (Hauptstudie) wird eine spulenbasierte Stromversorgung verwendet. Die drahtlose Energie- und Steuersignalübertragung erfolgt durch elektromagnetische Induktion über eine epidermale Spule, die über der subperiostalen Empfangsspule magnetisch in Position gehalten wird (**Abb. 2**). Diese Implantate müssen nicht mehr entfernt werden, da es hier keine transdermale Verbindung mehr gibt. Eine externe Batterie versorgt das Implantat über die Spulen mit gepulster Energie. Der gesamte Chip nimmt mit den 1500 Mikrophotodioden mehrmals pro Sekunde (meist in 5 Hz Rhythmus) eine Millisekunde lang ein Bild auf und erzeugt ein elektrisches Abbild, das an die Bipolarzellen weitergegeben wird.

Das durch ein subretinales Implantat vermittelte Sehen ist ein rechteckiger als Ausschnitt der visuellen Welt von etwa 12°, dargestellt in bis zu etwa 9 differenzierbaren Grautönen. Es gibt keine Farbumterscheidung, da alle Photodioden die gleiche spektrale Sensitivität haben. Ein weiterer Unterschied zum natürlichen Sehen ist die fehlende Adaptation an die Umgebungshelligkeit. Die Empfindlichkeit muss der Patient selber manuell einstellen, je nach Helligkeit der Umgebung und der Kontrastbedingungen. Dazu gibt es auf dem Stromversorgungsteil zwei Drehknöpfe, mit denen die Kontrastempfindlichkeit und die Lichtverstärkung angepasst werden können, um den Seheindruck zu optimieren (**Abb. 2c**).

Der dem Patienten vermittelte Seheindruck dürfte dem Bild eines alten schwarz-weißen Fernsehers nahekommen, bei dem Kontrast und Helligkeit ebenfalls mit Knöpfen reguliert wurden und die Bilder in Grautönen dargestellt wurden. Allerdings kann das Implantat nur eine limitierte Sehschärfe vermitteln, die rein rechnerisch den dezimalen Visus von 0,1 nicht überschreiten kann.

Die standardisierten Tests haben bislang in der klinischen Prüfung gezeigt, dass bei den meisten Patienten eine sichere Lichtwahrnehmung durch das Implantat möglich ist, ebenso Lichtquellenlokalisierung, Bewegungswahrnehmung (bis zu 35 Grad/Sekunde), sowie Gitterschärfe (bis zu 3.3 Zyklen/Grad) und Optotypensehschärfe gemessen mit Landoltringen (bis zu 0.04 dezimal, logMAR 1.43).

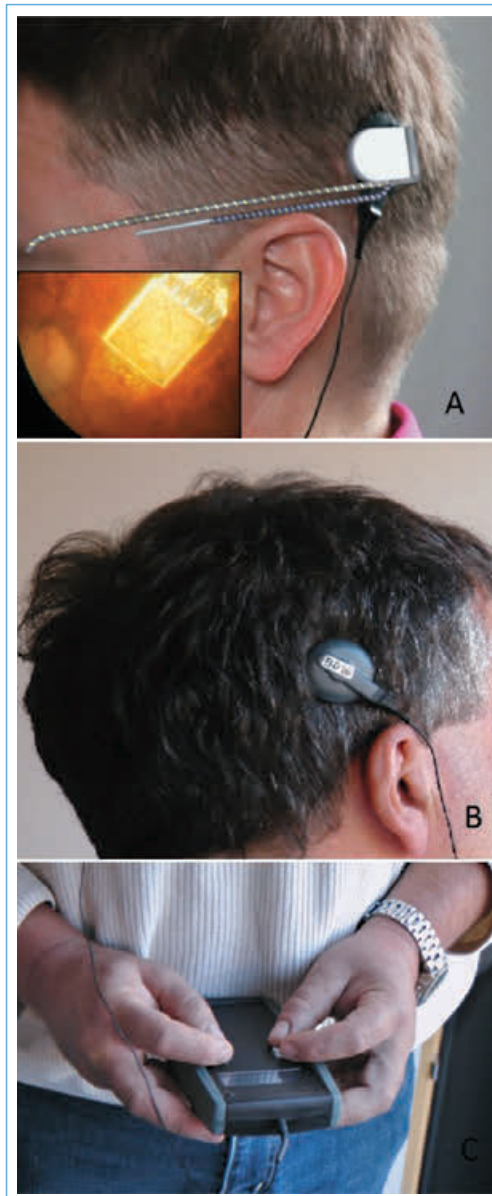


Abbildung 2

■ **(A)** Funduseinblick auf einen unter die Makula implantierten subretinalen Mikrochip und angedeuteter Verlauf des subdermalen Stromversorgungskabels. Die Sekundärspule (weiss) wird subdermal im Schädelknochen fixiert. **(B)** Die äußere Primärspule wird magnetisch in Position gehalten und wird immer angelegt, wenn das Implantat aktiviert werden soll. **(C)** Kontrast und Verstärkung der Wahrnehmung werden vom Patienten manuell angepasst. [aus Stingl K et al. (2012) Was können blinde Patienten mit dem subretinalen Alpha IMS Implantat im Alltag sehen? Aktuelle Übersicht aus der Tübinger klinischen Studie. Der Ophthalmologe 109: 136–141].

Auch Wahrnehmen, Lokalisieren und Erkennen von Gegenständen ist mit dem Sehimplantat signifikant besser geworden. [1–3]

Im täglichen Leben konnten viele Patienten subjektiv nützliche Seherfahrungen aus dem Alltag sammeln, die bereits publiziert worden sind. [1–3] Als Beispiele kann im Fernbereich vor allem die Fähigkeit, die Horizontlinie zu lokalisieren, benannt werden, sowie auch Erkennen von Gegenständen, die diese Kontur unterbrechen (z. B. Häuser, Türme, Bäume, etc.). Weiterhin wurde berichtet, dass Autos anhand der glänzenden Karosserie geortet werden, ebenso wie Fenster oder Türrahmen, Strassenlaternen oder Autoscheinwerfer nachts. Ein Patient konnte die Konturen der Köpfe seiner Kollegen bei einer Arbeitsversammlung wahrnehmen. Weitere Beispiele sind kontrastreiche Objekte in der Natur (Sonnenblumenstange, weiße Gans) oder Gegenstände zu Hause

(Mülleimer, kleiner Teppich im Nebenzimmer etc.). Im Nahbereich können die Patienten sehr häufig erkennen, ob jemand eine Brille trägt. Es wurde auch Erkennen schemenhafter Gesichtszüge beschrieben. Zu Hause oder in der Arbeit konnten die meisten Patienten Objekte auf dem Tisch wahrnehmen und lokalisieren, z. B. Telefon, Gläser, Geschirr, etc.

Im Vergleich mit anderen elektronischen Implantaten [4] (z. B. Argus II von Second Sight mit 60 Elektroden) wurde mit unserem Implantat Alpha IMS (Retina Implant AG, Reutlingen) bisher die höchste räumliche Auflösung erreicht.

Derzeit befindet sich das subretinale Implantat Alpha IMS in der klinischen Prüfung im Rahmen einer multizentrischen klinischen Studie und hat im Juli 2013 die CE-Zertifizierung erhalten. Detaillier-

te Sicherheitsaspekte der Therapie werden nach Abschluss der aktuell laufenden klinischen Studie ausgewertet.

LITERATUR

1. Stingl, K. et al. Artificial vision with wirelessly powered subretinal electronic implant alpha-IMS. *Proc. Biol. Sci.* 280, 20130077 (2013).
2. Stingl, K. et al. [What can blind patients see in daily life with the subretinal Alpha IMS implant? Current overview from the clinical trial in Tübingen]. *Ophthalmol. Z. Dtsch. Ophthalmol. Ges.* 109, 136–141 (2012).
3. Zrenner, E. et al. Subretinal electronic chips allow blind patients to read letters and combine them to words. *Proc. Biol. Sci.* 278, 1489–1497 (2011).
4. Zrenner, E. Artificial vision: Solar cells for the blind. *Nat. Photonics* 6, 344–345 (2012).



Dr. med. Katarina Stingl ist Fachärztin für Augenheilkunde am Department und Forschungsinstitut für Augenheilkunde der Universität Tübingen. Geboren in 1978 in Bratislava (Slowakei) studierte sie Humanmedizin an der Karls-Universität in Prag (Tschechien) und promovierte dort 2003. Nach Abschluss des Studiums widmete sie sich der Gehirnforschung am Magnetoenzephalographie-Zentrum des Instituts für Medizinische Psychologie und Verhaltensneurobiologie der Universität

Tübingen und promovierte in Tübingen 2007. Seit 2006 arbeitet Frau Dr. Stingl in der Tübinger Augenklinik und erhielt 2011 die Anerkennung Fachärztin für Augenheilkunde. Seit 2010 widmet sie sich der klinischen Forschung im Bereich Funktionsdiagnostik des Sehens. Ihre Forschungsschwerpunkte liegen vor allem in der Funktionsdiagnostik und Elektrophysiologie des Auges, Psychophysik, Neuroophthalmologie und Netzhautimplantaten. Der Fokus der klinischen Forschung liegt in der Prüfung des Sehens und der Sicherheit subretinaler Sehimplantate innerhalb einer multizentrischen Studie bei blinden Patienten mit Retinitis pigmentosa.

Dr. Stingl ist Begutachter mehrerer Fachzeitschriften und Mitglied der DOG (Deutsche Ophthalmologische Gesellschaft), ISCEV (International Society for Clinical Electrophysiology of Vision) und ARVO (Association for Research in Vision and Ophthalmology) sowie stellvertretende Vorsitzende des Vereins Neuro-Ophthalmologische Gesellschaft.

KONTAKT



Dr. med. Katarina Stingl

Department für Augenheilkunde,
Forschungsinstitut für Augenheilkunde
Eberhard Karls Universität Tübingen
Schleichstraße 12–16
72076 Tübingen
Telefon: 07071 298-7421
E-Mail:
katarina.stingl@med.uni-tuebingen.de

Prof. Dr. med. Dr. h.c. mult. Eberhart Zrenner ist Seniorprofessor für Ophthalmologie am Werner Reichardt Centrum für Integrative Neurowissenschaften und dem Forschungsinstitut für Augenheilkunde der Universität in Tübingen. Herr Prof. Zrenner studierte sowohl Humanmedizin als auch Elektrotechnik an der Technischen Universität in München und promovierte dort 1972 (Dr. med.). Darauf folgte eine sechzehnjährige wissenschaftliche Arbeit im Bereich der Neurophysiologie der retinalen Ganglienzellen am Max-Planck-Institut im Bad Nauheim und ein durch das Fogarty fellowship geförderter Aufenthalt am National Eye Institute (NIH, Bethesda 1977, 1978). Nach der Habilitation in 1981 und Facharztanerkennung (Augenheilkunde) 1985 an der Augenklinik in München trat Dr. Zrenner die Professur an der Universitäts-Augenklinik in Tübingen an. Hier gründete er die Spezialsprechstunde für Erbliche Netzhautdegenerationen und das Forschungsinstitut für Augenheilkunde, als dessen Direktor er zwischen 2007 und 2011 wirkte. Die Forschungsschwerpunkte von Prof. Zrenner liegen vor allem im Bereich der Neuroophthalmologie, Netzhautphysiologie und Funktionsdiagnostik des Sehens, besonders dann aber in der Elektrophysiologie der Sehbahn, Neurodegeneration und Entwicklung von mikroelektronischen Sehimplantaten.

Herr Prof. Zrenner koordiniert mehrere EU-Projekte, ist Mitglied vieler Fachgesellschaften sowie Gutachter führender Fachzeitschriften. Prof. Zrenner erhielt zahlreiche Preise und Förderungen, zwei Ehrendokortitel und ist an über 500 Fachpublikationen beteiligt (<http://www.eye-tuebingen.de/zrenner/>). Herr Prof. Zrenner leitet zahlreiche klinische Studien im Bereich der Erblischen Netzhautdegenerationen und entwickelte das aktive subretinale Sehimplantat, das derzeit in einer multizentrischen klinischen Studie an blinden Patienten mit Retinitis pigmentosa untersucht wird.



Prof. Dr. med. Dr. h.c. mult. Eberhart Zrenner

CIN Senior Professor of Ophthalmology
Werner Reichardt Centrum
für Integrative Neurowissenschaften (CIN)
Eberhard Karls Universität Tübingen
Forschungsinstitut für Augenheilkunde
Schleichstraße 12–16
72076 Tübingen
Telefon: 07071 298-4786
E-Mail: ezrenner@uni-tuebingen.de

KONTAKT



Das retinale Pigmentepithel und Erkrankungen des Auges

PROF. DR. OLAF STRAUß¹, SERGEJ SKOSYSIRSKI¹,
MAGDALENA MARKOWSKI¹, SUSANNE KECKEIS¹,
DR. NADINE REICHHART¹, PROF. DR. ANTONIA M. JOUSSEN²

**1 Augenklinik Charité
Universitätsmedizin
Berlin**

Experimentelle
Ophthalmologie

**2 Augenklinik Charité
Universitätsmedizin
Berlin**

Das retinale Pigmentepithel (RPE) ist ein enger Interaktionspartner der Photorezeptoren und aktiv an der visuellen Funktion beteiligt [Strauss 1995; Strauss 2005]. Schon die Evolution lichtempfindlicher Organe geht von einer Einheit bestehend aus einer lichtempfindlichen Zelle und einer pigmentierten Zelle aus. Diese funktionelle Einheit zeigt sich auch in den genetischen Erkrankungen, die zu Retinadegenerationen führen. Mutationen in Genen, die im RPE exprimiert sind, können zu einer primären Photorezeptordegeneration führen und Mutationen in Genen, die im Photorezeptor exprimiert sind, können zur primären RPE Degeneration mit sekundärer Photorezeptordegeneration führen.

In dieser Interaktion hat das RPE eine Fülle von Aufgaben, die für den Erhalt der visuellen Funktion als auch für die visuelle Funktion selbst essentiell sind [Strauss 1995; Strauss 2005]. Zunächst sorgt es als pigmentierte Zellschicht für die Absorption der Lichtenergie, die fokussiert durch eine Linse auf die Makula konzentriert wird. Als ein Teil der Blut/Schranke ist es aktiv am Immunprivileg der Retina beteiligt, Schnittstelle zu systemischen Veränderungen und auch transportierendes Epithel. Die letztere Funktion dient der Nährstoffversorgung der Photorezeptoren mit Glucose, essentiellen Fettsäuren und Retinol als auch im Transport vom subretinalen Raum zur Blutseite zur Elimination von Wasser durch einen ionalen transepithelialen Cl⁻ Transport. Die Aufnahme von Retinol aus dem Blutstrom ist Bestandteil des Retinal-Zyklus, einer weiteren Funktion der Photorezeptor/RPE Interaktion. all-trans Retinal, das im Sehprozess in den Photorezeptoren entsteht, wird zum RPE transportiert, dort zur 11-cis Retinal re-isomerisiert und den Photorezeptoren wieder zugeführt. Dieser Zyklus ist Teil der Hell-/Dunkeladaptation der Photorezeptoren. Trotz der weitreichenden und effizienten Schutzfunktionen des RPE bei der Lichtabsorption, werden die lichtsensitiven Spitzen der Photorezeptor-Außensegmente kontinuierlich zerstört und müssen durch Bildung neuer Außensegmente vom Zilium her erneuert werden. Im Erneuerungsprozess

werden zerstörten Spitzen abgestoßen und vom RPE phagozytiert, was in Koordination mit den Photorezeptoren geschehen muss, sonst kommt es zu strukturellen Veränderungen der Photorezeptor-Außensegmente. Zu guter Letzt ist das RPE ein sekretorisches Organ, das eine Menge verschiedener Faktoren sezerniert, die zur Immunmodulation, Gefäßstabilität und zur Neuroprotektion dienen.

Die Veränderung einer dieser Funktionen führt zur Retinadegeneration, darunter sehr viele verschiedene Formen der Makuladegenerationen.

BEST'SCHE VITTELIFORME MAKULADYSTROPHIE

Das Produkt des humanen BEST1 Gens, Bestrophin-1, ist im RPE exprimiert. Mutationen im BEST1 führen zur Funktionsänderung, im meisten Falle zu Funktionsverlust des Bestrophin-1 [Boon et al. 2009; Hartzell et al. 2008; Marmorstein and Kinnick 2007; Marquardt et al. 1998; Petrukhin et al. 1998]. Ein Grund dafür ist, dass die Mutanten Formen bei der Proteinbiosynthese nicht den Golgi-Apparat verlassen oder schon in den endosomalen Abbau überführt werden [Milenkovic et al. 2011b]. Daher ist es anzunehmen, dass die Best'sche vitelliforme Makuladystrophie auf einer Funktionsveränderung des RPE beruht. Um zu ermitteln, welche Funktion des RPE betroffen sein könnte, wurden zunächst Studien zur eigenen Funktion des Bestrophin-1 als auch zur Identifikation von Interaktionspartnern durchgeführt. In Expressionsstudien vor allem durch amerikanische Arbeitsgruppen, konnte Bestrophin-1 als Ca²⁺-abhängiger Cl⁻ Kanal identifiziert werden, was wir unseren Händen nicht bestätigen konnten [Hartzell et al. 2008; Kunzelmann et al. 2011; Sun et al. 2002]. Durch siRNA Knock-Down vom Bestrophin-1 in RPE Zellen in Kurzzeit-Zellkultur konnten wir zeigen, dass Bestrophin-1 ein im Wesentlichen intrazelluläres Protein ist, dass in der Membran von zytosolischen Ca²⁺ Speichern in der Nähe der basolateralen Membran des RPE

lokalisiert [Gomez et al. 2013; Neussert et al. 2010]. Hier hat es eine wesentliche Funktion in der Beladung dieser Speicher mit Ca^{2+} . Hierzu dient wahrscheinlich die durch Interaktion mit β -Untereinheiten bestehende Modulation der Aktivität potentialabhängiger Ca^{2+} -Kanäle [Marmorstein et al. 2006; Milenkovic et al. 2011a; Reichhart et al. 2010; Rosenthal et al. 2006]. Diese beiden Befunde deuten darauf hin, dass Bestrophin-1 in die Ca^{2+} -abhängige Regulation der RPE Zellfunktion eingreift und der Funktionsverlust des Bestrophin-1 zur Photorezeptordegeneration durch Fehlfunktion des RPE führt. Erste Befunde in vitro deuten auf einen Effekt in der Regulation der Phagozytose hin [Karl et al. 2008]. Allerdings besteht noch kein vollständiges Bild, denn der C-Terminus des Bestrophin-1 enthält zwei Cluster sogenannter PxxP-Motive [Milenkovic et al. 2011a; Reichhart et al. 2010], die mit allen Proteinen die über SH3-Domänen verfügen binden können und somit den Kreis der möglichen Interaktionspartner des Bestrophin-1 stark vergrößern.

DAS RPE ALS INTERAKTIONSFLÄCHE ZU SYSTEMISCHEN VORGÄNGEN: RENIN-ANGIOTENSIN-SYSTEM

Wie oben ausgeführt, ist das RPE Teil der Blut/Retina-Schranke und kann daher auf systemische Einflüsse reagieren. Diese können zum Beispiel in der Regulation von Immunantworten bestehen. Im Zusammenhang einer systemischen Modulation der Retina über das RPE steht das intra-retinale Renin-Angiotensin-System (RAS) [Jacobi et al. 1994; Jurklics et al. 1995; Jurklics et al. 1994; Kohler et al. 1997; Senanayake et al. 2007; Wheeler-Schilling et al. 2001]. Innerhalb der Retina besteht ein eigenständiges vollständiges RAS, das alle Komponenten des systemischen RAS aufweist: Expression von Renin, Angiotensinogen, sowie Angiotensin-Converting-Enzyme und ihre Metabolite. Die Funktion des intra-retinalen RAS ist nicht genau geklärt. ERG Untersuchungen als auch Patch-Clamp Ableitungen an retinalen Ganglienzellen legen eine Modulation der Signalverarbeitung in der Retina nahe [Jacobi et al. 1994; Jurklics et al. 1995; Jurklics et al. 1994; Kohler et al. 1997; Senanayake et al. 2007; Wheeler-Schilling et al. 2001]. Daneben scheint das intra-retinale RAS eine essentielle Rolle in der Pathologie der altersabhängigen Makuladegeneration und in der diabetischen Retinopathie zu spielen [Wilkinson-Berka 2004]. Hier kann es die Neovaskularisation fördern, ist möglicherweise an der Ödembildung beteiligt und verursacht Apoptose der Ganglienzellen [Kurihara et al. 2008]. Trotzdem genetische Analysen und Tiermodelle nahe legen, dass das RAS eine wichtige Rolle spielt, ist eine therapeutische Intervention eher umstritten. Dies kann zum einen daran liegen, dass es auch einen anti-angiogenen und anti-inflammatorischen Zweig

des RAS gibt. Zum anderen führen eventuell Beeinflussungen des systemischen RAS nicht unbedingt zur gewünschten Veränderung des lokalen RAS in der Retina. Ferner ist es daher nicht geklärt, in wie weit krankhafte Veränderungen des systemischen RAS, wie zum Beispiel Bluthochdruck, den Fortgang lokaler Ereignisse in der Retina, wie Degeneration oder Neovaskularisation beeinflussen. So haben wir systematisch untersucht, wie sich systemische Veränderungen auf das retinale RAS auswirken. Ausgangspunkt für diese Studie ist die Feststellung, dass das RPE fähig ist, selbst Renin zu produzieren [Milenkovic et al. 2010a]. Durch die Expression von Angiotensin-Rezeptoren in der basolateralen Membran kann das RPE die AngII-Spiegel im Plasma messen. Das so generierte Ca^{2+} Signal, dass durch das »angiotensinreceptor-associated-protein« (ATRAP) und die Aktivierung von »transient-receptor-potential-channel« TRPV2 Ca^{2+} -Kanäle generiert Signal führt zu einer Verminderung der Renin-Expression in der Retina [Barro Soria et al. 2012]. Auf diese Weise verändert das systemische RAS das lokale RAS: systemische Gabe von ACE-Hemmern führt zur Aktivierung der Renin-Expression und Verstärkung des lokalen RAS. Neben dem systemischen RAS haben wir ferner einen Einfluss auf das lokale RAS durch das sympathische Nervensystem entdecken können. In der Chorioidea befinden sich in der Nähe des RPE sympathische Nervenfasern-Endigungen. Das RPE selbst reagiert auf die systemische Stimulation durch Isoproterenol mit einer cAMP-abhängigen Stimulation der Renin-Expression. Neben der Veränderung der Renin-Expression durch das systemische RAS haben wir in letzter Zeit auch Veränderungen der Expression von pro-inflammatorischen Genen und pro-angiogenen Genen direkt nachweisen können, was die Rolle der Interaktion zwischen systemischen und lokalen RAS deutlicher unterstreicht.

