

SPITZENFORSCHUNG IN DER OPHTHALMOLOGIE

115. DOG-Kongress
28.9.–1.10.2017, Berlin

Deutsche Augenheilkunde international

WISSEN
Lebendige
SCHAFT



DOG
Deutsche Ophthalmologische
Gesellschaft

Gesellschaft für Augenheilkunde

Evolutionär

Die neue Therapiekategorie zur Behandlung evaporativ trockener Augen

- Innovativ, lipophil, wasserfrei – Made in Germany
- Übernimmt die Funktion der Lipidschicht, indem es sich wie ein Schutzmantel über den Tränenfilm legt
- Effektiver Verdunstungsschutz für zufriedene Patienten – studienbelegt^{1,2}
- Hervorragend verträglich, da frei von Konservierungsmitteln, Phosphaten und Emulgatoren

¹ Steven, P. et al. J Ocul Pharmacol Ther, 2015, 31(8): 498-503.

² Messmer, E.M. et al. DOG 2016: Poster PSa03-02.



EvoTears®

Spitzen- forschung in der Ophthal- mologie

DEUTSCHE
OPHTHALMOLOGISCHE
GESELLSCHAFT

2017

IMPRESSUM

**Lebendige Wissenschaft
Spitzenforschung in der Ophthalmologie**

Grußwort:

- Univ.-Prof. Dr. med. Thomas Kohnen,
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

Redaktionsleitung und Koordinierung der Beiträge:

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

Ideengeber und Initiator für das Fachmagazin

Lebendige Wissenschaft Spitzenforschung in der Ophthalmologie:

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

Layout: Maria Adler

Projektleitung: Arjeta Krasnici

Umschlagsgestaltung:

Das Hintergrundbild stammt aus der Ausgabe Lebendige Wissenschaft Ophthalmologie 2013. Die **Abbildung unten links** wurde freundlicher Weise von Dr. Ing. Ali Nasser, Dr. Daniel Zapp, Dr. Mingchuan Zhou, Prof. Dr. Mathias Maier, Dr. Sabrina Bohnacker, Prof. Dr. med. Dr. Chris P. Lohmann (Copyright) zur Verfügung gestellt, (s. hierzu auch ihren Beitrag auf S. 102 ff., hier Abbildung 1). Die **Abbildung in der Mitte** ist von Fotolia #102065718. Ihnen allen sei an dieser Stelle recht herzlichst gedankt.

ISSN: 1861-4620 / Ausgabe 2017

Projektnummer: 96-517

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

UNIV.-PROF. DR. MED. THOMAS KOHNEN

Liebe Kolleginnen und Kollegen!

Seit der Erfindung des Augenspiegels durch Hermann von Helmholtz hat die deutsche Augenheilkunde die internationale Entwicklung des Fachs beeinflusst. Bis heute genießen Forscher aus Deutschland weltweit ein hohes Ansehen. Die zweite Auflage dieses Bandes, die wir Ihnen dank großzügigen Industrie-Sponsorings anlässlich der DOG 2017 kostenlos überreichen können, gewährt einen Einblick in die hervorragende wissenschaftliche Arbeit deutscher Augenheilkundler.

Erneut haben fast alle ophthalmologischen Lehrstühle attraktive Beiträge eingereicht, die eine beeindruckende Karte der augenheilkundlichen Forschungslandschaft in Deutschland zeichnen. Die 34 Arbeiten zeigen zugleich auch: Grundlagenwissenschaft findet vor allem an deutschen Universitätsaugenkliniken statt. Alle wichtigen Themen sind vertreten. Sie reichen von AMD, Netzhauterkrankungen und diabetischer Retinopathie über Uveitis, Glaukom, Hornhaut- und Linsenerkrankungen, refraktive Chirurgie und molekulare Bildgebung bis hin zur Augenoberflächenrekonstruktion.

Wirft man einen analytisch-vergleichenden Blick auf Zahlen und Tendenzen, die hinter diesen spannenden Forschungsprojekten stehen, wird zweierlei sichtbar. Erstens: Trotz der im Vergleich zu den USA eher bescheidenen Fördermittel – schätzungsweise 700 Millionen US-Dollar stehen 34 Millionen Euro pro Jahr hierzulande gegenüber – ist Deutschland nach wie vor eine der führenden Wissenschaftsnationen. Eine Analyse der ophthalmologischen Fachbeiträge der Jahre 2015/2016 zeigt, dass Deutschland mit einem Anteil von 7,2 Prozent an dritter Stelle hinter den USA (37,6 Prozent) und Großbritannien (8,2 Prozent) liegt. Auch beim Vergleich der Zitationen ergibt sich dieses Ranking.