Insgesamt erhoffen wir uns eine systematische Erfassung der Effekte systemischer Veränderungen, wie sie bei Patienten im höheren Alter vorkommen, auf die lokalen Ereignisse in der Retina bei diabetischer Retinopathie oder altersabhängiger Makuladegeneration. Dies sollte eine unmittelbar mögliche Abstimmung vorhandener Therapien ermöglichen.

WIRKUNG DES KOMPLEMENTSYSTEMS AUF DIE FUNKTION DES RPE

Polymorphismen in Genen von Komplement Komponenten sind mit dem Risiko für altersabhängige Makuladegeneration assoziiert [Anderson et al. 2010; Bradley et al. 2011; Edwards et al. 2005; Haines et al. 2005; Klein et al. 2005; Kunchithapatham et al. 2012; Thurman et al. 2013; Yates et al. 2007]. Die Polymorphismen führen zu einer mangelnden inhibitorischen Kontrolle des alter-

nativen Aktivierungsweges [Bradley et al. 2011]. Ferner deuten Ablagerungen aktivierter Komplement Proteine in den Drusen auf eine erhöhte Aktivität des Komplementsystems bei altersabhängiger Makuladegeneration hin [Anderson et al. 2010]. Da diese genetischen Veränderungen das gesamte Plasma betreffen, aber die Erkrankung ein auf das Auge beschränkter Prozess ist, wird diskutiert, dass es ein lokales Komplementsystem in der Chorioidea gibt, wobei das RPE eine inhibitorische und das Endothel eine aktivierende Komponente bilden [Anderson et al. 2010]. Wir sind dieser Frage nachgegangen und haben die Effekte aktiven Komplements auf die RPE Zellen untersucht. Im Wesentlichen zeigte es sich, dass wir nicht den Einbau einer unspezifischen Pore, was bei einem Einbau des terminalen Komplement Komplexes (C₅b-9) in die RPE Zellmembran bedeuten würde, nachweisen konnten. Vielmehr wird ein biphasisches Ca²⁺-Signal erzeugt, dass sich aus der Aktivität verschiedener endogen exprimierter Ionenkanäle zusammensetzt. Als ein Aktivierungsmechanismus haben wir die Entleerung zytosolischer Ca²⁺ Speicher nachweisen können, was über eine Koppelung von Ryanodinrezeptoren mit potentialabhängigen Ca²⁺-Kanälen des L-Typs Cav1.3 zu einem dauerhaften Ca²⁺-Signal führt. Parallel dazu erfolgt in einer initialen Peak-Phase eine Verstärkung des Signals durch die Aktivierung Ca²⁺-abhängiger K⁺-Kanäle. Im Fortgang der Studie werden nun die Wirkungen einzelner Komplement-Komponenten auf die Ionenkanalaktivierung untersucht. Ferner untersuchen wir in Kollaboration mit Prof. Gerhild Wildner (München) die Wirkung verschiedener Seren von Patienten mit unterschiedlicher Immunrelevanter Erkrankungen, darunter altersabhängiger Makuladegeneration. Zu guter letzt gilt ein verstärktes Augenmerk auf die physiologische Rolle des Komplement-induzierten Ca²⁺ Signals. Präliminäre Daten zeigen, dass Komplement-aktivierte RPE Zellen gegen Radikalbelastung durch H₂O₂ geschützt sind. Diese Daten könnten sich mit den Erkenntnissen zum sogenannten »sublytic MAC« ergänzen [Kunchithapautham et al. 2012; Kunchithapautham and Rohrer 2011; Thurman et al. 2009].

GRUNDLAGEN DER RPE FUNKTION

Das Verständnis, dass Fehlfunktionen des RPE zur Photorezeptordegeneration führen, bedingt, dass ebenfalls die physiologischen Funktionen des RPE genau verstanden werden. Daher beschäftigt sich ein Teil der Forschungen mit der physiologischen Regulation der RPE Funktionen. Dabei analysieren wir die Funktionen der Anoctamine, einer Familie von transmembranalen Proteinen, deren Funktion bisher nicht genau verstanden ist und die im RPE exprimiert werden. Die Funktion des Anoctamin-2 haben wir als Ca²⁺-abhängigen Cl⁻ Kanal beschrei-

ben können [Stohr et al. 2009]. In dieser Erstbeschreibung haben wir zeigen können, dass es sich wahrscheinlich um den Cl⁻ Kanal in der Photorezeptorsynapse handelt, der die Potentialabhängigkeit lichtinduzierter Ca²⁺ Kanäle beeinflusst. Seine Rolle im RPE ist noch nicht klar. Ferner untersuchen wir zurzeit die Funktionen der Anoctamine 3 und 4, die beide sehr eng miteinander verwandt sind [Milenkovic et al. 2010b]. Hier scheint es sich abzuzeichnen, dass es sich um Ca²⁺-abhängige Kationenkanäle handelt. Die Klärung dieser Beobachtung steht noch aus.

REGULATION DER SEKRETION DURCH DAS RPE

Das RPE kann als ein sekretorisches Gewebe verstanden werden. Es ist mit der gleichen molekularen Signalmaschinerie ausgestattet, wie andere sekretorische Zellen, zum Beispiel die Insulinsezernierenden Zellen des Pankreas. So weist das RPE die Expression der sogenannten neurosekretorischen L-Typ Kanäle (Cav1.3), den maxiK Ca²⁺-abhängigen K⁺ Kanal, sowie verschiedene rab-Proteine auf, die es mit den Pankreaszellen gemein hat [Wimmers et al. 2007]. So haben wir nachweisen können, dass zum Beispiel die Sekretion von VEGF von der Aktivität der L-Typ Kanäle im RPE abhängt. Eine nähere Untersuchung der Regulation der L-Typ Kanäle im RPE hat ergeben, dass diese Kanäle durch die Aktivität von zytosolischen als auch von Rezeptortyrosinkinasen abhängt [Rosenthal et al. 2001; Strauss et al. 2000; Strauss et al. 1997]. Damit ist es wahrscheinlich, dass vor allem die Wachstumsfaktor-abhängige Regulation VEGF Sekretion durch L-Typ Kanäle vermittelt wird. Zum Beispiel bewirkt der basische Fibroblasten-Wachstumsfaktor (bFGF) die Stimulation der VEGF Sekretion durch die Stimulation der L-Typ Kanäle [Rosenthal et al. 2005; Rosenthal et al. 2001]. Dies geschieht durch eine direkte Protein/Protein-Interaktion der L-Typ Kanäle mit dem bFGF-Rezeptor FGFR2. bFGF haben wir in CNV Membranen nachweisen können. Die Sekretionssteuerung durch L-Typ Kanäle scheint auch eine Rolle in der chorioidalen Neovaskularisation (CNV) zu spielen bei altersabhängiger Makuladegeneration zu spielen [Rosenthal et al. 2007]. In einer Untersuchung frisch isolierter RPE Zellen aus chirurgisch extrahierten CNV-Membranen von Makulapatienten hat ergeben, dass die L-Typ Kanalaktivität in den Patientenzellen höher ist und dass diese erhöhte Aktivität mit einer erhöhten VEGF Sekretion einhergeht [Rosenthal et al. 2007].

Neben den L-Typ Kanälen haben auch den TRPV2 Kanal als einen wichtigen Kandidaten in der Regulation der VEGF Sekretion identifizieren können [Cordeiro et al. 2010]. Eine Arbeit aus der Gruppe Catherina hat zeigen können, dass der Insuline-

like-Growth-Factor-1 (IGF-1) über die Aktivierung des IGF-1 Rezeptors und daraus resultierender Aktivierung der PI3-Kinase zu einem vermehrten Einbau von TRPV2 Kanälen in die Zellmembran stimuliert [Kanzaki et al. 1999]. In der Tat zeigen RPE Zellen eine enorme Steigerung der VEGF Sekretion nach Stimulation durch IGF-1, das ebenfalls in CNV Membranen nachweisbar ist [Cordeiro et al. 2010; Rosenthal et al. 2004]. Auch in den RPE Zellen scheint hier der PI3-Kinase-abhängige Einbau der TRPV2 Kanäle zur Erhöhung des freien zytosolischen Ca^{2+} als Second-Messenger und damit die verbundene Erhöhung der Membranleitfähigkeit für die VEGF Sekretion zu Grunde liegende Mechanismus zu sein. Interessanterweise ist der TRPV2 Kanal auch ein Ca^{2+} -Kanal, der sich Hitze bei Temperaturen über $40^{\circ}C$ aktivieren lässt. Dies führt zur Spekulation, dass eventuell therapeutische Effekte der Laserbehandlung über die TRPV2 Aktivierung in RPE Zellen erklären lässt.

Genau wie die insulinproduzierenden Zellen des Pankreas exprimieren RPE Zellen auch das Rab27a Protein [Lopes et al. 2007]. In den Pankreaszellen scheint Rab27a mit am Sekretionsprozess zu sein, in dem es den Transport der Insulin-haltigen Vesikel zur Zellmembran steuert. So haben wir die Möglichkeit untersucht, ob nicht die Aktivitäten des L-Typ Kanals und des Rab27a zusammen die VEGF Sekretion koordinieren. In der Tat fanden wir, dass Rab27a physikalisch mit den L-Typ Kanälen interagiert. Wir haben hierzu zeigen können, dass Rab27a die L-Typkanalaktivität erhöhen kann. Ferner haben wir eine Bindungsdomäne für Rab27a auf der porenbildenden Untereinheit des L-Typ Kanals nachweisen können.

ZUSAMMENFASSUNG

Der Bereich Experimentelle Ophthalmologie untersucht die verschiedenen Aspekte der RPE Zellfunktion und die molekularen Mechanismen ihrer Regulation. Im Vordergrund stehen die Funktionen als aktive Blut/Retina Schranke und Schnittstelle zu systemischen Veränderungen, Sekretion und Immunmodulation. Auf diese Weise werden lokale Ereignisse degenerativer Prozesse molekular genau erfasst, als auch deren Beeinflussung durch systemische Veränderungen, wie sie bei Patienten im höheren Alter vorkommen, analysiert. Dies wird durch Erforschung der Funktion noch unbekannter Moleküle ergänzt, was neue Aspekte der RPE Zellphysiologie erbringen soll.

WICHTIGSTE PUBLIKATIONEN DER LETZTEN JAHRE:

- Barro-Soria R., Stindl J., Muller C., Foeckler R., Todorov V., Castrop H., Strauss O. 2012. Angiotensin-2-mediated Ca^{2+} signaling in the retinal pigment epithelium: role of angiotensin-receptor-associated-protein and TRPV2 channel. *PLoS One* 7: e49624.
- Karl M. O., Kroeger W., Wimmers S., Milenkovic V. M., Valtink M., Engelmann K., Strauss O. 2008. Endogenous Gas6 and Ca^{2+} -channel activation modulate phagocytosis by retinal pigment epithelium. *Cell Signal* 20: 1159–68.
- Mergler S., Steinhausen K., Wiederholt M., Strauss O. 1998. Altered regulation of L-type channels by protein kinase C and protein tyrosine kinases as a pathophysiologic effect in retinal degeneration. *FASEB J* 12: 1125–34.
- Milenkovic V. M., Brockmann M., Meyer C., Desch M., Schweda F., Kurtz A., Todorov V., Strauss O. 2010. Regulation of the renin expression in the retinal pigment epithelium by systemic stimuli. *Am J Physiol Renal Physiol* 299: F396–403.
- Milenkovic V. M., Krejcova S., Reichhart N., Wagner A., Strauss O. 2011a. Interaction of bestrophin-1 and Ca^{2+} channel beta-subunits: identification of new binding domains on the bestrophin-1 C-terminus. *PLoS One* 6: e19364.
- Milenkovic V. M., Rohrl E., Weber B. H., Strauss O. 2011b. Disease-associated missense mutations in bestrophin-1 affect cellular trafficking and anion conductance. *J Cell Sci* 124: 2988–96.
- Neussert R., Muller C., Milenkovic V. M., Strauss O. 2010. The presence of bestrophin-1 modulates the Ca^{2+} recruitment from Ca^{2+} stores in the ER. *Pflugers Arch* 460: 163–75.
- Rosenthal R., Bakall B., Kinnick T., Peachey N., Wimmers S., Wadelius C., Marmorstein A., Strauss O. 2006. Expression of bestrophin-1, the product of the VMD2 gene, modulates voltage-dependent Ca^{2+} channels in retinal pigment epithelial cells. *FASEB J* 20: 178–80.
- Rosenthal R., Thieme H., Strauss O. 2001. Fibroblast growth factor receptor 2 (FGFR2) in brain neurons and retinal pigment epithelial cells act via stimulation of neuroendocrine L-type channels ($Ca(v)1.3$). *FASEB J* 15: 970–7.
- Strauss O. 2005. The retinal pigment epithelium in visual function. *Physiol Rev* 85: 845–81.
- Strauss O., Mergler S., Wiederholt M. 1997. Regulation of L-type calcium channels by protein tyrosine kinase and protein kinase C in cultured rat and human retinal pigment epithelial cells. *FASEB J* 11: 859–67.

LITERATUR

- Anderson D. H., Radeke M. J., Gallo N. B., Chapin E. A., Johnson P. T., Curletti C. R., Hancox L. S., Hu J., Ebright J. N., Malek G. and others. 2010. The pivotal role of the complement system in aging and age-related macular degeneration: hypothesis re-visited. *Prog Retin Eye Res* 29: 95–112.

2. Barro-Soria R., Stindl J., Muller C., Foeckler R., Todorov V., Castrop H., Strauss O. 2012. Angiotensin-2-mediated Ca²⁺ signaling in the retinal pigment epithelium: role of angiotensin-receptor-associated-protein and TRPV2 channel. *PLoS One* 7: e49624.
3. Boon C.J., Klevering B.J., Leroy B.P., Hoyng C.B., Keunen J.E., den Hollander A.I. 2009. The spectrum of ocular phenotypes caused by mutations in the BEST1 gene. *Prog Retin Eye Res* 28: 187–205.
4. Bradley D.T., Zipfel P.F., Hughes A.E. 2011. Complement in age-related macular degeneration: a focus on function. *Eye (Lond)* 25: 683–93.
5. Cordeiro S., Seyler S., Stindl J., Milenkovic V.M., Strauss O. 2010. Heat-sensitive TRPV channels in retinal pigment epithelial cells: regulation of VEGF-A secretion. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 51: 6001–8.
6. Edwards A.O., Ritter R., 3rd, Abel K.J., Manning A., Panhuysen C., Farrer L.A. 2005. Complement factor H polymorphism and age-related macular degeneration. *Science* 308: 421–4.
7. Gomez N.M., Tamm E.R., Strauß O. 2013. Role of bestrophin-1 in store-operated calcium entry in retinal pigment epithelium. *Pflugers Arch* 465: 481–95.
8. Haines J.L., Hauser M.A., Schmidt S., Scott W.K., Olson L.M., Gallins P., Spencer K.L., Kwan S.Y., Noureddine M., Gilbert J.R. and others. 2005. Complement factor H variant increases the risk of age-related macular degeneration. *Science* 308: 419–21.
9. Hartzell H.C., Qu Z., Yu K., Xiao Q., Chien L.T. 2008. Molecular physiology of bestrophins: multifunctional membrane proteins linked to best disease and other retinopathies. *Physiol Rev* 88: 639–72.
10. Jacobi P.C., Jurklics B., Kohler K., Zrenner E. 1994. [Experimental studies of the significance of the renin-angiotensin system in the retina. A review]. *Klin Monbl Augenheilkd* 204: 527–34.
11. Jurklics B., Eckstein A., Jacobi P., Kohler K., Risler T., Zrenner E. 1995. The renin-angiotensin system – a possible neuromodulator in the human retina? *Ger J Ophthalmol* 4: 144–50.
12. Jurklics B., Kohler K., Eikermann J., Zrenner E. 1994. Angiotensin II-like immunoreactivity in the retina of some mammalian species. *Ger J Ophthalmol* 3: 37–42.
13. Kanzaki M., Zhang Y.Q., Mashima H., Li L., Shibata H., Kojima I. 1999. Translocation of a calcium-permeable cation channel induced by insulin-like growth factor-I. *Nat Cell Biol* 1: 165–70.
14. Karl M.O., Kroeger W., Wimmers S., Milenkovic V.M., Valtink M., Engelmann K., Strauss O. 2008. Endogenous Gas6 and Ca²⁺-channel activation modulate phagocytosis by retinal pigment epithelium. *Cell Signal* 20: 1159–68.
15. Klein R.J., Zeiss C., Chew E.Y., Tsai J.Y., Sackler R.S., Haynes C., Henning A.K., SanGiovanni J.P., Mane S.M., Mayne S.T. and others. 2005. Complement factor H polymorphism in age-related macular degeneration. *Science* 308: 385–9.
16. Kohler K., Wheeler-Schilling T., Jurklics B., Guenther E., Zrenner E. 1997. Angiotensin II in the rabbit retina. *Vis Neurosci* 14: 63–71.
17. Kunchithapautham K., Bandyopadhyay M., Dahrouj M., Thurman J.M., Rohrer B. 2012. Sublytic membrane-attack-complex activation and VEGF secretion in retinal pigment epithelial cells. *Adv Exp Med Biol* 723: 23–30.
18. Kunchithapautham K., Rohrer B. 2011. Sublytic membrane-attack-complex (MAC) activation alters regulated rather than constitutive vascular endothelial growth factor (VEGF) secretion in retinal pigment epithelium monolayers. *J Biol Chem* 286: 23717–24.
19. Kunzelmann K., Kongsuphol P., Chootip K., Toledo C., Martins J.R., Almaca J., Tian Y., Witzgall R., Ousingsawat J., Schreiber R. 2011. Role of the Ca²⁺-activated Cl⁻ channels bestrophin and anoctamin in epithelial cells. *Biol Chem* 392: 125–34.
20. Kurihara T., Ozawa Y., Nagai N., Shinoda K., Noda K., Imamura Y., Tsubota K., Okano H., Oike Y., Ishida S. 2008. Angiotensin II type 1 receptor signaling contributes to synaptophysin degradation and neuronal dysfunction in the diabetic retina. *Diabetes* 57: 2191–8.
21. Lopes V.S., Ramalho J.S., Owen D.M., Karl M.O., Strauss O., Futter C.E., Seabra M.C. 2007. The ternary Rab27a-Myrip-Myosin VIIa complex regulates melanosome motility in the retinal pigment epithelium. *Traffic* 8: 486–99.
22. Marmorstein A.D., Kinnick T.R. 2007. Focus on molecules: bestrophin (best-1). *Exp Eye Res* 85: 423–4.
23. Marmorstein L.Y., Wu J., McLaughlin P., Yocom J., Karl M.O., Neussert R., Wimmers S., Stanton J.B., Gregg R.G., Strauss O. and others. 2006. The light peak of the electroretinogram is dependent on voltage-gated calcium channels and antagonized by bestrophin (best-1). *J Gen Physiol* 127: 577–89.
24. Marquardt A., Stohr H., Passmore L.A., Kramer F., Rivera A., Weber B.H. 1998. Mutations in a novel gene, VMD2, encoding a protein of unknown properties cause juvenile-onset vitelliform macular dystrophy (Best's disease). *Hum Mol Genet* 7: 1517–25.
25. Milenkovic V.M., Brockmann M., Meyer C., Desch M., Schweda F., Kurtz A., Todorov V., Strauss O. 2010a. Regulation of the renin expression in the retinal pigment epithelium by systemic stimuli. *Am J Physiol Renal Physiol* 299: F396–403.
26. Milenkovic V.M., Brockmann M., Stohr H., Weber B.H., Strauss O. 2010b. Evolution and functional divergence of the anoctamin family of membrane proteins. *BMC Evol Biol* 10: 319.
27. Milenkovic V.M., Krejčova S., Reichhart N., Wagner A., Strauss O. 2011a. Interaction of bestrophin-1 and Ca²⁺-channel beta-subunits: identification of new binding domains on the bestrophin-1 C-terminus. *PLoS One* 6: e19364.
28. Milenkovic V.M., Rohrl E., Weber B.H., Strauss O. 2011b. Disease-associated missense mutations in bestrophin-1 affect cellular trafficking and anion conductance. *J Cell Sci* 124: 2988–96.
29. Neussert R., Muller C., Milenkovic V.M., Strauss O. 2010. The presence of bestrophin-1 modulates the Ca²⁺ recruitment from Ca²⁺ stores in the ER. *Pflugers Arch* 460: 163–75.
30. Petrukhin K., Koisti M.J., Bakall B., Li W., Xie G., Marknell T., Sandgren O., Forsman K., Holmgren G., Andreasson S. and others. 1998. Identification of the gene responsible for Best macular dystrophy. *Nat Genet* 19: 241–7.
31. Reichhart N., Milenkovic V.M., Halsband C.A., Cordeiro

- S., Strauss O. 2010. Effect of bestrophin-1 on L-type Ca²⁺ channel activity depends on the Ca²⁺ channel beta-subunit. *Exp Eye Res* 91: 630–9.
32. Rosenthal R., Bakall B., Kinnick T., Peachey N., Wimmers S., Wadelius C., Marmorstein A., Strauss O. 2006. Expression of bestrophin-1, the product of the VMD2 gene, modulates voltage-dependent Ca²⁺ channels in retinal pigment epithelial cells. *FASEB J* 20: 178–80.
 33. Rosenthal R., Heimann H., Agostini H., Martin G., Hansen L.L., Strauss O. 2007. Ca²⁺ channels in retinal pigment epithelial cells regulate vascular endothelial growth factor secretion rates in health and disease. *Mol Vis* 13: 443–56.
 34. Rosenthal R., Malek G., Salomon N., Peill-Meininghaus M., Coeppicus L., Wohlleben H., Wimmers S., Bowes Rickman C., Strauss O. 2005. The fibroblast growth factor receptors, FGFR-1 and FGFR-2, mediate two independent signalling pathways in human retinal pigment epithelial cells. *Biochem Biophys Res Commun* 337: 241–7.
 35. Rosenthal R., Thieme H., Strauss O. 2001. Fibroblast growth factor receptor 2 (FGFR2) in brain neurons and retinal pigment epithelial cells act via stimulation of neuroendocrine L-type channels (Ca_v1.3). *FASEB J* 15: 970–7.
 36. Rosenthal R., Wohlleben H., Malek G., Schlichting L., Thieme H., Bowes Rickman C., Strauss O. 2004. Insulin-like growth factor-1 contributes to neovascularization in age-related macular degeneration. *Biochem Biophys Res Commun* 323: 1203–8.
 37. Senanayake P., Drazba J., Shadrach K., Milsted A., Rungger-Brandle E., Nishiyama K., Miura S., Karnik S., Sears J.E., Hollyfield J.G. 2007. Angiotensin II and its receptor subtypes in the human retina. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 48: 3301–11.
 38. Stohr H., Heisig J.B., Benz P.M., Schoberl S., Milenkovic V.M., Strauss O., Aartsen W.M., Wijnholds J., Weber B.H., Schulz H.L. 2009. TMEM16B, a novel protein with calcium-dependent chloride channel activity, associates with a presynaptic protein complex in photoreceptor terminals. *J Neurosci* 29: 6809–18.
 39. Strauss O. 1995. The Retinal Pigment Epithelium. In: Kolb H., Fernandez E., Nelson R., editors. *Webvision: The Organization of the Retina and Visual System*. Salt Lake City (UT).
 40. Strauss O. 2005. The retinal pigment epithelium in visual function. *Physiol Rev* 85: 845–81.
 41. Strauss O., Buss F., Rosenthal R., Fischer D., Mergler S., Stumpff F., Thieme H. 2000. Activation of neuroendocrine L-type channels (alpha1D subunits) in retinal pigment epithelial cells and brain neurons by pp60 (c-src). *Biochem Biophys Res Commun* 270: 806–10.
 42. Strauss O., Mergler S., Wiederholt M. 1997. Regulation of L-type calcium channels by protein tyrosine kinase and protein kinase C in cultured rat and human retinal pigment epithelial cells. *FASEB J* 11: 859–67.
 43. Sun H., Tsunenari T., Yau K.W., Nathans J. 2002. The vitelliform macular dystrophy protein defines a new family of chloride channels. *Proc Natl Acad Sci U S A* 99: 4008–13.
 44. Thurman J.M., Kulik L., Orth H., Wong M., Renner B., Sargsyan S.A., Mitchell L.M., Hourcade D.E., Hannan J.P., Kovacs J.M. and others. 2013. Detection of complement activation using monoclonal antibodies against C3d. *J Clin Invest* 123: 2218–30.
 45. Thurman J.M., Renner B., Kunchithapautham K., Ferreira V.P., Pangburn M.K., Ablonczy Z., Tomlinson S., Hokers V.M., Rohrer B. 2009. Oxidative stress renders retinal pigment epithelial cells susceptible to complement-mediated injury. *J Biol Chem* 284: 16939–47.
 46. Wheeler-Schilling T.H., Sautter M., Guenther E., Kohler K. 2001. Expression of angiotensin-converting enzyme (ACE) in the developing chicken retina. *Exp Eye Res* 72: 173–82.
 47. Wilkinson-Berka J.L. 2004. Diabetes and retinal vascular disorders: role of the renin-angiotensin system. *Expert Rev Mol Med* 6: 1–18.
 48. Wimmers S., Karl M.O., Strauss O. 2007. Ion channels in the RPE. *Prog Retin Eye Res* 26: 263–301.
 49. Yates J.R., Sepp T., Matharu B.K., Khan J.C., Thurlby D.A., Shahid H., Clayton D.G., Hayward C., Morgan J., Wright A.F. and others. 2007. Complement C3 variant and the risk of age-related macular degeneration. *N Engl J Med* 357: 553–61.

Prof. Dr. rer.nat. Olaf Strauß

Studium der Biologie an der Freien Universität Berlin mit Abschluss Diplom in Zoophysiologie. Promotion zum Dr. rer.nat. am Institut für Klinische Physiologie am Fachbereich Medizin der Freien Universität Berlin bei Prof. Dr. Michael Wiederholt. Habilitation im Fach Physiologie am Fachbereich Medizin der Freien Universität Berlin. 2002–2007 Professur für Experimentelle Ophthalmologie an der Augenklinik des Universitätsklinikums Hamburg-Eppendorf, Leitung Prof. Dr. Gisbert Richard. 2007–2012 Professur für Experimentelle Ophthalmologie an der Augenklinik des Universitätsklinikums Regensburg, Leitung Prof. Dr.

Horst Helbig. Seit 2012 Professur für Experimentelle Ophthalmologie an der Augenklinik der Charité Universitätsmedizin Berlin, Leitung Prof. Dr. Antonia Joussea.

Prof. Dr. Olaf Strauß

Augenklinik Charité
Universitätsmedizin Berlin
Experimentelle Ophthalmologie
Virchowklinikum (CVK)
Augustenburger Platz 1
13353 Berlin



KONTAKT



Unsere Kompetenz

Das iSert® Preloaded Injektorsystem

Präzise und Einfach

für eine zuverlässige und effiziente
minimal-invasive IOL-Implantation



Vorgeladen mit einer Vielzahl hydrophober
Intraokularlinsen für eine Inzision ab 2,2 mm

Singularly Focused. [Globally Powered.](#)

HOYA Surgical Optics GmbH De-Saint-Exupéry-Straße 8, 60549 Frankfurt/Main, Deutschland, HOYA.com/SurgicalOptics
HOYA Helpline Deutschland (kostenlos) Tel: 0800 664 2 664 Fax: 0800 774 2 774

HOYA Surgical Optics GmbH Niederlassung Österreich, Office Park I, Top B02, 1300 Wien, HOYA.com/SurgicalOptics
HOYA Helpline Österreich (kostenlos) Tel: 0800 208 590 Fax: 0800 208 599

Einige der Produkte und/oder die spezifischen Eigenschaften, die hier beschrieben werden, können eventuell in Ihrem Land nicht registriert worden sein und möglicherweise nicht vorhanden sein. Design und Spezifikation können ohne Vorankündigung geändert werden, je nach Stand der aktuellen technischen Entwicklung. Kontaktieren Sie bitte unsere Medizinprodukteberater bezüglich der Verfügbarkeit der Produkte in Ihrer Region. Die eingetragenen Warenzeichen und die Firmenzeichen, die in diesem Dokument verwendet werden, sind das Eigentum der HOYA Surgical Optics oder der jeweiligen Inhaber.

©2013 HOYA Surgical Optics. All rights reserved.

HOYA
SURGICAL OPTICS

Photodynamische Therapie (PDT) der Hornhaut

PD DR. NÓRA SZENTMÁRY,¹ TANJA STACHON,¹ JIONG WANG,^{1,2}
 DR. TIMO EPPIG,³ PROF. DR. ACHIM LANGENBUCHER,³
 DR. SUSANNE GOEBELS-KUMMEROW,¹ PROF. DR. BERTHOLD SEITZ¹

Die photodynamische Therapie (PDT) wird seit etwa zehn Jahren in vielen medizinischen Disziplinen eingesetzt. Das Prinzip der PDT beruht darauf, dass ein Photosensibilisator nach Reaktion mit Licht einer bestimmten Wellenlänge freie Sauerstoffradikale erzeugt, welche durch oxidative Schäden Zellen (eukaryontische Zellen, Bakterienmembranen, etc.) aufbrechen und so eine Nekrose – oder, bei Wirkung auf die Mitochondrienmembran, eine Apoptose induzieren können [6, 23].

Bei der »klassischen PDT« an der Makula werden als Photosensibilisatoren überwiegend Porphyrine eingesetzt, die bei Bestrahlung mit rotem Licht einer Wellenlänge von 690 nm aktiviert werden.

Crosslinking (CXL) wird bereits seit 2006 in der Augenheilkunde eingesetzt. Durch CXL wird eine Quervernetzung der Kollagenfasern der Kornea erreicht, was die Progression des Keratokonus oder einer iatrogenen Keratektasie aufhalten kann [3]. Bei CXL wird als Photosensibilisator Riboflavin eingesetzt, welches durch UVA-Licht der Wellenlänge 370 nm aktiviert wird [3].

Aufgrund des rapiden Anstiegs der Resistenzbildung gegen Antibiotika sind alternative Therapiemöglichkeiten bei infektiösen Keratitiden gefordert. Die *Photodynamische Therapie (PDT)* kann eine mögliche Therapie der infektiösen Keratitis darstellen.

RIBOFLAVIN-UVA-CROSSLINKING

Bereits 2009 zeigten Micelli Ferrari et al., dass CXL ein potentielles Therapieverfahren bei bakterieller Keratitis ist [16]. Die Anzahl von *klinische Studien*, die Riboflavin-UVA-Crosslinking als wirksame Therapieoption bei therapieresistenten und auch therapiesensiblen bakteriellen Keratitiden beschreiben, ist derzeit steigend. Durch Crosslinking konnten durch *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Mikrokokkus*, *Korynebakterien*, *Propionibakterien* oder atypische *Mycobakterien*

verursachte Keratitiden saniert werden [1, 2, 11–13, 17]. Weiterhin beschrieben Makdoui et al. in ihrer Arbeit eine Vernarbung von Hornhautinfiltraten nach Crosslinking, ohne dass zusätzlich topische Antibiotika angewendet wurden [12, 13]. Khan et al. berichteten über die Wirksamkeit von adjuvantem Crosslinking als Therapie der Akanthamoebenkeratitis bei drei Patienten [10].

Weiterhin publizierten Al-Sabai et al. [1], Iseli et al. [8] und Müller et al. [18], dass CXL als zusätzliche Therapieoption bei einem einschmelzenden Hornhautulkus Erfolg zeigte.

Der *Einfluss von CXL Therapie bei Mikroorganismen* wurde in mehreren in vitro Studien analysiert. Die Arbeitsgruppe um Ashley Behrens zeigte in ihrer Studie, dass die Kombination von UVA und Riboflavin bei Crosslinking schädigende Eigenschaften gegen Bakterien wie *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* und *Streptococcus pneumoniae in vitro* hat. Es zeigte sich, dass nicht die Zellmembran geschädigt wird, sondern die Nukleinsäure [15].

Makdoui et al. berichteten, dass Riboflavin-UVA Crosslinking Akanthamöben in vitro abtötet und dass sich die Abtötungsrate nicht signifikant unterscheidet, wenn nur UVA Licht ohne Riboflavin verwendet wird [14].

In unserer Augenklinik wird bereits mit Erfolg bei Patienten mit Akathamöbenkeratitis vor einer geplanten Keratoplastik die Crosslinking-Therapie off-label im Sinne eines individuellen Heilversuchs eingesetzt (**Abbildung 1**).

Nebenwirkungen auf gesundes umliegendes Gewebe grenzen das Anwendungsspektrum des CXL ein. Wollensak et al. analysierten den Effekt von Crosslinking auf humane Keratozytenkulturen. Es zeigte sich ein zytotoxischer Effekt von Riboflavin und UVA-Strahlung ab einer Flächenleistungsdichte von 0,5 mW/cm². Diese Flächenleistungsdichte wird bei einer Bestrahlung der Hornhaut

1 Klinik für Augenheilkunde
 Universitätsklinikum des Saarlandes UKS, Homburg/Saar, Deutschland
 (Direktor: Prof. Dr. Berthold Seitz)

2 Klinik für Augenheilkunde
 Renmin-Klinikum der Wuhan Universität, Wuhan, China

3 Experimentelle Ophthalmologie
 Universität des Saarlandes UKS, Homburg/Saar, Deutschland
 (Direktor: Prof. Dr. Achim Langenbucher)

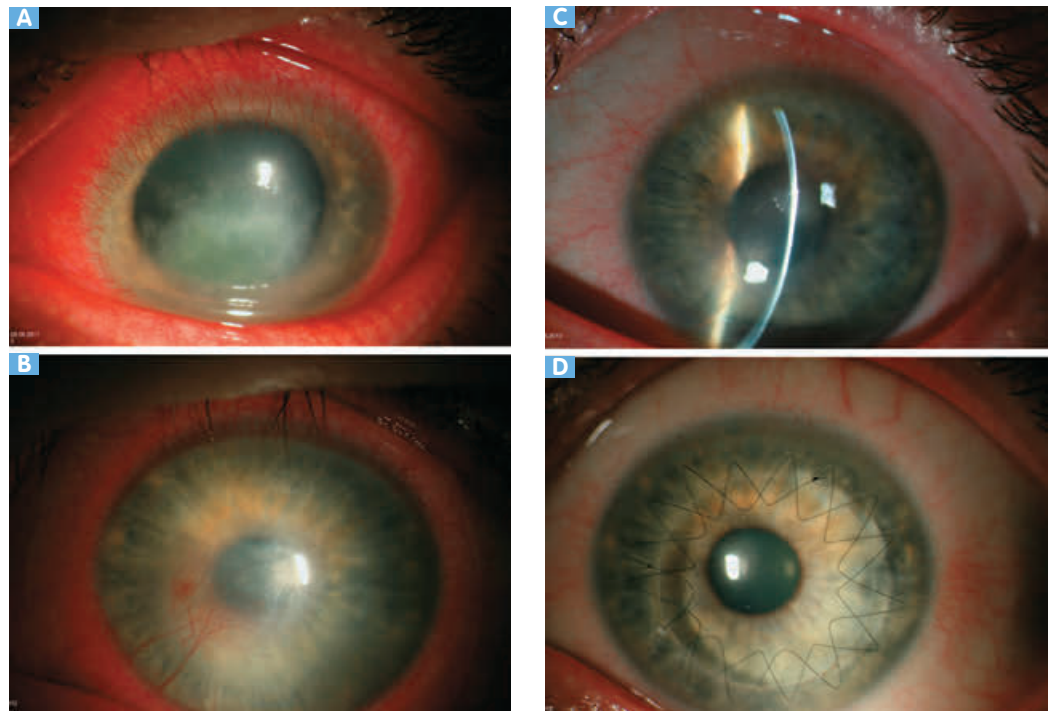


Abbildung 1

■ Akanthamöben-Keratitis 5 Monate vor (A), 1 (B) und 6 (C) Wochen nach Crosslinking-Therapie und 3 Monate nach perforierend Excimerlaser Keratoplastik (D).

mit 3 mW/cm^2 in einer Tiefe von $300 \mu\text{m}$ erreicht [28]. Reichl et al. beschrieben, dass die Schäden an Keratozyten mit der Höhe der Bestrahlungsenergie durch CXL ansteigen: Die Prozentzahl der Zellen, die apoptotisch oder nekrotisch sind, nimmt dabei zu [7]. Ein zytotoxischer Effekt auf das Hornhautendothel ist nach Wollensak et al. bei einer Hornhautdicke von unter $400 \mu\text{m}$ zu erwarten [27].

Die Grenzen der Zytotoxizität bei humanen Keratozyten und Mikroorganismen sind bei dem Photosensibilisator Riboflavin und bei der im klinischen Alltag verwendeten UVA im micromolaren Bereich bei Keratozyten (0,025 % Riboflavin) und im millimolaren Bereich bei Mikroorganismen (2 mM, was der therapeutisch eingesetzten Konzentration von 0,1 % entspricht) [15, 28].

PORPHYRIN (CHLORIN E6)-ROTES LICHT-PDT

In früheren experimentellen Studien haben wir bereits die Wirkung des Photosensibilisators Chlorine e6 (Ce6) auf humane Keratozyten und Endothelzellen in der Zellkultur nach einer 13-minütigen 670 nm Bestrahlung getestet. Dabei konnten wir einen Anstieg der Apoptoserate ab 250 nM , eine erniedrigte Vitalität ab 100 nM bei Keratozyten und ab 150 nM bei Endothelzellen nachweisen [21, 24, 25] (Abbildungen 2–6).

Bei einer Konzentration des Photosensibilisators von $32 \mu\text{M}$ konnte bei 16 *Candida albicans* Isolaten eine Abtötung von 99,99% nachgewiesen werden, bei einer Konzentration von $> 64 \mu\text{M}$ bei 20 *Staphylococcus aureus* Isolaten und bei einer Kon-

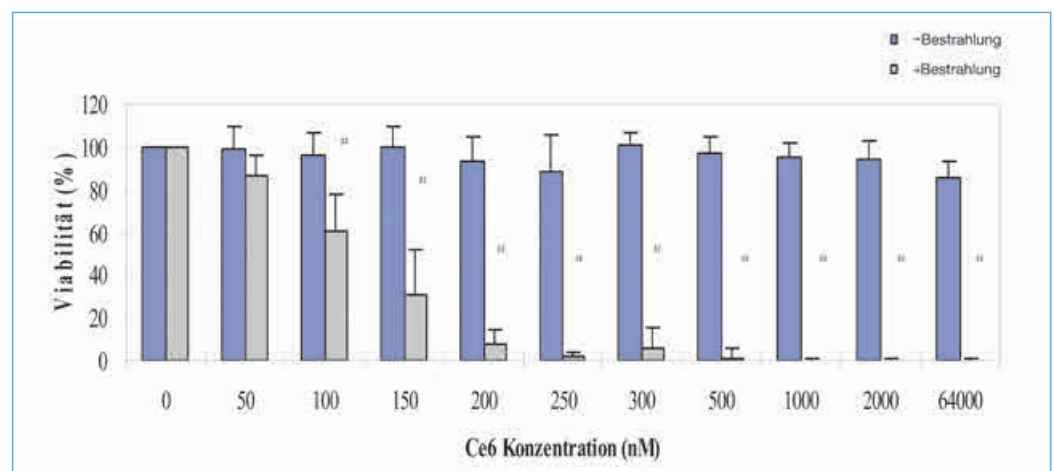


Abbildung 2

■ Viabilität von Keratozyten 24 Stunden nach Ce6-PDT.

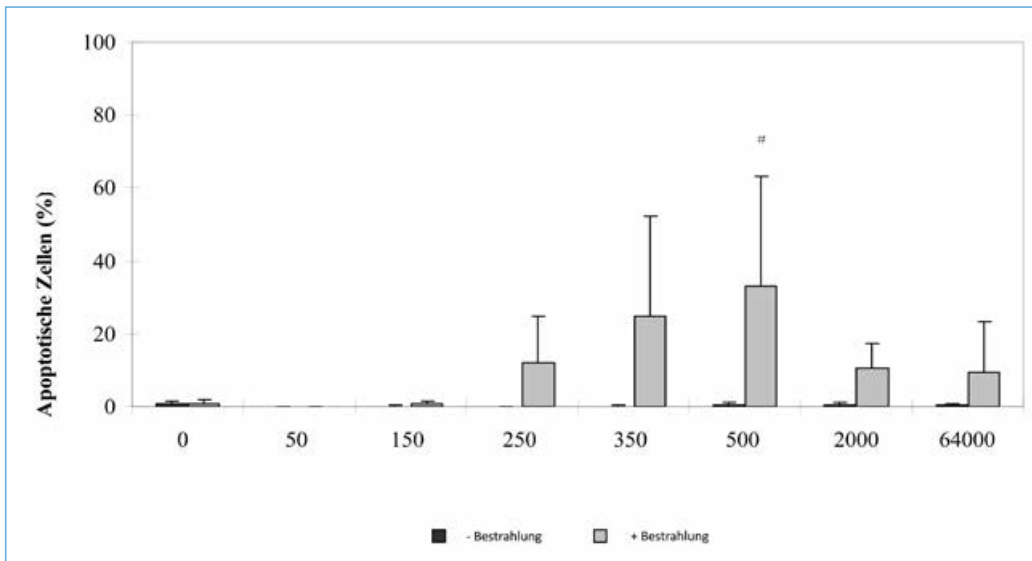


Abbildung 3

Apoptose von Keratozyten 24 Stunden nach Ce6-PDT.

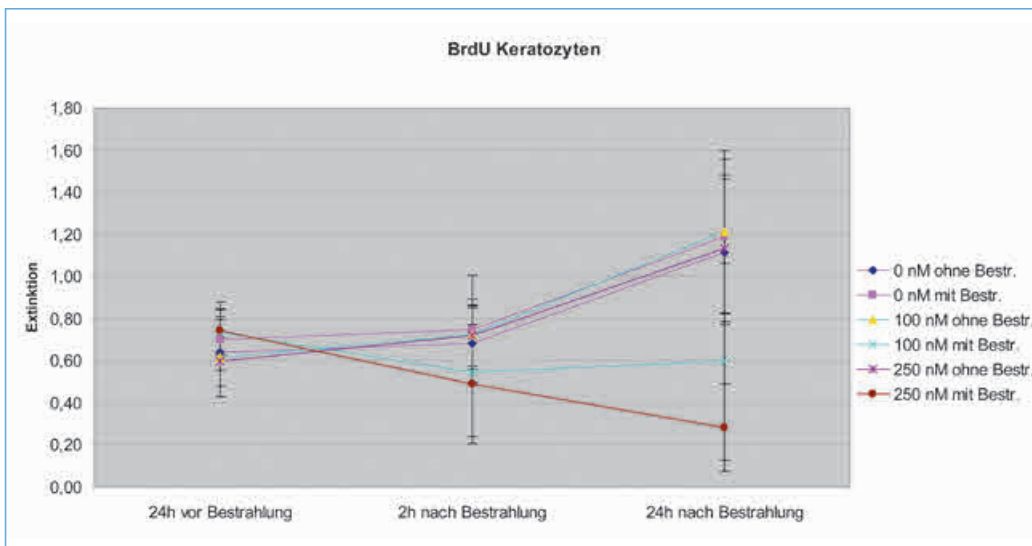


Abbildung 4

Keratozytenproliferation 24 Stunden nach Ce6-PDT.