Zweitens: Die asiatischen Länder, allen voran China, holen rasant auf. China liegt bereits auf Platz vier, sowohl bei den Fachbeiträgen als auch bei den Zitationen. Das hängt direkt mit den kon-

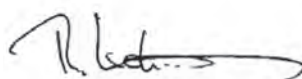
tinuierlich steigenden Fördermitteln zusammen, die die Volksrepublik in die Forschung investiert.

Das diesjährige DOG-Kongress-Motto »Deutsche Augenheilkunde international« greift diese Entwicklungen bewusst auf. Wenn wir die Wettbewerbsfähigkeit Deutschlands und seiner Leistungsträger im globalen Maßstab sichern wollen, müssen wir verstärkt auf Internationalisierung und Vernetzung setzen. In diesem Sinne haben wir uns bemüht, internationale Gesellschaften wie die ESCRS (zusammen mit der DGII), EURETINA oder IIIC ins Boot zu holen, mit denen wir gemeinsam englischsprachige Sitzungen veranstalten. Wir wollen ein Signal zum Aufbruch in die Zukunft geben, unsere Leistungen noch stärker zu internationalisieren.

Zum anderen benötigt die deutsche Forschung den europäischen Kontext sowie die europäische Förderung, sollte beides suchen und die attraktiven Ressourcen aktiv abfragen. Auch auf diesem Feld will der Kongress die Debatte intensivieren. So stellt das Symposium »Germany goes Europe – European Research Consortia with German participation« aktuelle EU-Großforschungsprojekte in der Augenheilkunde mit deutscher Beteiligung vor. Beeindruckend, was schon alles auf den Weg gebracht worden ist.

Aber überzeugen Sie sich selbst. Dieser Band ist der Beweis: Die ophthalmologische Forschung in Deutschland ist bestens aufgestellt, um die Herausforderungen der Zukunft erfolgreich zu meistern. Ich wünsche viel Vergnügen bei der Lektüre!

Ihr



Univ.-Prof. Dr. med. Thomas Kohnen, FEBO
*Präsident der DOG
 Deutschen Ophthalmologischen Gesellschaft
 Direktor der Klinik für Augenheilkunde
 Universitätsklinikum Frankfurt am Main*



Univ.-Prof. Dr. med. Thomas Kohnen, FEBO
*Präsident der DOG
 Deutschen Ophthalmologischen Gesellschaft
 Direktor der Klinik für Augenheilkunde
 Universitätsklinikum
 Frankfurt am Main*



DOG
 Deutsche Ophthalmologische
 Gesellschaft
 Gesellschaft für Augenheilkunde



Bayer AG

Spitzenforschung in der Ophthalmologie

INHALTSÜBERSICHT

- Univ.-Prof. Dr. med. Thomas Kohnen
Grußwort 3

- Dr. Thomas Ach
 Dr. Katharina Bermond
 Pia Stockinger
 Christine Schmitt
 Prof. Dr. Michael Sendtner
 Prof. Dr. Jost Hillenkamp
**Humanes retinales Pigmentepithel: normale Alterung, degenerative Veränderungen,
 protektive Faktoren** 12

- Dr. Maged Alnawaiseh
 Priv.-Doz. Dr. Florian Alten
 Dr. Christoph R. Clemens
 Prof. Dr. Nicole Eter
OCT-Angiographie: Chancen und Grenzen einer neuen Technologie 16

- Dr. Caroline Brandl
 Priv.-Doz. Dr. Klaus J. Stark
 Dr. Martina E. Zimmermann
 Prof. Dr. Bernhard H.F. Weber
 Prof. Dr. Horst Helbig
 Prof. Dr. Iris M. Heid
**Augenerkrankungen in der älteren deutschen Bevölkerung: Populationsbasierte Analysen
 im Rahmen der Augenstudie der Universität Regensburg (AugUR)** 22