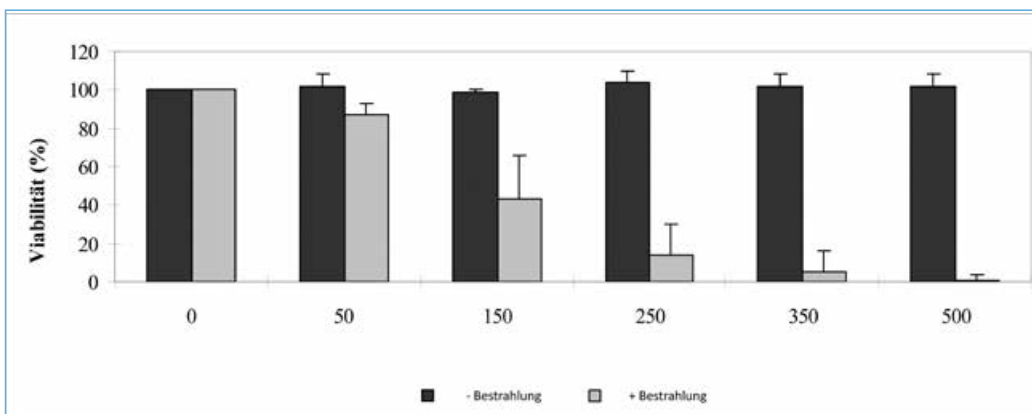


Abbildung 5

Endothelzellenviabilität 24 Stunden nach Ce6-PDT.

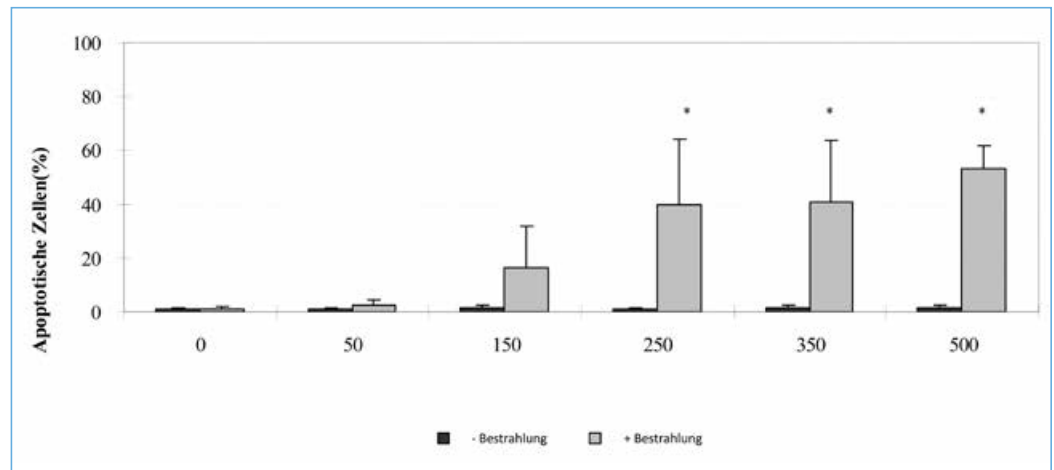
zentration von $> 128 \mu\text{M}$ bei 20 *Pseudomonas aeruginosa* Isolaten [26].

Interessanterweise hat die Photodynamische Therapie (PDT) auch Einfluss auf die Aktivierung von Keratozyten. Es konnte eine Reduktion von alpha-

smooth muscle actin positiven Keratozyten ab 250 nM Chlorin e6 Konzentration *in vitro* nachgewiesen werden [22] (Abbildungen 7–8). Weiterhin stimuliert Ce6-PDT »fibroblast growth factor beta« (FGFb) und reduziert die »hepatocyte growth factor« (HGF) Sekretion von Keratozyten 5 Stunden

Abbildung 6

■ Apoptose von Endothelzellen 24 Stunden nach Ce6-PDT.

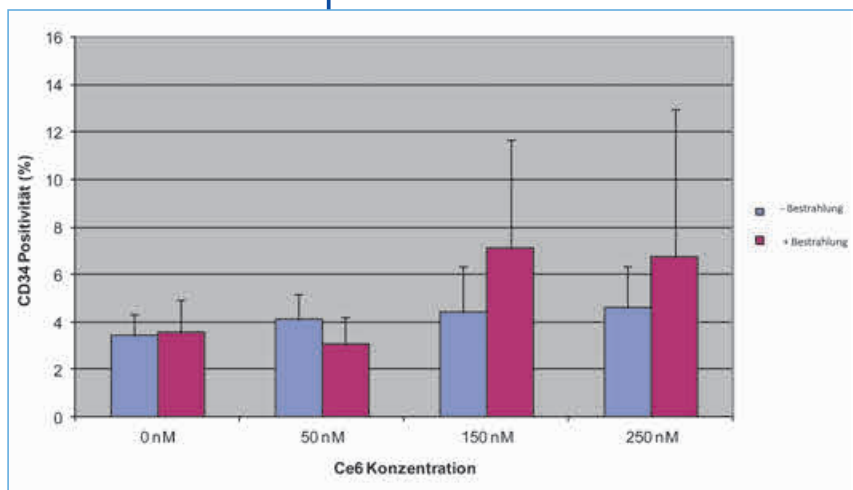


nach Behandlung, sowie die »keratocyte growth factor« (KGF) Sekretion 24 Stunden nach Behandlung. Die »vascular endothelial growth factor« (VEGF) und »transforming growth factor beta« (TGF β) Sekretion bleibt unverändert [20]. Weiter-

die Interleukin 1 Sekretion [19]. Mit ähnlichen Effekten könnte auch CXL als PDT die inflammatorische Antwort und Aktivierung von Keratozyten bei der infektiösen Keratitis verändern.

Um den Schaden an humanen Zellen zu reduzieren und die Zytotoxizität an Mikroorganismen zu erhöhen, bietet sich ein mit einem Photosensibilisator gekoppelter Antikörper an, der spezifisch an Mikroorganismen bindet. Diese modifizierte Photosensibilisatoren könnten Mikroorganismen effizienter schädigen als direkt eingesetzte Photosensibilisatoren und so einen geringeren zytotoxischen Effekte auf die eukaryonten Zellen zeigen [4, 5]. Unsere Arbeitsgruppe führt derzeit die ersten Messungen mit einem Riboflavin gekoppelte Antikörper sowohl bei unterschiedlichen Mikroorganismen als auch bei humanen Zellkulturen durch.

Zusammenfassend stellt die Photodynamische Therapie in Hinblick auf die erhöhte Resistenzbildung gegenüber topischer Antibiotika bei infektiöser Keratitis eine mögliche adjuvante Therapieoption dar. Die PDT bewirkt durch die Bildung von freien Sauerstoffradikalen eine Schädigung der Zellmembranen von Bakterien, Pilzen und Protozoen und fördert so deren Abtötung. Um

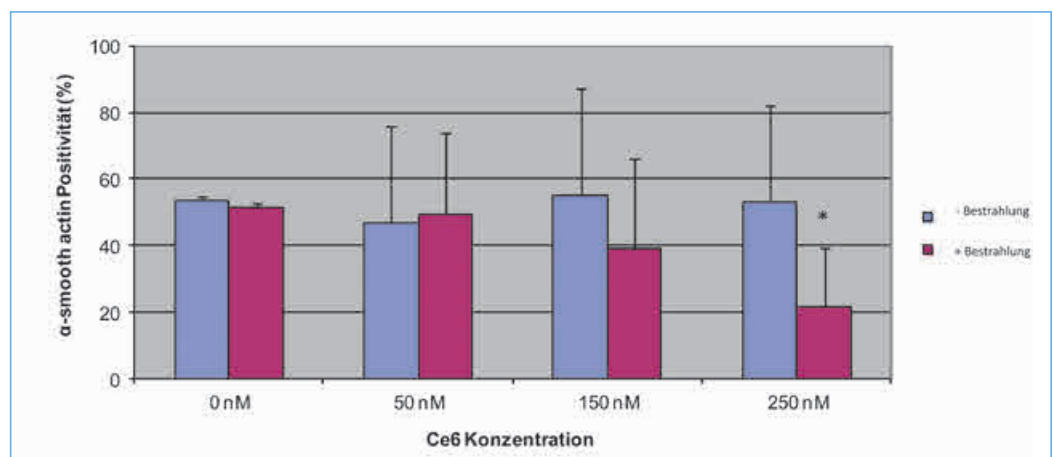
**Abbildung 7**

■ CD34-Expression von humanen Keratozyten 24 Stunden nach Ce6-PDT.

hin sinkt die Interleukin 6 und 8 Sekretion 5 Stunden nach Ce-PDT, welche sich nach 24 Stunden wieder normalisiert, es zeigt sich kein Einfluss auf

Abbildung 8

■ Alpha-SMA-Expression von humanen Keratozyten 24 Stunden nach Ce6-PDT.



den Schaden an humanen Zellen zu reduzieren und die Zytotoxizität an Mikroorganismen zu erhöhen, bietet sich ein Photosensibilisator gekoppelter Antikörper an, der spezifisch an Mikroorganismen bindet. Zum jetzigen Zeitpunkt kann die PDT keinesfalls schon als eine probate Therapie der infektiösen Keratitis bezeichnet werden. Sie bleibt jedoch eine alternative Therapieoption für die therapieresistente Keratitis als potentieller Off-label Einsatz im Sinne eines individuellen Heilversuchs.

LITERATUR

- Al-Sabai N., Koppen C., Tassignon M.J. UVA/riboflavin crosslinking as treatment for corneal melting. *Bull Soc Belg Ophthalmol* 2010; 315: 13–7.
- Anwar H.M., El-Danasoury A.M., Hashem A.N. Corneal collagen crosslinking in the treatment of infectious keratitis. *Clin Ophthalmol* 2011; 5: 1277–80.
- Cursiefen C. Corneal crosslinking: »Safe and effective?« *Ophthalmologie* 2009; 106: 164–5.
- Demidova T.N., Hamblin M.R. Photodynamic therapy targeted to pathogens. *Int J Immunopathol Pharmacol* 2004; 17: 245–54.
- Embleton M.L., Nair S.P., Cookson B.D., Wilson M. Antibody-directed photodynamic therapy of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Microbial Drug Resistance* 2004; 10: 92–97.
- Fuchs S.M., Fluhr J.W., Bankova L., Tittelbach J., Hoffmann G., Elsner P.: Photodynamic therapy (PDT) and waterfiltered infrared A (wIRA) in patients with recalcitrant common hand and foot warts. *Ger Med Sci* 2004; 2: Doc08.
- Grobe G.M., Reichl S. Examining the suitability of riboflavin/UVA treatment for strengthening the stromal bioequivalent of the human cornea construct. *Curr Eye Res* 2011; 36: 217–31.
- Iseli H.P., Thiel M.A., Hafezi F., Kampmeier J., Seiler T. Ultraviolet A/riboflavin corneal cross-linking for infectious keratitis associated with corneal melts. *Cornea* 2008; 27: 590–4.
- Kashiwabuchi R., Carvalho F.S., Khan Y.A., Hirai F., Campos M.S., McDonnell P.J. Assessment of fungal viability after long-wave ultraviolet light irradiation combined with riboflavin administration. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2013; 251: 521–7.
- Khan Y.A., Kashiwabuchi R.T., Martins S.A., Castro-Combs J.M., Kalyani S., Stanley P., Flikier D., Behrens A. Riboflavin and ultraviolet light A therapy as an adjuvant treatment for medically refractive *Acanthamoeba keratitis*: report of 3 cases. *Ophthalmology* 2011; 118: 324–31.
- Kymionis G.D., Kamkariya V.P., Georgios A., Kontakadis G.A. Combined treatment with flap amputation, phototherapeutic keratectomy, and collagen crosslinking in severe intractable post-LASIK atypical mycobacterial infection with corneal melt. *J Cat Refract Surg* 2012; 38: 713–15.
- Makdoui K., Mortensen J., Crafoord S. Infectious keratitis treated with corneal crosslinking. *Cornea* 2010; 29: 1353–8.
- Makdoui K., Mortensen J., Sorkhabi O., Malmvall B.E., Crafoord S. UVA-riboflavin photochemical therapy of bacterial keratitis: a pilot study. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2012; 250: 95–102.
- Makdoui K., Bäckman A., Mortensen J., Magnuson A., Crafoord S. Comparison of UVA- and UVA/riboflavin-induced growth inhibition of *Acanthamoeba castellanii*. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2013; 251: 509–14.
- Martins S.A., Combs J.C., Noguera G., Camacho W., Wittmann P., Walther R., Cano M., Dick J., Behrens A. Antimicrobial efficacy of riboflavin/UVA combination (365 nm) in vitro. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2008; 49: 3402–8.
- Micelli Ferrari T., Leozappa M., Lorusso M., Epifani E., Micelli Ferrari L. *Escherichia coli* keratitis treated with ultraviolet A/riboflavin corneal crosslinking: a case report. *Eur J Ophthalmol* 2009; 19: 295–7.
- Morén H., Malmjö M., Mortensen J., Ohrström A. Riboflavin and ultraviolet A collagen crosslinking of the cornea for the treatment of keratitis. *Cornea* 2010; 29: 102–4.
- Müller L., Thiel M.A., Kipfer-Kauer A.I., Kaufmann C. Corneal cross-linking as a supplementary treatment option in melting keratitis: a case series. *Klin Monatsbl Augenheilkd* 2012; 229: 411–415.
- Seitz B., Stachon T., Wang J., Langenbacher A., Szentmáry N. IL-1 α , IL-1 β , IL-6 and IL-8 secretion in human keratocyte cell cultures following photodynamic inactivation (PDI). *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2013; E-Abstract.
- Stachon T., Wang J., Eppig T., Langenbacher A., Foth H.-J., Bischoff M., Seitz B., Szentmáry N. KGF, FGF, VEGF, HGF and TGF β 1 secretion of human keratocytes following photodynamic inactivation (PDI) in vitro. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2013; 251: 1987–93.
- Szentmáry N., Goebels S., Bischoff M., Seitz B. Photodynamische Therapie bei infektiöser Keratitis. *Ophthalmologie* 2012; 109: 165–70.
- Szentmáry N., Wang J., Stachon T., Goebels S., Seitz B. CD34 und Alpha-Smooth Muscle Actin Keratozyten Expression nach Photodynamischer Inaktivierung (PDI). *Klin Monatsbl Augenheilkd* 2013; 230: 570–4.
- von Felbert V., Hoffmann G., Hoff-Lesch S., Abuzahra F., Renn C.N., Braathen L.R., Merk H.F.: Photodynamic therapy of multiple actinic keratoses: Reduced pain through use of visible light plus water-filtered infrared-A (wIRA) compared to light from light-emitting diodes. *Br J Dermatol* 2010; 163: 607–15.
- Wang J., Stachon T., Eppig T., Langenbacher A., Seitz B., Szentmáry N. Impact of photodynamic inactivation (PDI) using the photosensitizer chlorin e6 on viability, apoptosis, and proliferation of human corneal endothelial cells. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2013; 251:1199-1204.
- Wang J., Stachon T., Bischoff M., Foth H.-J., Eppig T., Langenbacher A., Seitz B., Szentmáry N. Impact of Photodynamic Therapy (PDT) on viability, apoptosis and proliferation of human keratocytes in vitro. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2012; 53: E-Abstract 1092.
- Winkler K., Finke M., Wang J., Szentmáry N., Eppig T., Foth H.-J., Hüttenberger D., Langenbacher A., Seitz B., Bischoff M. In vitro effectiveness of photodynamic therapy against multi-resistant pathogens. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2012; 53: E-Abstract 6206.

DANKSAGUNG:

Projektpartnern der Zentrales Innovationsprogramm Mittelstand (ZIM Nr.KF215004MDo)

- Institute für Physik, Technische Universität Kaiserslautern, Deutschland: *Carole Simon, Hans-Jochen Foth*
- Institute für Genetik, Technische Universität Kaiserslautern, Deutschland: *John Cullum*
- Experimentelle Ophthalmologie, Saarland Universität, Homburg/Saar, Deutschland: *Benedikt Zelzer, Timo Eppig, Achim Langenbacher*
- Institut für Medizinische Mikrobiologie und Hygiene, Universität des Saarlandes, Homburg/Saar, Deutschland: *Katharina Bleses, Melanie Finke, Katrin Winkler, Markus Bischoff, Matthias Herrmann*
- Apocare GmbH: *Dirk Hüttenberger*

27. Wollensak G., Spörl E., Reber F., Pillunat L., Funk R. Corneal endothelial cytotoxicity of riboflavin/UVA treatment in vitro. *Ophthalmic Res* 2003; 35: 324–8.
28. Wollensak G., Spoerl E., Reber F., Seiler T. Keratocyte cytotoxicity of riboflavin/UVA-treatment in vitro. *Eye* 2004; 18: 718–22.



Priv.-Doz. Dr. Nóra Szentmáry, Ph.D. ist Oberärztin der Klinik für Augenheilkunde des Universitätsklinikums des Saarlandes (Direktor: Prof. Dr. Berthold Seitz ML, FEBO). Nach der Schulasubildung am Toldy Ferenc Gymnasium Budapest studierte sie an der Medizinischen Fakultät der Semmelweis Universität Budapest, Ungarn. Nach Abschluss des Studiums arbeitete Frau Dr. Szentmáry an der Augenklinik der Semmelweis Universität wo sie die Anerkennung als Fachärztin für Augenheilkunde sowie den Ph.D. unter der Anleitung von Frau Prof. Dr. Ildikó Süveges in 2005 erhielt. Ab 2010 arbeitete sie an der Klinik für Augenheilkunde des Universitätsklinikum des Saarlandes, wo sie sich 2012 habilitierte und die *Venia Legendi* für das Fach Augenheilkunde erhielt. Der Fokus ihrer klinischen Tätigkeit liegt auf der Hornhaut und dem vorderen Augenabschnitt.

FÖRDERUNGEN UND AUSZEICHNUNGEN

In 2003 erhielt Frau Dr. Szentmáry ein Stipendium der Society of European Ophthalmologists, wo sie den Grundstein für ihre wissenschaftliche Arbeit an der Augenklinik mit Poliklinik der Universität Erlangen-Nürnberg unter der Leitung von Prof. Dr. Dr. hc mult Naumann legte. In 2005 gewann sie ein DAAD Stipendium, im Rahmen dessen sie ihre wissenschaftliche Arbeit an der Augenklinik mit Poliklinik der Universität Erlangen-Nürnberg fortsetzte. Für den Zeitraum 2008 bis 2010 wurde Frau Dr. Szentmáry dann mit einem Stipendium der Alexander-von-Humboldt-Stiftung ausgezeichnet, wo sie ihre Forschungsarbeit zunächst in Erlangen, dann an der Klinik für Augenheilkunde am Universitätsklinikum des Saarlandes fortsetzen konnte.

KONTAKT



PD Dr. Nóra Szentmáry
Klinik für Augenheilkunde
Universitätsklinikum des Saarlandes, UKS
Kirrberger Straße 100
66424 Homburg/Saar
E-Mail: nszentmary@hotmail.com

ALPHA

Informationsgesellschaft mbH

WISSEN SICHTBAR MACHEN

Kostenreduzierte oder kostenfreie Publikationen helfen, den verfügbaren Rahmen zu entlasten und damit Gelder für andere Bereiche und Aktivitäten freizusetzen. Wir bieten Ihnen die ganze hierzu notwendige Palette – von der Anzeigenakquise über die Satztechnik bis zum fertigen Druckwerk: alles aus einer Hand. Für viele Institutionen sind wir eine feste Größe auf dem Verlagssektor.

Überzeugen Sie sich!

ALPHA Informationsgesellschaft mbH
Finkenstraße 10
68623 Lampertheim
Telefon: 06206-939-0
Telefax: 06206-939-243
E-Mail: info@alphapublic.de
Internet: www.alphapublic.de

HUMANOPTICS
DR.SCHMIDT HIGH DEFINITION IMPLANTS

1 MARKE
TEAM
STARKER
PARTNER



PRÄZISION IST UNSERE STÄRKE: HIGH DEFINITION IMPLANTS

Als einer der führenden Hersteller von Premium-Implantaten und Zubehör für die Augen Chirurgie bieten wir eine einzigartige Auswahl im Premium-, Standard- und Sonderbereich.

Vertrauen Sie der langjährigen Kompetenz unseres Unternehmens.



Leading Technology



Premium Quality



Customized Service



Global Experience



WWW.HUMANOPTICS.COM

Expression von Stammzell-/Pluripotenzmarkern in epithelialen Tumoren der Augenoberfläche

DIPL. BIOL. HENNING THOMASEN, PRIV.-DOZ. DR. HENRIKE WESTEKEMPER, D. DEKOWSKI, M. HANET, PROF. DR. KLAUS-PETER STEUHL, PROF. DR. DANIEL MELLER

Klinik für Erkrankungen des vorderen Augenabschnitts,
Zentrum für Augenheilkunde,
Universität Duisburg-Essen,
Essen, Deutschland

Die Gruppe der epibulbären Tumore umfasst eine Vielzahl von sowohl gutartigen als auch bösartigen Läsionen. Darunter fallen das Bindehautmelanom, epibulbäre Marginalzonen-B-Zell-Lymphome und das Plattenepithelkarzinom bzw. seine Vorstufe, die konjunktivale intraepitheliale Neoplasie [1]. Gerade letztere zählt zu den häufigsten malignen Erkrankungen der Augenoberfläche. Die Inzidenz des Plattenepithelkarzinoms variiert je nach geografischer Lage, wobei sie in Regionen mit hoher Sonneneinstrahlung deutlich höher ist als in gemäßigteren Breiten [2]. Konjunktivale Läsionen zeigen sich klinisch in vielen Fällen als chronische Konjunktivitis mit Bildung von Papillen oder Follikeln. Häufig imponieren sie als leukoplakieartige, gelatinöse oder papilliforme Erhabenheiten der Bindehaut, wobei die Läsionen am Limbus im Bereich der Lidspalte oder im Bereich der Conjunctiva fornicis oder Conjunctiva palpebrae lokalisiert sind. Von dort ausgehend infiltrieren die Läsionen die Bindehaut und die Hornhaut. Häufig sind der untere Fornix und das Unterlid betroffen, gefolgt vom medialen Kanthus, dem oberen Fornix und dem lateralen Kanthus. Ist die Konjunktiva palpebrae mitbeteiligt, führt das nicht selten zu Entropiumbildung. Korneale Läsionen sind insgesamt seltener zu beobachten [3].

Bei der Betrachtung des Plattenepithelkarzinoms ist klinisch und prognostisch bedeutsam, dass auch nach erfolgter chirurgischer Sanierung des Befundes mit einer hohen Rezidivrate zu rechnen ist [4].

Eine potentiell erklärende Hypothese für die Malignität und hohe Rezidivität der neoplastischen Tumoren der Augenoberfläche findet sich in der Krebsstammzellhypothese. Hierbei wird postuliert, dass kleinere Subpopulationen von Zellen mit Stammzeleigenschaften in Tumorgewebe persistieren, die eine Rolle bei den in der Klinik beobachteten Phänomenen der Tumorprogression und Resistenz gegenüber Chemotherapeutika und Bestrahlungsbehandlungen spielen. Zellen mit Stammzeleigenschaften sind bereits in verschiedenen malignen Tumoren wie z. B. Leukämien,

dem Glioblastom, Karzinomen der Leber, Lunge sowie, in der Ophthalmologie, im uvealen Melanom identifiziert worden [5–8]. Ein Nachweis entsprechender Zellen innerhalb von neoplastischen Tumoren der Augenoberfläche wurde bislang noch nicht erbracht jedoch zeigen sich Hinweise auf eine Beteiligung der somatischen Stamm- und Vorläuferzellen des Epithels der Augenoberfläche. Zu diesen Hinweisen gehört zum einen die häufige Lokalisation dieser Läsionen an Stellen, in denen auch die Stamm- und Vorläuferzellen des Epithels vermutet werden und zum anderen die Expression von Faktoren, die auch in diesen Zellen prominent sind. Die offensichtlichen Parallelen zwischen Tumorzellen und normalen Stammzellen haben großes Interesse über mögliche Beziehungen zwischen diesen zwei Zelltypen generiert. Die besonderen Kennzeichen von Stammzellen wie das unbegrenzte Potential zur Selbsterneuerung und die enorme Differenzierungskapazität werden durch die hohe proliferative Kraft und die phänotypische Plastizität von Tumorzellen widerspiegelt. Bedenkt man die häufige Lokalisation der Läsionen im Limbus und im Fornix, so erscheint es als nicht unwahrscheinlich, dass eine Beteiligung der epithelialen Stamm- und Vorläuferzellen des okulären Oberflächenepithels bei der Tumorgenese vorliegt und diese Zellen daher als Kandidaten für Krebsstammzellen bei CINs bzw. Plattenepithelkarzinomen darstellen. Morphologisch stellt die Limbusregion die Übergangszone zwischen Konjunktiva und Hornhaut dar und ähnelt somit anderen Gewebestrukturen des menschlichen Körpers wie z. B. dem Zervix uteri, welche anfällig für die Entwicklung von epithelialen Dysplasien sind. Der Limbus bildet eine gut-geschützte und -vaskularisierte Nische für die epithelialen Stamm- und Vorläuferzellen des Hornhautepithels, die lebenslang vorliegen, ein hohes Potential für klonogenen Zellteilung aufweisen und somit verantwortlich für Aufrechterhaltung und Regeneration des Hornhautepithels sind. Die Lokalisation der konjunktivalen Stammzellen innerhalb der menschlichen Bindehaut wird im Gegensatz zu jener des kornealen Epithels in der Literatur kontrovers diskutiert. Untersuchun-

gen zur Zellkinetik und Koloniebildungsfähigkeit lassen vermuten, dass eine uniforme Verteilung von Zellen mit einer hohen Proliferationskapazität sowohl in der bulbären als auch fornikalen Bindehaut zu finden ist. Die Möglichkeit einer Beteiligung dieser geweberegenerierenden Zellen an der Tumorbildung wurde im Jahr 1995 von Lee und Hirst thematisiert. Sie postulierten, dass die Alteration der Stammzellnische und ihrer Mikroumgebung, wahrscheinlich zu Veränderungen in den regulierenden Mechanismen der Stamm- und Progenitorzellen führen kann. Als Folge könnte ein atypischer Epithelphänotyp entstehen, welcher seinerseits die Grundlage von epibulbären Tumoren darstellen. Neoplasien des okulären Oberflächenepithels resultieren nach dieser Hypothese aus einer abnormen Proliferation des Hornhaut- und Bindehautepithels [9]. Auf der Basis dieser Überlegungen wurde an der Klinik für Erkrankungen des vorderen Augenabschnitts ein mit Mitteln der Dr. Werner Jackstädt-Stiftung gefördertes Forschungsprojekt initiiert, welches die Frage nach einer möglichen Beteiligung von regulären, geweberegenerierenden Stamm- und Vorläuferzellen an der Bildung von Tumoren untersuchen soll.

Im Rahmen des Projektes wurde bisher die Expression von Pluripotenzmarkern für und Markern die als putative Marker für epitheliale Stamm- und Vorläuferzellen etabliert wurden in normalem Gewebe der Augenoberfläche im Vergleich zu neoplastischen Tumoren untersucht.

Es wurden ausschließlich Fälle von pathologisch eindeutig befundenen Plattenepithelkarzinomen betrachtet. Diese sind verglichen zu ihren Vorstufen spezifischer zu identifizieren und damit einfacher zu klassifizieren. Es wurden Proben aus Tumoren der Bindehaut mittels histologischer Färbungen auf das Vorhandensein des Stammzell- bzw. Pluripotenzmarkers SOX2, des Proliferationsmarkers p63 und des bindehautspezifischen Zytokeratins K19 gefärbt. Die ausgewählten Marker wurden in allen bisher untersuchten Proben detektiert. Dies deutet auf das Vorhandensein von Zellen mit Stammzellcharakter hin. Bei der Betrachtung der Verteilung der für die Marker jeweils positiven Zellen ergab sich folgendes Bild: Zellen, die für die Marker SOX2 und p63 positiv waren, waren hauptsächlich an den Rändern des Tumors, der Zone mit dem höchsten Anteil proliferierender Zellen, lokalisiert. Es waren in allen untersuchten Gewebeschnitten mehr Zellen für p63 positiv als für SOX2 (s. Abb. 1 und 2). Da p63 ein Marker für transient amplifizierende Zellen und SOX2 ein stammzelltypischer Pluripotenzmarker ist, lässt sich daraus folgendes über die Verteilung möglicher Stammzellen schließen: es finden sich innerhalb des Tumorgewebes nur wenige Stammzellen aber eine erhöhte Menge ihrer stärker proliferationsaktiven Tochterzellen.

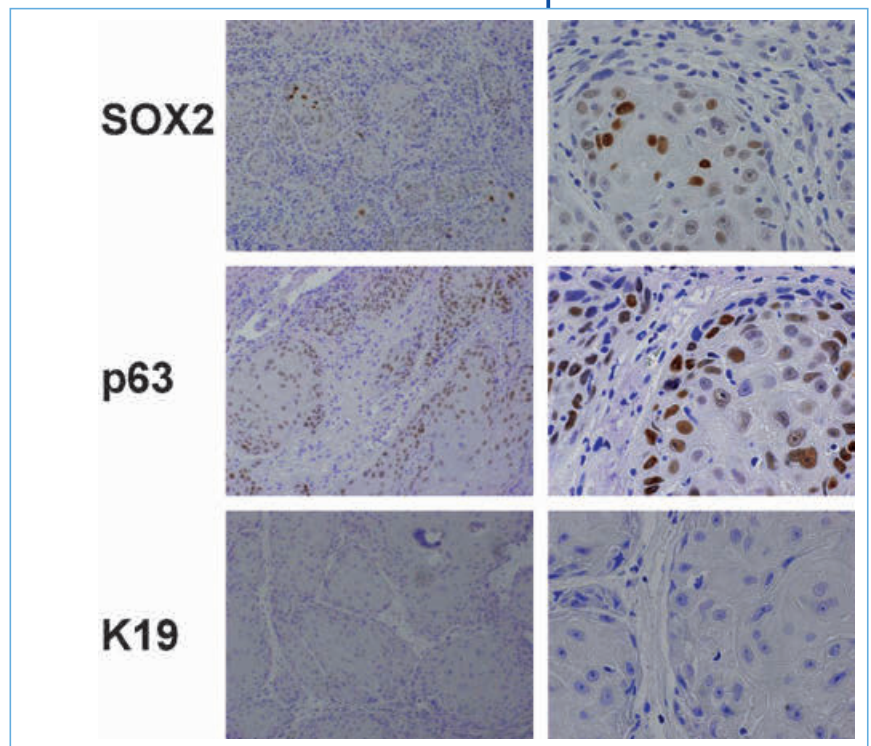


Abbildung 1

■ Expression der Marker SOX2 und p63, und K19 in einem Plattenepithelkarzinom der Bindehaut. Positive Zellen sind an der bräunlichen Färbung sichtbar. Linke Spalte: 100 fache Vergrößerung, rechte Spalte: 400 fache Vergrößerung.

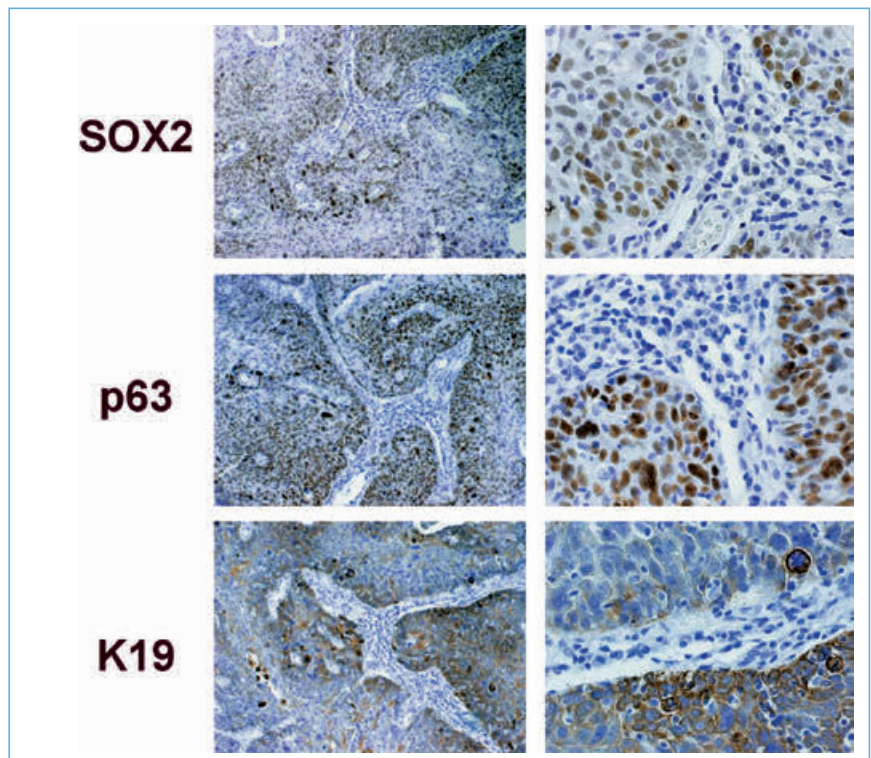


Abbildung 2

■ Expression der Marker SOX2 und p63, und K19 in einem aggressiver wachsenden Plattenepithelkarzinom der Bindehaut. Positive Zellen sind an der bräunlichen Färbung sichtbar. Linke Spalte: 100 fache Vergrößerung, rechte Spalte: 400 fache Vergrößerung

Bei der Betrachtung der gewonnenen histologischen Befunde in Beziehung zum klinisch dokumentierten Verlauf der Tumorgenese war zu bemerken, dass bei den bisher untersuchten Proben in aggressiveren Tumoren auch eine erhöhte Anzahl von SOX2 und p63 positiven Zellen zu finden war. Allerdings ist die Quantität der bisher untersuchten Proben zu gering, um eine statistische Analyse durchzuführen. Aus diesem Grunde kann aus den bisherigen Ergebnissen keine signifikante Aussage über die klinische Bedeutung der bisherigen Beobachtungen gemacht werden. Dennoch zeigen die Befunde den Trend an, dass eine erhöhte Expression von SOX2 mit einem aggressiven Verlauf der Tumorgenese einherzugehen scheint. Eine erhöhte Expression von SOX2 im Vergleich zu regulären Gewebe wurde bereits in anderen neoplastischen Tumoren festgestellt, so dass sich bei unseren Ergebnissen Parallelen zu publizierten Befunden finden [10, 11]. Im weiteren Verlauf des Projektes soll nun ergründet werden, inwieweit sich ein möglicher Zusammenhang zwischen epithelialen Stamm- und Vorläuferzellen und der Genese neoplastischer Tumore der Augenoberfläche feststellen lässt. Die Untersuchung dieser Fragestellung stellt einen wichtigen Beitrag für das Verständnis der Ausbildung dieser Erkrankung dar und besitzt damit eine hohe klinische Relevanz.

LITERATUR

1. Westekemper H., Schallenberg M., Tomaszewski A. et al. (2011) [Malignant epibulbar tumours: new strategies in diagnostics and therapy]. *Klinische Monatsblätter für Augenheilkunde* 228: 780–792.
2. Basti S., Macsai M.S. (2003) Ocular surface squamous neoplasia: a review. *Cornea* 22: 687–704.
3. Mehta M., Fay A. (2009) Squamous cell carcinoma of the eyelid and conjunctiva. *International ophthalmology clinics* 49: 111–121.
4. Shields J.A., Shields C.L., De Potter P. (1997) Surgical management of conjunctival tumors. The 1994 Lynn B. McMahan Lecture. *Archives of ophthalmology* 115: 808–8152.
5. Nduom E.K., Hadjipanayis C.G., Van Meir E.G. (2012) Glioblastoma cancer stem-like cells: implications for pathogenesis and treatment. *Cancer J* 18: 100–106.
6. Yamashita T., Wang X.W. (2013) Cancer stem cells in the development of liver cancer. *The Journal of clinical investigation* 123: 1911–1918.
7. O'flaherty J.D., Barr M., Fennell D. et al. (2012) The cancer stem-cell hypothesis: its emerging role in lung cancer biology and its relevance for future therapy. *Journal of thoracic oncology: official publication of the International Association for the Study of Lung Cancer* 7: 1880–1890.
8. Thill M., Berna M.J., Grierson R. et al. (2011) Expression of CD133 and other putative stem cell markers in uveal melanoma. *Melanoma research* 21: 405–416.
9. Lee G.A., Hirst L.W. (1995) Ocular surface squamous neoplasia. *Survey of ophthalmology* 39: 429–450.
10. Brustmann H., Brunner A. (2013) Immunohistochemical expression of SOX2 in vulvar intraepithelial neoplasia and squamous cell carcinoma. *International journal of gynecological pathology: official journal of the International Society of Gynecological Pathologists* 32: 323–328.
11. Gen Y., Yasui K., Nishikawa T. et al. (2013) SOX2 promotes tumor growth of esophageal squamous cell carcinoma through the AKT/mammalian target of rapamycin complex 1 signaling pathway. *Cancer science*.

Henning Thomasen ist Diplom Biologe und wissenschaftlicher Mitarbeiter in der Hornhautbank der Klinik für Erkrankungen des vorderen Augenabschnitts der Universitätsklinik Essen. Er studierte Biologie an der Westfälischen Wilhelms Universität Münster mit den Schwerpunkten Physiologie und Biochemie. Seit 2008 arbeitet er als Wissenschaftler an der Klinik für Erkrankungen des vorderen Augenabschnitts. Seit 2012 nimmt er zudem die Funktion des Geschäftsführers der Hornhautbank Essen wahr.

Er arbeitet an Forschungsprojekten über Stamm- und Vorläuferzellen des Epithels der Augenoberfläche im nativen Gewebe als auch in epibulbären Tumoren.

Ein weiteres Forschungsfeld ist die humane Amnionmembran und ihre Aufbereitung für die klinische Anwendung in der Ophthalmologie. Im Zuge dieser Arbeiten war Herr Thomasen an der Erlangung einer Erlaubnis zur Inverkehrbringung von kryokonservierter humaner Amnionmembran gemäß §21a des Arzneimittelgesetzes maßgeblich beteiligt.

PREISE UND AUSZEICHNUNGEN

Im Jahr 2010 ist Herr Thomasen mit dem Sicca Forschungsförderpreis der DOG und 2011 auf der Jahrestagung der European Eye Banking Association sowie 2012 auf der Jahrestagung der DOG jeweils mit einem Posterpreis ausgezeichnet worden.



Dipl. Biol. Henning Thomasen

Hornhautbank
Klinik für Erkrankungen des vorderen
Augenabschnitts
Universitätsklinikum Essen
Hufelandstr. 55
45122 Essen
Telefon: 0201 723-3745
Telefax: 0201 723-5645
E-Mail: henning.thomasen@uk-essen.de

KONTAKT



Versorgungsforschung in der Ophthalmologie

PROF. DR. FRANK TOST¹, DIPL. PHYS. RICO GROSSJOHANN¹,
DR. CLEMENS JÜRGENS^{1,2}

1 Klinik und Poliklinik für Augenheilkunde,
Arbeitsbereich
Experimentelle
Ophthalmologie
und Telemedizin

**2 Institut für
Community Medicine,**
Abteilung SHIP-KEF
Universitätsmedizin
Greifswald

Die Übertragung von Ergebnissen der Grundlagenforschung in die klinische Praxis ist auch für die Augenheilkunde von zunehmender Bedeutung. Innovative Behandlungsvorschläge 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. Andererseits gelangen Pseudoinnovationen, sogar mit kritischen Risiken, in den medizinischen Betreuungsprozess. Der Versorgungsforschung kommt daher die wichtige Aufgabe zu, durch eine die klinische Grundlagenforschung ergänzende wissenschaftliche Untersuchung der Versorgung von Einzelnen und der Bevölkerung mit gesundheitsrelevanten Medizinprodukten und Dienstleistungen unter Alltagsbedingungen weitere Optimierungen zu erreichen. Der Forschungsverbund Community Medicine ist ein zentraler Forschungsschwerpunkt und besonderes Alleinstellungsmerkmal der Medizinischen Fakultät der Ernst-Moritz-Arndt Universität Greifswald, in den die Augenklinik mit verschiedenen Forschungsaktivitäten und assoziierten Projekten integriert ist.

AKTUELLE ASPEKTE DER AUGENHEILKUNDE IN SHIP-TREND (STUDY OF HEALTH IN POMERANIA)

Das populationsbasierte interdisziplinäre Hauptprojekt »Study of Health in Pomerania (SHIP)« hat mehrere Zielstellungen [1, 2]. Hierzu gehören u. a. die Erfassung der Prävalenz und Inzidenz von Risikofaktoren, subklinischen Auffälligkeiten und manifesten Erkrankungen im Nordosten Deutschlands sowie die Vergleichsanalyse zu anderen deutschen Bevölkerungsstudien, um regionale Differenzen in der Morbidität und Mortalität zu ermitteln.

Für die Kohorte SHIP-TREND wurden 8016 Erwachsene zur klinischen Untersuchung eingeladen. Die Basisuntersuchung, zu der die standardisierte Fo-

todokumentation des Augenhintergrundes mit statischer Gefäßanalyse und eine Erhebung subjektiver Angaben zum Sehvermögen gehörte, konnte im Jahre 2013 bei 3918 Probanden erfolgreich abgeschlossen werden. Der besondere Wert der zu erwartenden Forschungsergebnisse besteht in der komplexen Betrachtung von ophthalmologischen Parametern und gesamtmedizinischen Befunden (wie den erhobenen Laborparametern, Ergebnissen aus Basisuntersuchung, Ganzkörper-MRT, Messung der endothelialen Dysfunktion, Polysomnographie usw.). Das Kohortendesign von SHIP-TREND mit im 5-Jahresturnus geplanten Follow-Ups bietet die Möglichkeit die prognostische Signifikanz querschnittlich ermittelter ophthalmologischer Referenzwerte bspw. zur statischen Gefäßanalyse analysieren zu können. Bisherige Daten aus Querschnittsstudien sind ausschließlich von diagnostischer und nicht von prognostischer Signifikanz.

Der besonders ausgeprägte Bevölkerungs-, Präventions- und Versorgungsbezug im Forschungsverbund Community Medicine der Greifswalder Universitätsmedizin bietet dem Arbeitsbereich Experimentelle Ophthalmologie und Telemedizin an der Augenklinik der Universität Greifswald beste Voraussetzungen auch für weitere Projekte der Versorgungsforschung. Wie wichtig der »diagnostische Blick in das Auge« nicht nur bei Störungen am Sehorgan wie dem Glaukom sondern bspw. auch für eine integrative Gefäßmedizin ist, sei nachfolgend exemplarisch belegt.

ZUR HINTERGRUNDPROBLEMATIK

Das Glaukom gilt als dritthäufigste Erblindungsursache in den modernen Industrienationen. Pathogenetisch sieht man das Glaukom in seinen verschiedenen Formen als chronische Erkrankung von Netzhaut und Sehnerv. Intraokulare Druckerhöhung, Optikusatrophie mit konsekutivem Gesichtsfeldausfall und Sehschärfeverlust bedürfen der Stufentherapie (Medikamente, Laser, Operation) und einer lebenslangen Betreuung.

UNTERSUCHUNGEN ZUR VERSORGUNG VON GLAUKOMPATIENTEN IM TELE-HOMEMONITORING

Auf die Manifestation eines Glaukoms, und vielmehr auf dessen Verlauf und Prognose, haben verschiedene Faktoren Einfluss. Neurodegenerative Prozesse gelten als eine Ursache. Wirksame Behandlungsansätze hierzu müssen erst noch in der Grundlagenforschung bearbeitet werden. Vom Augeninnendruck ist aus klinisch-experimentellen Studien mit statistischer Signifikanz bekannt, dass pathologische Werte zur Funktionsverschlechterung bis hin zur Erblindung führen [3]. Der intraokulare Druck ist ein dynamischer Funktionsparameter wie Blutdruck oder Blutzucker, welcher bislang nur mit Einzelwerten, seltener im Rahmen eines stationären Tagesprofils, erfasst wird. Aus dem Intraokulardruck und dem Blutdruck lässt sich bei simultaner Erfassung der okuläre Perfusionsdruck (OPD) näherungsweise ermitteln.

Unter diesen Rahmenbedingungen wurde ein Homemonitoringkonzept für Glaukompatienten entwickelt, um den konventionellen Behandlungsprozess zu unterstützen [4]. Während einer Implementierungsphase gelang es unter Einsatz moderner Medizingerätetechnik, Kommunikationsmedien und elektronischer Vernetzung, die bisherigen technischen Lösungen wesentlich zu optimieren. Dazu gehörten:

- vollautomatisierte Messung von Augeninnendruck, Blutdruck und Übermittlung ohne manuelle Brücke zum Kontrollzentrum inklusive näherungsweise OPD-Bestimmung
- automatisierte Rechts/Links-Erkennung
- vollautomatische Messvorgangskontrolle
- Übermittlung von Messfehlern an das Kontrollzentrum
- automatisierte Erfassung des OPD
- barrierefreie Elektronische Patientenakte (EPA) mit Televisite
- interaktives Gerätehandbuch mit multimedialer Patienteninformation

Während des Glaukom-Telemonitorings konnte eine intensiviertere Kontrolle von IOD und OPD erfolgen. Das belegen Vergleichszahlen aus einer Stichprobe von 25 besonders gut dokumentierten Krankheitsverläufen aus der Regelversorgung [5]. Diese Patienten mit primärem Offenwinkelglaukom besaßen einen Glaukompass mit Zeitangaben. Über den Zeitraum von 0,5 bis 10 Jahren waren in den Glaukompassen im Durchschnitt 5

IOD-Messungen pro Jahr hinterlegt. In 6 Monaten Teletonometriemonitoring wurde mit insgesamt 1490 Messwerten ein Mehrfaches an Messungen durchgeführt (zum Vergleich entspräche das einem Durchschnitt von 119 Augeninnendruckwerten pro Jahr). Beim Telemonitoring werden therapierelevante Schwankungen beobachtet, die sonst längere Zeit unentdeckt geblieben wären [6–9]. Um das Glaukom-Telemonitoring integrativ und unterstützend außerhalb von Projekten in Ergänzung zur ambulanten und stationären Regelversorgung einsetzen zu können, ist die Erfassung gesundheitsökonomischer Parameter unerlässlich. Aus der Perspektive der Leistungserbringer haben wir in Kooperation mit dem Greifswalder Lehrstuhl *Betriebswirtschaftslehre/Gesundheitsmanagement* eine Datenerfassung vorgenommen [10]. Es wurden die Personal-, Sach- und Gesamtkosten für das telematische Glaukom-Monitoring und für das stationäre Augeninnendrucktagesprofil ermittelt. Unter Berücksichtigung sämtlicher Kosten belegt die Erhebung, dass das telematische Glaukom-Monitoring kosteneffizienter als das gegenwärtige Versorgungskonzept ist. Mit vielfältigen Aufgabenstellungen aus der Versorgungsforschung wurden im Verbundprojekt Teletonometrie M–V die notwendigen Voraussetzungen für gute Telemedizin – wie sie von der Bundesärztekammer unter Einbeziehung der Greifswalder Erfahrungen formuliert worden sind – bearbeitet. Aufgrund der positiven Resultate konnte das Vorhaben in einen Vertrag zur integrierten Versorgung von Glaukompatienten mit der Techniker Krankenkasse überführt werden, an dem deutschlandweit Glaukompatienten teilnehmen. Die gewonnenen medizinischen Erkenntnisse haben Eingang in die Patentierung [11] eines innovativen Tonometerprinzips (**Abb. 1**), gemeinsam mit einer Arbeitsgruppe von Prof. Haeuelsen der Technischen Universität Ilmenau sowie der EPSa GmbH Jena-Saalfeld gefunden und zur Entwicklung eines Labormusters für ein anwenderfreundliches Gerätesystem geführt (**Abb. 2**) [12]. Am Ende könnte zukünftig ein neues Medizinprodukt stehen, das den Anforderungen der Versorgungsforschung wesentlich besser entspräche

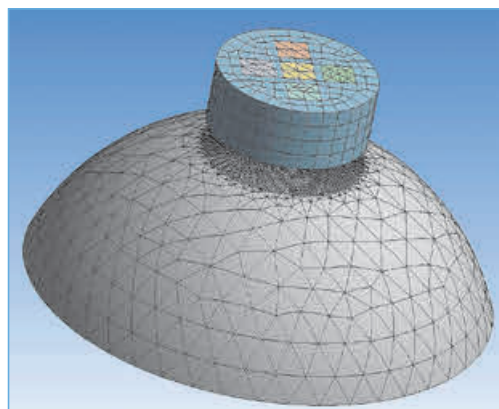


Abbildung 1

■ Computersimulation der applanatorischen Messung des Augeninnendrucks am Institut für Biomedizinische Technik und Informatik (BMTI) der TU Ilmenau.

Abbildung 2

■ *Evaluierung eines Labormusters für ein anwenderfreundliches Gerätesystem am zukünftigen Nutzer in der Augenklinik der Universitätsmedizin Greifswald.*



als bisherige Gerätemodelle. Abschließend lässt sich feststellen:

- Vergleichbar mit anderen Fachdisziplinen der Medizin kommt auch in der Augenheilkunde der optimierten Umsetzung von Grundlagenkenntnissen in der Klinik hohe Bedeutung zu.
- Nur durch eine Beteiligung der Augenheilkunde an der interdisziplinären Organisation und Datensammlung gesamtmedizinischer und ophthalmologischer Parameter wie in SHIP-TREND sind komplexe medizinische Zusammenhänge zwischen allgemeinen Gesundheitszustand und Augengesundheit weitergehend als bisher analysierbar.
- Ophthalmologische Projekte der Versorgungsforschung wie das Tele-Homemonitoring von Glaukopatienten setzen nicht nur die Verknüpfung von Aufgaben in Forschung, Lehre und Krankenversorgung eines universitären Arbeitsbereiches voraus. Vielmehr erfordern sie zusätzlich eine Kooperation verschiedener Fachgebiete sowie die Zusammenarbeit in Netzwerken, um Eingang in die Regelversorgung finden zu können.

mern. *Klin Monatsbl Augenheilkd* 2009; 6 (226): 459–465.

5. Jürgens, C.; Antal, S.; Henrici, K.; Großjohann, R.; Tost, F. Fluktuationen des intraokularen Augendrucks – ein intraindividuell Vergleich zwischen 24-Stunden-Teletonometrie-Monitoring und ambulanter Augendruckmessung. *Klin Monatsbl Augenheilkd* 2009; 226: 459–465.
6. Jürgens C.*, Großjohann R., Tost F. Distribution of Mean, Systolic and Diastolic Ocular Perfusion Pressure in Telemedical Homemonitoring of Glaucoma Patients. *OPHTHALMIC RESEARCH*. 2012; 48: 208–211.
7. Jürgens C.*, Großjohann R., Tost F. Relationship of systemic blood pressure with ocular perfusion pressure and intraocular pressure of glaucoma patient in telmedical home monitoring. *MEDICAL SCIENCE MONITOR*. 2012; 18 (11): MT85-MT89.
8. Antal, S.; Jürgens, C.; Großjohann, R.; Tost, F. Tageschwankungen des okulären Perfusionsdrucks im Telemonitoring bei primärem Offenwinkelglaukom. *Klin Monatsbl Augenheilkd* 2008; 225: 168–175.
9. Jürgens C.*, Großjohann R., Meiering J., Meinke C., Antal S., Tost F. Homemonitoring in der Augenheilkunde – unter welchen Voraussetzungen für mehr Lebensqualität: Schlussfolgerungen aus der Versorgungsforschungsstudie Teletonometrie Mecklenburg-Vorpommern. *Klin Monatsbl Augenheilkd* 2009; 6 (226): 459–465.
10. Swierk T., Jürgens C., Großjohann R., Fleßa S., Tost F. Gesundheitsökonomische Aspekte des telematischen Glaukom-Monitorings. *Der Ophthalmologe* 2011; 108: 342–350.
11. Dietzel A., Gleis H., Hauelsen J., Heydenreich D., Müller J., Saleh K., Unger V., Großjohann R., Jürgens C., Tost F. Vorrichtung und Verfahren zur automatisierten Bestimmung des Intraokulardruckes. Pub-Nr. Patentschrift 102011015178 v. 03. Mai 2012.
12. Saleh K., Unger V., Dietzel A., Heydenreich D., Großjohann R., Jürgens C., Tost F., Hauelsen J. Evaluation of a novel method to measure the intraocular pressure based on a mechanical eye model. *Biomed Tech* 2012; 57 (Suppl. 1).

DANKSAGUNG

Wir danken unseren Kooperationspartnern Herrn Prof. J. Hauelsen TU Ilmenau und den Herren Dr. D. Simon, D. Heydenreich EPSa GmbH Jena Saalfeld für die erfolgreiche Zusammenarbeit.

Für die Unterstützung der SHIP-TREND Studie gilt unser Dank Herrn Dr.-Ing. habil. W. Vilser, Imedos Jena.

LITERATUR

1. Völzke H. Study of Health in Pomerania (SHIP) Konzept, Kohortendesign und ausgewählte Ergebnisse. *Bundesgesundheitsbl.* 2012; 55: 790–794.
2. Völzke H.*, Alte D., Schmidt C. O., Jürgens C., Tost F. et al. Cohort profile: the study of health in Pomerania. *INTERNATIONAL JOURNAL OF EPIDEMIOLOGY*. 2011; 40 (2): 294–307.
3. Heijl A., Leske M. C., Bengtsson B. et al. Reduction of intraocular pressure and glaucoma progression: results from the Early Manifest Glaucoma Trial. *Archives of Ophthalmology* 2002; 120 (10): 1268–1279.
4. Jürgens C.*, Großjohann R., Meiering J., Meinke C., Antal S., Tost F. Homemonitoring in der Augenheilkunde – unter welchen Voraussetzungen für mehr Lebensqualität: Schlussfolgerungen aus der Versorgungsforschungsstudie Teletonometrie Mecklenburg-Vorpom-

Prof. Dr. med. habil. Frank Tost, Jahrgang 1960, ist leitender Oberarzt der Klinik und Poliklinik für Augenheilkunde der Universitätsmedizin Greifswald (Direktor: Prof. Dr. med. Stefan Clemens). Nach der Schulausbildung am Thomas-Müntzer-Gymnasium in Halle/Wittenberg und anschließendem Militärdienst studierte er an der Martin-Luther-Universität Halle/Saale. Diplom 1984, Promotion 1988. Die Weiterbildung zum FA für Augenheilkunde erfolgte an der Augenklinik der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg. Hier wurde er auch habilitiert und erhielt die *venia legendi* für das Fach Augenheilkunde. 1998 erfolgte die Berufung zum Universitätsprofessor für Augenheilkunde an der Ernst-Moritz-Arndt-Universität Greifswald. Seine klinischen Schwerpunkte liegen in der okuloplastisch-rekonstruktiven und ästhetischen Chirurgie, Behandlung von Augenoberflächenerkrankungen sowie der Glaukom- und Vorderabschnittschirurgie. Der Arbeitsbereich »Experimentelle Ophthalmologie und Telemedizin« wurde von ihm initiiert und seitdem betreut. 2004 wurde unter seiner Leitung im Ergebnis eines BMBF-Projektes der Versorgungsforschung die Teleaugendienst GmbH als »spin off« der Universitäts-Augenklinik Greifswald gegründet.

FÖRDERUNGEN UND AUSZEICHNUNGEN

Bereits als Nachwuchswissenschaftler fanden seine Arbeiten Anerkennung. 1989 Preis des Ministers für Hoch- und Fachschulwesen der DDR, Auszeichnung 1989 mit Hermann-Wacker-Preis der DOG, dessen Annahme wegen Ausreiseverbot aus der DDR zunächst verhindert wurde. Später wurden die Projekte seiner Arbeitsgruppe unterstützt von der Deutschen Forschungsgemeinschaft, der Bosch-Stiftung, dem BMBF, den IT-Future-Fond Mecklenburg-Vorpommern. Er leitete verschiedene Verbundprojekte, wie das Inno-Regio Disco Verbundprojekt Teletonometrie und ein Web-basiertes telemetrisches System zur Gefäßanalyse der Mikrostrombahn. Mehrere Industriemittel unterstützte Drittmittelprojekte wurden unter seiner Leitung erfolgreich abgeschlossen. Die Ergebnisse seiner wissenschaftlichen Arbeiten bzw. seiner Arbeitsgruppe wurden mehrfach mit Auszeichnungen, insbesondere auch auf interdisziplinärem Gebiet prämiert. Hier zu nennen sind 2005 der »Venture Sail« – Award, 2006 Richard-Merten-Preis, 2009 Medical Prize der European Association for Computer Graphics, TELEMED-Award 2010 und der Hartwig-Mathies-Preis 2012. Prof. Tost ist als Gutachter für zahlreiche internationale wissenschaftliche Fachzeitschriften tätig.



Prof. Dr. Frank Tost

Klinik und Poliklinik für Augenheilkunde
Arbeitsbereich Experimentelle
Ophthalmologie und Telemedizin
Universitätsmedizin Greifswald der
Ernst-Moritz-Arndt-Universität Greifswald,
KdöR
Ferdinand-Sauerbruch-Straße
17475 Greifswald

Telefon: 03834 86-5923

Telefax: 03834 86-5950

E-Mail: Tost@uni-greifswald.de

www.teleaugendienst.de

KONTAKT



Systembiologie als Ansatz zur Erforschung und Therapie von Ciliopathien

PROF. DR. RER. NAT. MARIUS UEFFING¹, YVES TEXIER¹,
DR. RER. NAT. ANDREAS VOGT¹, SYLVIA BOLZ¹, NICOLA HORN¹,
YASMIN WISSINGER¹, DR. RER. NAT. MATTHIAS GERBERDING¹,
PROF. DR. MED. KARL ULRICH BARTZ-SCHMIDT^{1,2},
DR. RER. NAT. KARSTEN BOLDT¹

**1 Forschungsinstitut
für Augenheilkunde**

**2 Universitäts-
Augenklinik,**
Department für
Augenheilkunde,
Universitätsklinikum
Tübingen

CILIOPATHIEN ALS URSACHE FÜR NETZHAUTERKRANKUNGEN

Die Aufklärung der Pathomechanismen von Ciliopathien der Netzhaut ist ein Schwerpunkt unserer Forschung. Ciliopathien sind ein junges Forschungsgebiet, das für die Ophthalmologie mehr und mehr Bedeutung gewinnt. Cilien als Organelle der Zelle sind bekannt, seit es Mikroskope gibt. Dabei gibt es bewegliche Cilien wie die des Spermiums, der Nasenschleimhaut und des Lungenepithels und unbewegliche Cilien wie die des Photorezeptors. Ein Zusammenhang zwischen defekten Cilien und einer syndromalen Erkrankung wurde erstmals für das Karthagener-Syndrom hergestellt, bei dem bewegliche Cilien fehlen [1]. Später wurden auch Funktionen der unbeweglichen Cilien erkannt, allem voran beim gerichteten zellulärem Transport und der Steuerung zellulärer Signalwege [2]. In der Folge wurde der Begriff Ciliopathie geprägt. Er steht für syndromale und nicht-syndromale Erkrankungen, deren Ursachen in Defekten der Cilien liegen [3, 4]. Inzwischen ist klar, dass mehrere Formen erblicher Netzhautdegenerationen Ciliopathien sind, die ihre Ursache in Defekten der Cilien in den Photorezeptoren haben. Dabei kann es sich um syndromale Erkrankungen handeln wie beim Bardet-Biedl-Syndrom oder Joubert-Syndrom und um nicht-syndromale Erkrankungen wie die Lebersche Kongenitale Amaurose oder Formen von Retinitis Pigmentosa.

WAS LEISTEN CILIEN UND WARUM IST IHRE LEISTUNG WICHTIG FÜR PHOTOREZEPTOREN?

Neben Funktionen in der Signalübertragung und Signalverarbeitung leisten Cilien dort, wo sie im Organismus vorkommen, den sogenannten intraflagellären Transport (IFT). Dieser Transportmechanismus wurde zuerst im Flagellum einzel-

liger Organismen beobachtet und wird unter ATP Verbrauch angetrieben von einem molekularen Motor aus Proteinen. Der IFT läuft wie auch andere zelluläre Transportprozesse über molekulare Transportbänder (Tubulin), auf denen Richtung und Geschwindigkeit vorgegeben sind.

Im Photorezeptor verbindet ein sogenanntes connecting cilium inneres und äußeres Segment. Der IFT durch das connecting cilium ist zentral für die Funktion des Photorezeptors, weil über ihn die Proteine, die für das Sehen gebraucht werden, in das lichtempfindliche äußere Segment gebracht werden. Schätzungen beziffern die Transportleistung der intraflagellären Transport-Maschinerie auf 2000 Opsin-Moleküle pro Minute, um den Verlust an Rhodopsin auszugleichen [5].

DIE SYSTEMBIOLOGISCHE AUFKLÄRUNG CILIÄRER FUNKTIONEN UND PATHOMECHANISMEN

Systembiologie ist der Ansatz, über eine Verknüpfung und Iteration von Hypothesenbildung, experimenteller Arbeit und mathematische Modellbildung Grundprinzipien biologischer Funktionen zu verstehen. In der systemmedizinischen Anwendung systembiologischer Herangehensweisen wird der Versuch gemacht, durch eine Kombination aus datengetriebenen analytischen Ansätzen (z. B. aus der Epidemiologie, Klinischen Chemie oder Humangenetik) mit experimentellen und modellgetriebenen Ansätzen (Systembiologie) Krankheitsursachen auf systemischer Ebene zu verstehen aber auch die Entwicklung von Diagnostik und Therapie rationaler zu entwickeln. Im EU-Projekt SYSCILIA (www.syscilia.org), an dem das Tübinger Department für Augenheilkunde als Partner und Ko-Koordinator partizipiert, steht die systemische Analyse der Pathomechanismen ciliärer Erkrankungen im Fokus mit dem Ziel, über ein molekulares Verständnis der Ursachen und

Pathomechanismen die Grundlagen für Diagnostik und rationale Therapieentwicklung zu verbessern. Die EU fördert SYSCILIA im 7. Rahmenprogramm von 2010 bis 2015.

In SYSCILIA arbeiten Partner an 16 Universitäten in 5 europäischen Ländern und den USA interdisziplinär zusammen. Neu am Vorgehen in SYSCILIA ist, dass klinische und experimentelle Daten hier nicht nur kompiliert und interpretiert werden, sondern dass aus den Daten mit Hilfe computerbasierter Modellierungen und avancierter Datenintegrationstools räumliche, zeitliche und letztlich logische Modelle ciliärer Funktionen und ihrer krankheitsassoziierten Störungen erstellt werden. Dabei werden verschiedene Datenqualitäten genutzt: klinische und klinisch-chemische Daten genauso wie die DNA Sequenzierung von Patienten-Kohorten, Protein-Protein-Interaktionen ciliärer Proteine, in vitro und in vivo Assays mit Knock-downs ciliärer Gene und funktionelle Assays in Zell- und Tiermodellen. Mehr als 20 High Impact Publikationen (www.syscilia.org/results.shtml) seit Start des Projekts zeugen von der Produktivität und Machbarkeit dieses Ansatzes (z. B. [6, 7, 8]).

LEBERSCHE KONGENITALE AMAUROSE ALS CILIOPATHIE UND IHRE MOLEKULAREN URSACHEN

Lebersche Kongenitale Amaurose, LCA, ist eine der schwersten, aber glücklicherweise seltenen erblichen Netzhauterkrankungen. Mutationen in mindestens 15 verschiedenen Genen sind für das Erblinden im Kindesalter verantwortlich. Die betroffenen Gene kodieren Proteine, die vielfältige und sehr spezielle Funktionen in der Netzhaut übernehmen. Da die klinische Ausprägung dieser Gendefekte jedoch sehr ähnlich ist, geht man davon aus, dass verschiedene, sich überschneidende, krankhafte Veränderungen in der Sehzelle zu einer Funktionsstörung der gesamten Zelle führen.

Wir konnten in einem ersten Schritt das bei LCA von Mutationen betroffene Gen identifizieren. Das in Zusammenarbeit und unter Federführung von Ronald Ropeman, Nijmegen, gefundene Gen trägt die Bezeichnung LCA5 und kodiert für das neu entdeckte Protein Lebercilin [9]. Das Protein Lebercilin lässt sich hauptsächlich im Bereich des Cilioms nachweisen. Wir konnten in einem zweiten Schritt die Interaktion von Lebercilin mit den Transportprozessen im IFT und seine Rolle bei der Entstehung der LCA aufklären [10]. Dies war möglich durch eine Kombination quantitativer Bindungsstudien des Proteoms und der Analyse transgener, homozygoter LCA-5 knock-out Mauslinien. Über quantitative proteomische Analysen konnten die Bindungspartner von normalem

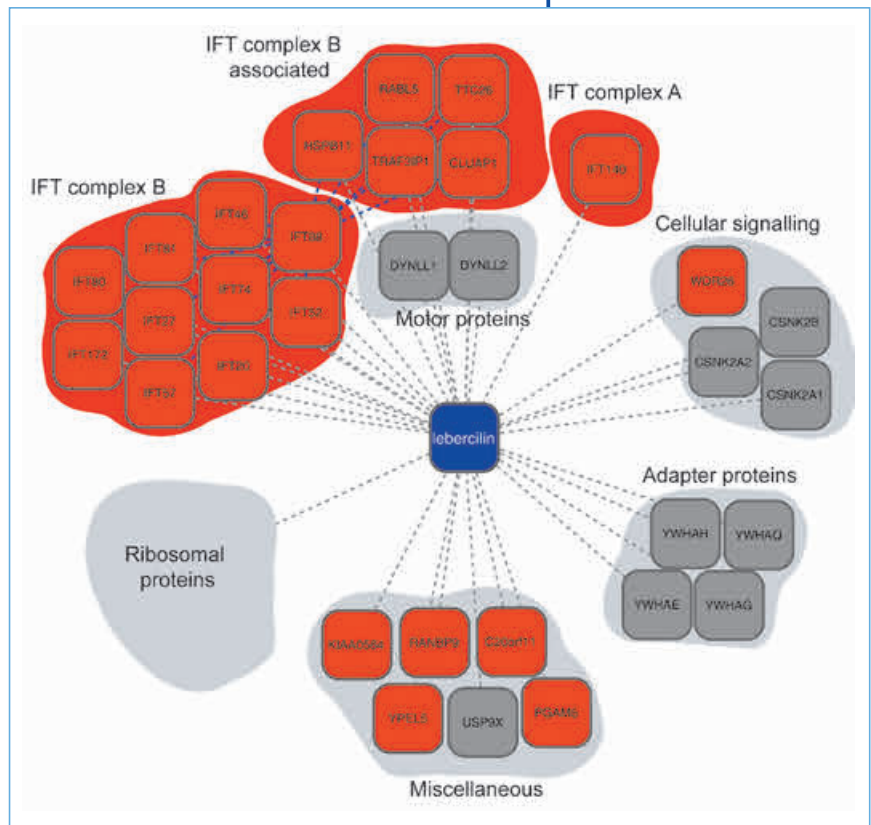


Abbildung 1

■ Massenspektroskopische Analyse der Bindungspartner für normales und defektes Protein Lebercilin (Blau, Mitte) Normales Lebercilin bindet an die Protein-Komplexe des intraflagellären Transports IFT sowie an Komplexe des signalings und Ribosomes (Grau + Rot). Die zwei Mutationen im LCA5 Gen für Lebercilin, die Lebersche Kongenitale Amaurose verursachen, verändern Lebercilin so, dass es nicht mehr an die Protein-Komplexe des IFTs bindet (Rot).

Lebercilin identifiziert und die Störungen im Bindungsmuster bei mutiertem Lebercilin ausgemacht werden. Normales Lebercilin bindet an zwei verschiedene Teilkomplexe des IFT (Protein-Komplexe in Grau und Rot in **Abbildung 1**). Die Bindungsfähigkeit des defekten Lebercilins an diese beiden Komplexe geht durch die Mutation verloren (Protein-Komplexe in Rot in **Abbildung 1**). Als Konsequenz der herabgesetzten Bindungsfähigkeit des defekten Lebercilins an die IFT-Maschinerie wird das ciliäre Transportsystem nicht beladen und der Transport von Sehpigment und anderer essentieller Proteine, die für Ausbildung und Funktionsfähigkeit des äußeren Segments notwendig sind, unterbleibt. Schließlich degeneriert das äußere Segment des Photorezeptors und die Sehfähigkeit geht damit verloren. Mit der differentiellen Analyse von Lebercilin aus LCA5-Patienten konnte gezeigt werden, dass es sich bei den Mutationen dieser rezessiv mendelisch vererbten Erkrankung um einen Pathomechanismus handelt, der mit einem Funktionsverlust des Proteins Lebercilins einhergeht. Damit konnten wir vorschlagen, dass rekonstitutive Gentherapie mit hoher Wahrscheinlichkeit zum Erfolg führen wird. Ein internationales Team aus Wissenschaftlern und Klinikern, die an den 2011 zu LCA5 publizierten Arbeiten mitbeteiligt war, hat bereits begonnen, klinisch einsetzbare Gentherapie für LCA2 zu entwickeln [11].

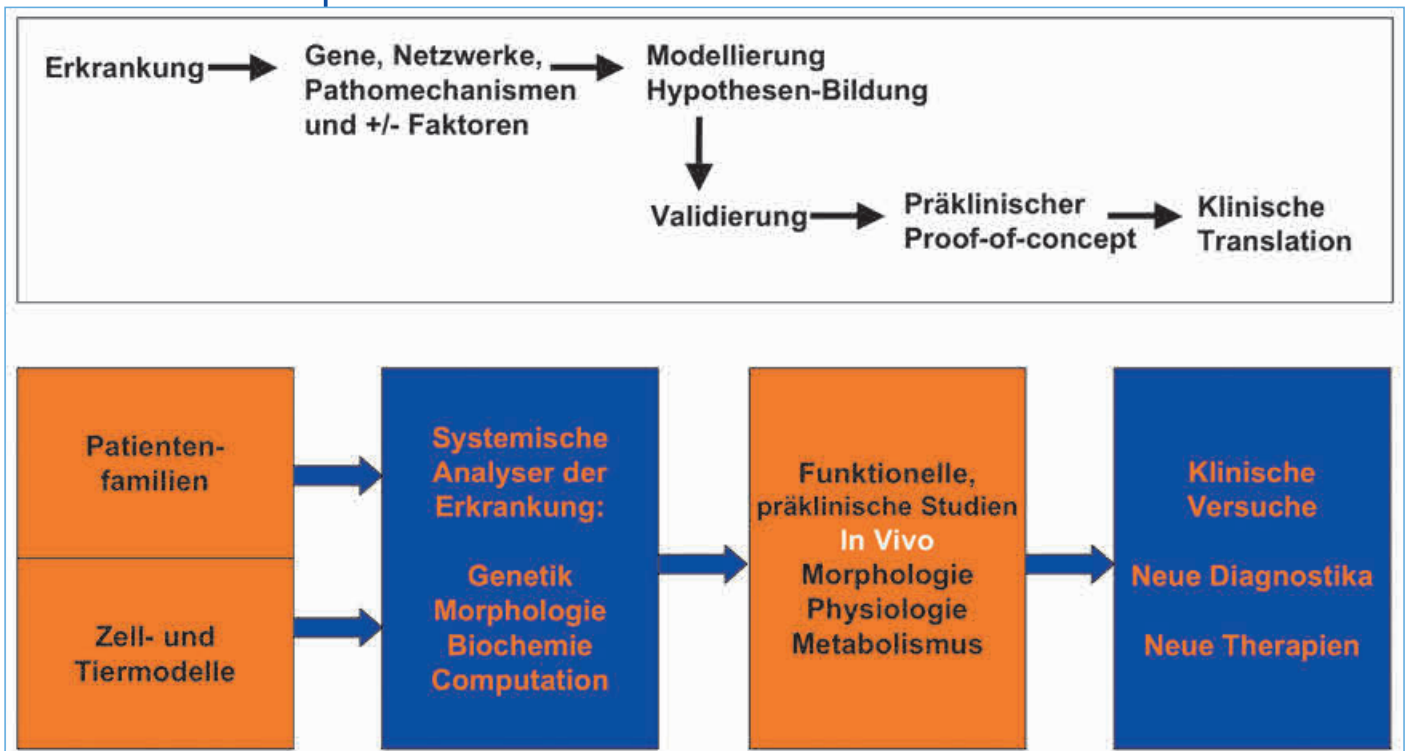


Abbildung 2

■ **Wertschöpfungskette in einem systembiologischen Forschungsverbund:** Das FP7 Projekt SYSCILIA bearbeitet die folgenden Schritte: – Untersuchung der Gene, Netzwerke, Pathomechanismen und Risiko-Faktoren, – Modellierung, – Hypothesen-Bildung, – Validierung (iterative). Nachfolgende präklinische und klinische Studien werden in eigenen Modulen oder Projekten bearbeitet.

DIE AKTEURE VON PROJEKTEN DER SYSTEMBIOLOGIE VERTEILEN SICH AUF MEHRERE DISZIPLINEN UND LABORE

Bevor wir uns im Folgenden möglichen Therapieoptionen für Ciliopathien zuwenden, möchten wir noch einen Aspekt hervorheben, der den von uns gewählten systembiologischen Ansatz grundsätzlich von der klassisch reduktionistischen Erforschung von Pathomechanismen unterscheidet. Die Aufklärung von Krankheitsmechanismen, die in der Augenheilkunde mithilfe der Systembiologie erzielt wird, beruht auf einer Zusammenarbeit unterschiedlicher Disziplinen und Standorte und erfordert ein hohes Maß an Kooperation und Koordination. Datenerhebung und deren in silico Verarbeitung für die Modellbildung aber auch die Modellvalidierung werden mangels Verfügbarkeit passgenauer Lösungen zwischen Laboren in intensivem Diskurs auf die zu lösende Aufgabe zugeschnitten. Auch Wertschöpfungsketten, die die erarbeiteten Ergebnisse einem medizinisch klinischen Nutzen zuführen sollen und in **Abbildung 2** verdeutlicht werden, müssen entwickelt werden.

SYSTEMBIOLOGIE ALS BASIS EINER RATIONALEN THERAPIENTWICKLUNG FÜR CILIOPATHIEN

Die Erforschung der durch Mutationen verursachten zellulären Defekte ist eine Voraussetzung dafür, rationale Therapieansätze für zurzeit unheil-

bare Ciliopathien zu entwickeln. Eine bereits durch mehrere proof-of-principles belegte Möglichkeit zur Therapie von Ciliopathien ist Gentherapie. Bei Gentherapien werden korrigierte DNA-Abschnitte über Viren in Zellen geschleust. So gelang es kürzlich bei Mäusen, die durch einen Gendefekt, der die Funktionalität des IFT einschränkt, den Geruchssinn verloren haben, durch Einschleusen von DNA für das Gen IFT88 die IFT Funktion und damit den Geruchssinn wiederherzustellen [12].

In Tübingen schaffen wir zurzeit in einem mehrere Zentren umfassenden Verbund, RD-Cure, die Voraussetzungen dafür, Gentherapie für Netzhauterkrankungen als klinische Therapieoption einzuführen.

LITERATUR

1. Afzelius B.A. A human syndrome caused by immotile cilia. *Science* 1976; 193: 317–319.
2. Taulman P.D., Haycraft C.J., Balkovetz D.F., Yoder B.K.: Polarix, a protein involved in left-right axis patterning, localizes to basal bodies and cilia. *Mol Biol Cell* 2001; 12: 589–599.
3. Ansley S.J., Badano J.L., Blacque O.E., Hill J., Hoskins B.E., Leitch C.C., Kim J.C., Ross A.J., Eichers E.R., Teslovich T.M., Mah A.K., Johnsen R.C., Cavender J.C., Lewis R.A., Leroux M.R., Beales P.L., Katsanis N. Basal body dysfunction is a likely cause of pleiotropic Bardet-Biedl syndrome. *Nature* 2003; 425: 628–633.
4. Kim J.C., Badano J.L., Sibold S., Esmail M.A., Hill J., Hoskins B.E., Leitch C.C., Venner K., Ansley S.J., Ross

- A. J., Leroux M.R., Katsanis N., Beales P.L. The Bardet-Biedl protein BBS4 targets cargo to the pericentriolar region and is required for microtubule anchoring and cell cycle progression. *Nat Genet* 2004; 36: 462–470.
5. Sahel J.A. Spotlight on childhood blindness. *J Clin Invest* 2011; 121: 2145–2149.
 6. Hoff S., Halbritter J., Epting D., Frank V., Nguyen T.M., van Reeuwijk J., Boehlke C., Schell C., Yasunaga T., Helmstädter M., Mergen M., Filhol E., Boldt K., Horn N., Ueffing M., Otto E.A., Eisenberger T., Elting M.W., van Wijk J.A., Bockenhauer D., Sebire N.J., Rittig S., Vyberg M., Ring T., Pohl M., Pape L., Neuhaus T.J., Elshakhs N.A., Koon S.J., Harris P.C., Grahammer F., Huber T.B., Kuehn E.W., Kramer-Zucker A., Bolz H.J., Roepman R., Saunier S., Walz G., Hildebrandt F., Bergmann C., Lienkamp S.S. ANKS6 is a central component of a nephropathogenesis module linking NEK8 to INVS and NPHP3. *Nat Genet* 2013; Jun 23. doi: 10.1038/ng.2681. [Epub ahead of print].
 7. Texier Y., Kinkl N., Boldt K., Ueffing M. From quantitative protein complex analysis to disease mechanism. *Vision Res* 2012; 75: 108–111.
 8. Vogt A., Fuerholzner B., Kinkl N., Boldt K., Ueffing M. Isotope coded protein labeling coupled immunoprecipitation (ICPL-IP): a novel approach for quantitative protein complex analysis from native tissue. *Mol Cell Proteomics* 2013 12: 1395–1406.
 9. den Hollander A.I., Koenekoop R.K., Mohamed M.D., Arts H.H., Boldt K., Towns K.V., Sedmak T., Beer M., Nagel-Wolfrum K., McKibbin M., Dharmaraj S., Lopez I., Ivings L., Williams G.A., Springell K., Woods C.G., Jafri H., Rashid Y., Strom T.M., van der Zwaag B., Gosens I., Kersten F.F., van Wijk E., Veltman J.A., Zonneveld M.N., van Beersum S.E., Maumenee I.H., Wolfrum U., Cheetham M.E., Ueffing M., Cremers F.P., Inglehearn C.F., Roepman R. Mutations in LCA5, encoding the ciliary protein lebercilin, cause Leber congenital amaurosis. *Nat Genet* 2007; 39: 889–895.
 10. Boldt K., Mans D.A., Won J., van Reeuwijk J., Vogt A., Kinkl N., Letteboer S.J., Hicks W.L., Hurd R.E., Naggert J.K., Texier Y., den Hollander A.I., Koenekoop R.K., Bennett J., Cremers F.P., Gloeckner C.J., Nishina P.M., Roepman R., Ueffing M. Disruption of intraflagellar protein transport in photoreceptor cilia causes Leber congenital amaurosis in humans and mice. *J Clin Invest* 2011; 121: 2169–2180.
 11. Ashtari M., Cyckowski L.L., Monroe J.F., Marshall K.A., Chung D.C., Auricchio A., Simonelli F., Leroy B.P., Maguire A.M., Shindler K.S., Bennett J. The human visual cortex responds to gene therapy-mediated recovery of retinal function. *J Clin Invest* 2011; 121: 2160–2168.
 12. McIntyre J.C., Davis E.E., Joiner A., Williams C.L., Tsai I.C., Jenkins P.M., McEwen D.P., Zhang L., Escobado J., Thomas S., Szymanska K., Johnson C.A., Beales P.L., Green E.D., Mullikin J.C.; NISC Comparative Sequencing Program, Sabo A., Muzny D.M., Gibbs R.A., Attié-Bitach T., Yoder B.K., Reed R.R., Katsanis N., Martens J.R. Gene therapy rescues cilia defects and restores olfactory function in a mammalian ciliopathy model. *Nat Med* 2012; 18: 1423–1428.

Prof. Dr. Marius Ueffing, Jahrgang 1960, ist Universitätsprofessor und Direktor des Forschungsinstituts für Augenheilkunde in Tübingen. Er ist ebenfalls Leiter der Research Unit of Protein Science an der GSF, Helmholtz-Zentrum München. Seine Forschung kombiniert die zelluläre und molekulare Physiologie mit Proteom-Analytik, um den Effekt von humanen Mutationen auf der Systemebene zu verstehen. Schwerpunkt des Labores ist die Neurodegeneration von Retina und Mittelhirn mit Ausrichtung auf die molekularen Mechanismen der Erkrankungen und auf die Entwicklung von Therapien. Das Labor ist Teil mehrerer Forschungsverbände auf nationaler und europäischer Ebene, die Protein-Interaktionen erforschen. Hierzu gehören die EU FP7-Projekte »Affinomics«, »Sycilia« und »Primes.

Dr. Ueffing hat in Freiburg Medizin und Biologie studiert und wurde an der Columbia University, New York, in Humangenetik und Biochemie promoviert. 1991–1993 arbeitete er in der Pharmaindustrie bei Gödecke – Park Da-

vis. 1993 begann er als Junior Group Leader bei der GSF in München und wurde dort später Group Leader und seit 2008 Leiter der Research Unit of Protein Science. 2010 trat er die Professur für Molekularbiologie degenerativer Netzhauterkrankungen am Forschungsinstitut für Augenheilkunde des Universitätsklinikums Tübingen an. 2011 wurde er Direktor der Forschungsinstitutes für Augenheilkunde. (see home page <http://www.eye-tuebingen.de>)

Prof. Dr. Marius Ueffing

Direktor
Forschungsinstitut für Augenheilkunde
Department für Augenheilkunde
Universität Tübingen
Roentgenweg 11
72076 Tübingen,
Telefon: 07071 2984020
Telefax: 07071 294560
E-Mail: marius.ueffing@uni-tuebingen.de



KONTAKT



Rolle der glialen Wasser- und Kaliumkanäle bei der Bildung des Netzhautödems

DR. MED. YANORS YANDIEV UND
PROF. DR. RER. NAT. HABIL. ANDREAS BRINGMANN

Klinik und Poliklinik
für Augenheilkunde,
Universitätsklinikum
Leipzig

Das Vorliegen eines Makulaödems ist eine wichtige Ursache für eine Verschlechterung des Sehvermögens bei verschiedenen ischämischen und inflammatorischen Netzhauterkrankungen. Die Mechanismen der Entstehung eines Netzhautödems sind bis heute nicht vollständig geklärt. Neben der Erhöhung der Gefäßpermeabilität könnte eine Störung des transzellulären Flüssigkeitstransportes zur Ausbildung eines Netzhautödems beitragen. Das Wissen um die zentrale Bedeutung der Erhöhung der Gefäßpermeabilität für die Ausbildung des Makulaödems hat zur Entwicklung der Anti-VEGF-Therapie geführt. Allerdings zeigt sich eine große Variabilität im Erfolg der Behandlung [Lux et al., 2007; Manoj et al., 2012]. Dies könnte darauf hinweisen, dass weitere Mechanismen der Ödementstehung bei der Ausbildung des Makulaödems eine Rolle spielen.

Ischämische und inflammatorische Erkrankungen des Gehirns sind durch die Ausbildung eines Hirnödems gekennzeichnet. Hier spielt die intrazelluläre Akkumulation von Wasser, die zu einer zytotoxischen Schwellung der Gliazellen führt, eine zentrale Rolle [Kimmelberg, 1995]. Die Rolle der Ausbildung eines zytotoxischen Ödems in der Netzhaut wurde bis jetzt kaum untersucht. Frühe histopathologische Untersuchungen legten nahe, dass eine Schwellung und Degeneration von

Müllerschen Gliazellen pathogene Faktoren des zystoiden Makulaödems darstellen könnten [Fine und Brucker, 1981]. Im Tiermodell der diabetischen Retinopathie wurde neben einer extrazellulären Akkumulation von Wasser eine intrazelluläre Wasseransammlung in Müllerzellen gefunden [Kumar et al., 2013]. Ob eine Dysregulation der Müllerzell-vermittelten Flüssigkeitshomöostase zur Ausbildung eines Netzhautödems beiträgt, ist aber bis jetzt unklar.

Müllerzellen spielen eine zentrale Rolle in der Wasser- und Ionenhomöostase der inneren Netzhaut. Indem sie transzelluläre Wasser- und Ionenströme vermitteln, gleichen sie Veränderungen im extrazellulären Wassergehalt und in der Kaliumkonzentration aus, die durch die neuronale Aktivität verursacht werden [Bringmann et al., 2006]. Um die Rolle der Müllerzellen bei der retinalen Ödembildung aufzuklären, haben wir in den letzten Jahren die Wasser- und Ionentransportmechanismen im normalen und pathologisch veränderten Netzhautgewebe untersucht.

In Untersuchungen an Netzhautgewebe von Patienten mit verschiedenen Augenerkrankungen (z.B. proliferative Vitreoretinopathie, Glaukom, Melanom) und in Tiermodellen verschiedener Retinopathien (Netzhautablösung, Ischämie, diabetische Retinopathie, Inflammation, Lichtschädigung) konnte gezeigt werden, dass Müllerzellen auf verschiedene Netzhautschädigungen mit einer reaktiven Gliose reagieren, die durch histologische und physiologische Veränderungen gekennzeichnet ist. Zu diesen Veränderungen gehören in vielen Fällen eine Reduktion der Expression des hauptsächlichen Kaliumkanals Kir4.1 (**Abb. 1A**) sowie eine Verkleinerung der Kaliumleitfähigkeit der Müllerzellmembran (**Abb. 1B**) [Bringmann et al., 1999; Uhlmann et al., 2003; Pannicke et al., 2004, 2005, 2006; landiev et al., 2006a, 2008; Wurm et al., 2006, 2011; Rehak et al., 2009; Grosche et al., 2012]. Die Herunterregulation von Kir4.1 sollte die retinale Kaliumhomöostase beeinträchtigen; die daraus resultierende Übererregung der Neurone trägt zur Glutamat-induzierten Neurodegeneration bei.

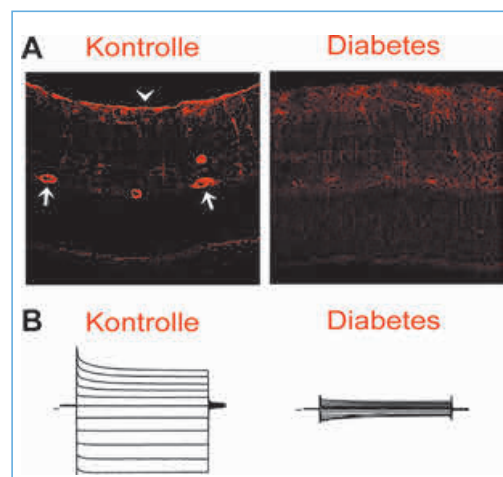


Abbildung 1

■ In Netzhäuten von diabetischen Ratten ist die Expression von Kir4.1 reduziert (**A**) und die Kaliumströme über die Müllerzellmembran sind verkleinert (**B**).

Aquaporine (AQP) sind membranständige Wasserkanäle, die den über Zellmembranen erleichtern. Aquaporine spielen eine Rolle bei der Entstehung und der Auflösung von Hirnödemen [Manley et al., 2004]. Die Expression und funktionelle Bedeutung der Aquaporine in der Netzhaut wurden bis jetzt kaum untersucht. Der aktivitätsabhängige Wassertransport über Müllerzellmembranen wird durch AQP₄ vermittelt [Nagelhus et al., 1999]. Unsere Gruppe konnte die Expression und Lokalisation weiterer Aquaporine in der Netzhaut nachweisen: AQP₀ in Bipolar-, Amakrin- und Ganglienzellen, AQP₁ in Photorezeptoren, AQP₆ in Müllerzellmembranen, die die Ribbonsynapsen in der äußeren plexiformen Schicht umgeben, und AQP₉ in katecholaminergen Amakrinzellen [landiev et al., 2005, 2006b, 2007, 2011]. Die Lokalisation der Aquaporine legt nahe, dass der durch sie vermittelte Wassertransport verschiedene physiologische Prozesse in der Netzhaut beeinflusst wie Phototransduktion, Energiestoffwechsel, synaptische Aktivität und Kaliumhomöostase.

AQP₄ ist in bestimmten Membrandomänen der Müllerzellen (an Kontakten zu Blutgefäßen und zum Glaskörper) mit Kir_{4.1} kolokalisiert (Nagelhus et al., 1999). Daher könnten AQP₄ und Kir_{4.1} eine funktionelle Einheit zur Aufrechterhaltung der Wasser- und Ionenhomöostase sowie zur Volumenregulation der Müllerzellen bilden. Die Kolo-kalisation von AQP₄ und Kir_{4.1} führte zu der Annahme, dass der Wassertransport über Müllerzellmembranen u. a. an den Kaliumtransport gekoppelt ist [Nagelhus et al., 1999]. Die Herunterregulation von Kir_{4.1}, wie sie bei verschiedenen Netzhauterkrankungen beobachtet wird, sollte daher eine Dysregulation des Wassertransportes durch Müllerzellen zur Folge haben sowie eine Störung der Volumenregulation der Zellen verursachen. Zur Untersuchung der Wasserleitfähigkeit und Volumenregulation der Müllerzellen wurde ein Versuchsansatz entwickelt, bei dem Netzhautschnitte osmotischem Stress ausgesetzt werden [Pannicke et al., 2004]. Durch Messung der Somagröße wird festgestellt, ob es unter osmotischem Stress zu Volumenänderungen der Müllerzellen kommt. Dabei fanden wir, dass Müllerzellen in Geweben von unbehandelten Tieren eine effektive Volumenregulation besitzen, d. h. osmotischer Stress führt zu keiner Änderung des Müllerzellvolumens (**Abb. 2**). Dagegen führt bei Tiermodellen verschiedener Retinopathien osmotischer Stress zu einer Schwellung von Müllerzellen in Netzhautschnitten (**Abb. 2**) [Pannicke et al., 2004; 2005, 2006; Wurm et al., 2006, 2011; landiev et al., 2008; Rehak et al., 2009]. Die osmotische Müllerzellschwellung wird durch verschiedene Faktoren ausgelöst wie oxidativer Stress und Bildung von inflammatorischen Mediatoren. Darüberhinaus induziert eine Blockade von Kaliumkanälen mit Bariumionen eine Schwellung von Müllerzellen in der gesunden Netzhaut. Dies un-

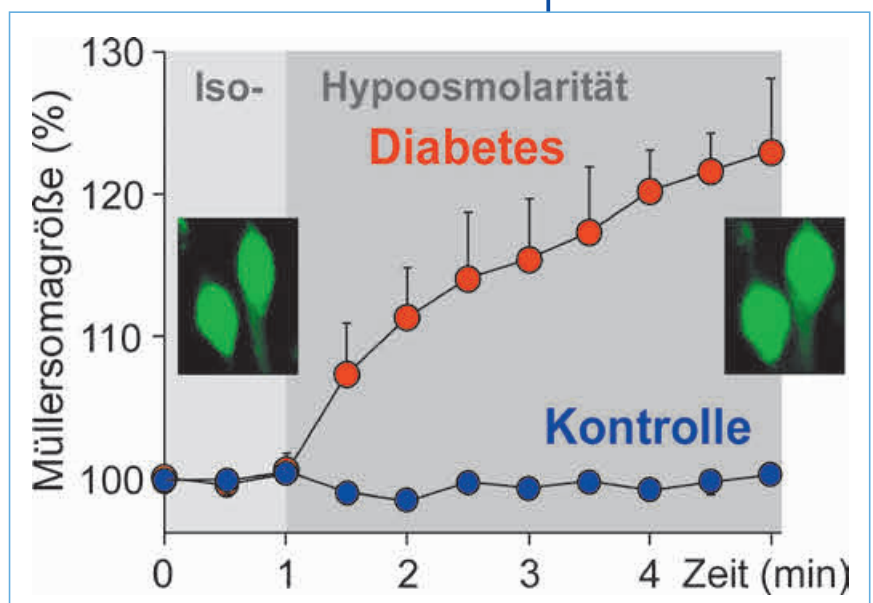
terstützt die Annahme, dass die Müllerzell-vermittelte Wasserhomöostase u. a. von Kaliumströmen abhängig ist. Unsere Daten zeigen, dass der Wassertransport über die Müllerzellmembran bei Gliose so verändert ist, dass osmotischer Stress (ein pathogener Faktor des Makulaödems; [Stefánsson, 2009]) eine Schwellung von Müllerzellen verursacht. Die Herunterregulation der glialen Kaliumkanäle könnte die Auflösung von osmotischen Gradienten zwischen Blut und Netzhautgewebe und die Flüssigkeitsabsorption aus der Netzhaut behindern.

Neben einer Schwellung von Gliazellen kann eine Wasserakkumulation in retinalen Neuronen zur Ausbildung des Netzhautödems beitragen. Wir fanden in akuten Experimenten, dass osmotischer Stress und Glutamat eine Schwellung von retinalen Ganglienzellen und Bipolarzellen verursachen [Uckermann et al., 2004; Vogler et al., 2013]. Unter diesen Bedingungen wird die Schwellung der Neurone durch eine Aktivierung von Glutamat-rezeptoren und -transportern verursacht. Es ist bekannt, dass Glutamattoxizität ein Hautmechanismus der neuronalen Degeneration in der ischämischen Netzhaut ist.

Das Ziel unserer Untersuchungen ist es, neue Ansatzpunkte für die Therapie des Netzhautödems zu finden. Triamcinolon, das in der Klinik zur Behandlung des Makulaödems verwendet wird, hemmt die osmotische Schwellung von Müllerzellen in Tiermodellen von verschiedenen Retinopathien, z. B. der retinalen Ischämie, diabetischen Retinopathie, lichtinduzierten Netzhautdegeneration und Netzhautablösung [Uckermann et al., 2005; Wurm et al., 2006, 2008; landiev et al., 2008]. Antiinflammatorische Steroide wie Triamcinolon könnten daher, neben ihrer hemmenden Wirkung auf die Gefäßpermeabilität,

Abbildung 2

■ Superfusion von Netzhautschnitten mit einer hypoosmotischen Lösung führt zu einer Schwellung der Müllerzellkörper in Schnitten von diabetischen Tieren, aber nicht von Kontrolltieren.



die Ausbildung von zytotoxischen Ödemen verhindern und/oder die gliale Flüssigkeitsabsorption aus der Netzhaut verbessern. Die Wirkung von Triamcinolon wird über eine Aktivierung von Adenosin-A₁-Rezeptoren vermittelt [Uckermann et al., 2005]. Der A₁-Rezeptor könnte daher ein Angriffspunkt für neue Therapien des Netzhautödems darstellen.

Die Pathogenese des Makulaödems ist komplex. Um den Erfolg der Therapie zu erhöhen, sind alle pathogenen Prozesse zu berücksichtigen, die in der ödematösen Netzhaut eine Rolle spielen, d. h., erhöhte Gefäßpermeabilität, neuronale Dysfunktion und Gliose. Neben der Gefäßpermeabilität können Störungen des zellulären Wassertransportes zur Ausbildung eines Netzhautödems beitragen. Ein besseres Verständnis der Rolle von Kalium- und Wasserkanälen bei der Vermittlung des glialen Wassertransportes könnte die Entwicklung neuartiger therapeutischer Methoden anregen.

LITERATUR

- Bringmann A., Francke M., Pannicke T., Biedermann B., Faude F., Enzmann V., Wiedemann P., Reichelt W., Reichenbach A. Human Müller glial cells: altered potassium channel activity in proliferative vitreoretinopathy. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 40 (1999) 3316–3323.
- Bringmann A., Pannicke T., Grosche J., Francke M., Wiedemann P., Skatchkov S. N., Osborne N. N., Reichenbach A. Müller cells in the healthy and diseased retina. *Prog Retin Eye Res* 25 (2006) 397–424.
- Fine B. S., Brucker A. J. Macular edema and cystoid macular edema. *Am J Ophthalmol* 92 (1981) 466–481.
- Grosche A., Pannicke T., Karl A., Iandiev I., Francke M., Wiedemann P., Reichenbach A., Bringmann A. Physiological properties of Müller cells from human eyes affected with uveal melanoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 53 (2012) 4170–4176.
- Iandiev I., Pannicke T., Reichel M. B., Wiedemann P., Reichenbach A., Bringmann A. Expression of aquaporin-1 immunoreactivity by photoreceptor cells in the mouse retina. *Neurosci Lett* 388 (2005) 96–99.
- Iandiev I., Uckermann O., Pannicke T., Wurm A., Pietsch U.-C., Reichenbach A., Wiedemann P., Bringmann A., Uhlmann S. Glial cell reactivity in a porcine model of retinal detachment. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 47 (2006a) 2161–2171.
- Iandiev I., Biedermann B., Reichenbach A., Wiedemann P., Bringmann A. Expression of aquaporin-9 immunoreactivity by catecholaminergic amacrine cells in the rat retina. *Neurosci Lett* 398 (2006b) 264–267.
- Iandiev I., Pannicke T., Härtig W., Grosche J., Wiedemann P., Reichenbach A., Bringmann A. Localization of aquaporin-0 immunoreactivity in the rat retina. *Neurosci Lett* 426 (2007) 81–86.
- Iandiev I., Wurm A., Hollborn M., Wiedemann P., Grimm C., Remé C. E., Reichenbach A., Pannicke T., Bringmann A. Müller cell response to blue light injury of the rat retina. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 49 (2008) 3559–3567.
- Iandiev I., Dukic-Stefanovic S., Hollborn M., Pannicke T., Härtig W., Wiedemann P., Reichenbach A., Bringmann A., Kohen L. Immunolocalization of aquaporin-6 in the rat retina. *Neurosci Lett* 490 (2011) 130–134.
- Kimelberg H. K. Current concepts of brain edema. *J Neurosurg* 83 (1995) 1051–1059.
- Kumar B., Gupta S. K., Srinivasan B. P., Nag T. C., Srivastava S., Saxena R., Jha K. A. Hesperetin rescues retinal oxidative stress, neuroinflammation and apoptosis in diabetic rats. *Microvasc Res* 87 (2013) 65–74.
- Lux A., Ullmer H., Heussen F. M., Jousseaume A. M. Non-responders to bevacizumab (Avastin) therapy of choroidal neovascular lesions. *Br J Ophthalmol.* (2007) 91: 1318–22.
- Manley G. T., Binder D. K., Papadopoulos M. C., Verkman A. S. New insights into water transport and edema in the central nervous system from phenotype analysis of aquaporin-4 null mice. *Neuroscience* 129 (2004) 983–991.
- Manoj S., Unnikrishnan Nair R., Ramachandran Nair K. G. Why Does Anti VEGF Treatment Fail In Age Related Macular Degeneration AMD. 70th AIOC Proceedings, Cochin (2012).
- Nagelhus E. A., Horio Y., Inanobe A., Fujita A., Haug F. M., Nielsen S., Kurachi Y., Ottersen O. P. Immunogold evidence suggests that coupling of K⁺ siphoning and water transport in rat retinal Müller cells is mediated by a coenrichment of Kir4.1 and AQP4 in specific membrane domains. *Glia* 26 (1999) 47–54.
- Pannicke T., Iandiev I., Uckermann O., Biedermann B., Kutzerer F., Wiedemann P., Wolburg H., Reichenbach A., Bringmann A. A potassium channel-linked mechanism of glial cell swelling in the posts ischemic retina. *Mol Cell Neurosci* 26 (2004) 493–502.
- Pannicke T., Uckermann O., Iandiev I., Wiedemann P., Reichenbach A., Bringmann A. Ocular inflammation alters swelling and membrane characteristics of rat Müller glial cells. *J Neuroimmunol* 161 (2005) 145–154.
- Pannicke T., Iandiev I., Wurm A., Uckermann O., vom Hagen F., Reichenbach A., Wiedemann P., Hammes H.-P., Bringmann A. Diabetes alters osmotic swelling characteristics and membrane conductance of glial cells in rat retina. *Diabetes* 55 (2006) 633–639.
- Rehak M., Hollborn M., Iandiev I., Pannicke T., Karl A., Wurm A., Kohen L., Reichenbach A., Wiedemann P., Bringmann A. Retinal gene expression and Müller cell responses after branch retinal vein occlusion in the rat. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 50 (2009) 2359–2367.
- Stefánsson E. Physiology of vitreous surgery. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 247 (2009) 147–163.
- Uckermann O., Vargová L., Ulbricht E., Klaus C., Weick M., Rillich K., Wiedemann P., Reichenbach A., Syková E., Bringmann A. Glutamate-evoked alterations of glial and neuronal cell morphology in the guinea-pig retina. *J Neurosci* 24 (2004) 10149–10158.
- Uckermann O., Kutzerer F., Wolf A., Pannicke T., Reichenbach A., Wiedemann P., Wolf S., Bringmann A. The glucocorticoid triamcinolone acetate inhibits osmotic swelling of retinal glial cells via stimulation of endogenous adenosine signaling. *J Pharmacol Exp Ther* 315 (2005) 1036–1045.

24. Uhlmann S., Bringmann A., Uckermann O., Pannicke T., Weick M., Ulbricht E., Goczalik I., Reichenbach A., Wiedemann P., Francke M. Early glial cell reactivity in experimental retinal detachment: effect of suramin. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 44 (2003) 4114–4122.
25. Vogler S., Grosche A., Pannicke T., Ulbricht E., Wiedemann P., Reichenbach A., Bringmann A. Hypoosmotic and glutamate-induced swelling of bipolar cells in the rat retina: comparison with swelling of Müller glial cells. *J Neurochem* 126 (2013) 372–381.
26. Wurm A., Pannicke T., Iandiev I., Bühner E., Pietsch U.-C., Reichenbach A., Wiedemann P., Uhlmann S., Bringmann A. Changes in membrane conductance play a pathogenic role in osmotic glial cell swelling in detached retinas. *Am J Pathol* 169 (2006) 1990–1998.
27. Wurm A., Iandiev I., Hollborn M., Wiedemann P., Reichenbach A., Zimmermann H., Bringmann A., Pannicke T. Purinergic receptor activation inhibits osmotic glial cell swelling in the diabetic rat retina. *Exp Eye Res* 87 (2008) 385–393.
28. Wurm A., Iandiev I., Uhlmann S., Wiedemann P., Reichenbach A., Bringmann A., Pannicke T. Effects of ischemia-reperfusion on physiological properties of Müller glial cells in the porcine retina. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 52 (2011) 3360–3367.

Prof. Dr. rer. nat. Andreas Bringmann, Jg. 1960, ist Leiter des Forschungslabors der Klinik und Poliklinik für Augenheilkunde der Medizinischen Fakultät der Universität Leipzig (Direktor: Prof. Dr. med. P. Wiedemann). Er studierte von 1981 bis 1986 an der Universität Leipzig (Sektion Biowissenschaften) Biologie, mit der Fachrichtung Tierphysiologie. Dort machte er auch sein Diplom in Biologie. Anschließend arbeitete er bis 1990 als wissenschaftlicher Mitarbeiter an der Akademie der Wissenschaften, Institut für Neurobiologie und Hirnforschung, in Magdeburg. 1990 promovierte er zum Dr. rer. nat., an der Fakultät für Mathematik und Naturwissenschaften der Universität Leipzig. Von 1990 bis 2002 arbeitete er als wissenschaftlicher Mitarbeiter am Paul-Flechsig-Institut für Hirnforschung an der Medizinischen Fakultät der Universität Leipzig, in der Abteilung Neurophysiologie. 2002 folgte seine Habilitation an der Fakultät für Biowissenschaften, Pharmazie und Psychologie der Universität Leipzig, im Fachgebiet Neurobiologie.

Seit 2002 hat er das Amt als Leiter des Forschungslabors der Klinik und Poliklinik für Augenheilkunde der Medizinischen Fakultät der Universität Leipzig inne. Prof. Dr. rer. nat. Bringmann hat mittlerweile 166 Publikationen und 10 Buchkapitel veröffentlicht.



Prof. Dr. rer. nat. habil. Andreas Bringmann

Klinik und Poliklinik für Augenheilkunde,
Universität Leipzig
Liebigstraße 10–14
04103 Leipzig
Telefon: 0341 9721-557
Telefax: 0341 9721-659
E-Mail: bria@medizin.uni-leipzig.de

KONTAKT



Autorenverzeichnis

IN ALPHABETISCHER REIHENFOLGE



A			
Alex A.	94	Esser J.	24
Alten F.	94	Eter N.	94
Amir K.	176	F	
Anastassiou G.	64	Fausser S.	48
Augsten R.	112	Flachsbarth K.	50
		Frings A.	166
B		Fuchsluger T.A.	55
Baade A.	146	G	
Bartsch U.	50	Geerling G.	55
Bartz-Schmidt K.U.	60, 228	Gekeler F.	60
Baumeister M.	142	Gerberding M.	228
Beck S.	19	Gkika T.	64
Bell M.	19	Goebels-Kummerow S.	213
Berchner-Pfannschmidt U.	24	Gollisch T.	69
Bertelmann T.	30	Gramlich O.W.	19
Biewald E.	34	Grehn F.	74
Blecha C.	44	Grisanti S.	80
Bock F.	106	Großjohann R.	224
Böhringer D.	170	Grus F.H.	14, 19
Boldt K.	228	Guthoff R.F.	188
Bolz S.	228	H	
Bornfeld N.	34, 64	Hammer M.	112
Bringmann A.	232	Hanet M.	220
Brinkmann R.	146	Haritoglou C.	86
Brockmann C.	130	Harmening G.	92
Bucher F.	106	Heiduschka P.	94
Bühren J.	142	Heindl L.M.	106
		Heußen F.	130
C		Hoerauf H.	69
Chronopoulos A.	130	Hoffmann M.	100
Clemens C.	94	Höhn R.	180
Cursiefen C.	106	Holz F.G.	194
		Horn N.	228
D		Hos D.	106
Deissler H.	38	I	
Dekowski D.	220	Iliakis G.	64
Dick B.	116		
Dietrich-Ntoukas T.	44		
E			
Eberwein P.	44		
Eckstein A.	24		
Eppig T.	158, 213		

J

Jankowiak W.	50
Janunts E.	158
Jentsch S.	112
Joachim S.C.	116
Johnen S.	120
Jonas J.B.	126
Joussen A.M.	130, 206
Jung G.	50
Jürgens C.	224

K

Kampik A.	86
Kannengiesser M.	158
Karlstetter M.	138
Katz T.	166
Keckeis S.	206
Klaproth O.K.	142
Klettner A.	153
Koch K.R.	106
Kociok N.	130
Kohnen T.	142
Koinzer S.	146
Kruszewski K.	50
Kuehn S.	116

L

Langenbacher A.	158, 213
Lang G.E.	38
Lang G.K.	38
Langmann T.	138
Limburg E.	164
Linke S.J.	166
Lorenz B.	198
Lüke J.	80

M

Maier A.-K. B.	130
Maier P.	170
Markowski M.	206
Meller D.	176, 220
Mirshahi A.	180

P

Peters S.	112
Pfeiffer N.	19, 180

R

Regenfuss B.	106
Rehak M.	185
Reichhart N.	206
Reinehr S.	116
Reinhard T.	14, 170
Reiß S.	188
Richard G.	50, 166
Riechart A.I.	130
Roider J.	146, 153

S

Saeger M.	146
Schlereth S.L.	106
Schlott K.	146
Schmitz-Valckenberg S.	194
Schob C.	50
Scholz S.	176
Schweitzer D.	112
Seibel I.	130
Seitz B.	4, 158, 213
Skosirsky S.	130
Skosysirski S.	206
Spaniol K.	55
Stachon T.	213
Stachs O.	188
Steinberg J.	166
Stephan H.	34
Steuhl K.-P.	176, 220
Steven P.	44, 106
Stieger K.	198
Stingl K.	202
Stolz H.	188
Strauß O.	130, 206
Szentmáry N.	213

T

Texier Y.	228
Thomasen H.	176, 220
Thumann G.	120
Titke C.	142
Tost F.	224
Tura A.	80

U

Ueffing M.	228
-----------------	-----

V

Vogt A.	228
Von Thun Und Hohenstein-Blau N.I.	19

W

Walter P.	120
Wang J.	213
Westekemper H.	44, 220
Wildner K.	112
Willmann G.	60
Wissinger Y.	228
Wolff D.	44

Y

Yandiev Y.	232
-----------------	-----

Z

Zeschnigk M.	64
Zrenner E.	202