- Dr. Heidrun L. Deissler
 Prof. Dr. Gerhard K. Lang
 Prof. Dr. Gabriele E. Lang
Aufnahme und Transport von Bevacizumab und Aflibercept in retinalen Endothelzellen 28

- Prof. Dr. Dr. M. Dominik Fischer
 Prof. Dr. Marius Ueffing
 Prof. Dr. K. Ulrich Bartz-Schmidt
Gentherapie für Netzhauterkrankungen 36



- Dr. rer. nat. Martin Hammer
Lydia Sauer
Susanne Salweski
Johanna Schmidt
Rowena Schultz
Sven Peters
Lukas Kreilkamp
Priv.-Doz. Dr. med. Regine Augsten
Prof. Dr. med. Daniel Meller
Molekulare Bildgebung der Retina durch Autofluoreszenzlebensdauermessung (FLIO) bei altersbedingter Makuladegeneration.....42

- Dr. med. Dr. nat. med. Deniz Hos, FEBO
Priv.-Doz. Dr. rer. nat. Felix Bock
Prof. Dr. med. Claus Cursiefen, FEBO
Therapeutische Lymphangiogenese an der Hornhaut: eine neue Therapieoption bei pathologischen Entzündungen, Ödem-bedingten Trübungen und Glaukom?48

- Wanda Jankowiak
Dr. Simon Dulz
Dr. Yevgeniya Atiskova
Dr. Susanne Bartsch
Prof. Dr. Martin Spitzer
Prof. Dr. Udo Bartsch
Neuronale Zeroidlipofuszinosen und die Netzhaut: von Tiermodellen und Patienten 52

- Dr. rer. nat. Sandra Johnen
Dipl.-Biol. Sabine Diarra
Univ.-Prof. Dr. med. Gabriele Thumann
Univ.-Prof. Dr. med. Peter Walter
Nicht-virale Genterapie zur Behandlung degenerativer Netzhauterkrankungen 58

- Prof. Dr. Alexa Klettner
Prof. Dr. Johann Roider
Algenextrakte als neue Therapieoption in der Ophthalmologie?.....62

- Dr. Norbert Kociok
Dr. Sergio Crespo-Garcia
Dr. Catharina Busch
Dr. Nadine Reichhart
Priv.-Doz. Dr. Catharina Meyer-Wenzel
Dr. Claudia Brockmann
Christina Nürnberg
Dr. Dominika Pohlmann
Dr. Sibylle Winterhalter
Prof. Uwe Pleyer
Prof. Olaf Strauss
Prof. Antonia Joussen
Regulation entzündlicher Vorgänge bei Uveitis, retinaler Neovaskularisation und retinalen Degenerationen.....66

- Univ.-Prof. Dr. med. Thomas Kohnen
Eva Hemkepler, M.Sc.
Dr. rer. medic. Myriam Böhm, M.Sc.
Vergleich der Eigenschaften und visuellen Ergebnisse einer panfokalen mit einer trifokalen Intraokularlinse nach Linsen Chirurgie 72

Novartis Pharma GmbH

- Prof. Dr. med. Tim U. Krohne
 Dr. rer. nat. Carolina Brandstetter
 Dr. med. Lena K. M. Mohr
 Andrea V. Hoffmann
 Joshua Patt
 Luping Wang
 Dr. med. Petra P. Fang
 Prof. Dr. med. Frank G. Holz
**Neue Entzündungsmechanismen als Therapietargets bei
 altersabhängiger Makuladegeneration (AMD)80**
- Dr. Stefan J. Lang
 Priv.-Doz. Dr. Philip Maier
 Prof. Dr. Thomas Reinhard
Diagnostik und Therapie des Keratokonus – State of the Art84
- Univ.-Prof. Dr. Birgit Lorenz
 Univ.-Prof. Dr. Dr. Knut Stieger
**Neue diagnostische Methoden und Therapien bei neovaskulären und erblichen
 Netzhauterkrankungen im (Kleinst-) Kindesalter90**
- Priv.-Doz. Dr. Stefan Mergler
 Nina Ljubujevic
 Prof. Dr. Uwe Pleyer
TRP-Kanäle an der okulären Oberfläche Therapeutische Relevanz?96
- Dr. Ing. Ali Nasseri
 Dr. Daniel Zapp
 Dr. Mingchuan Zhou
 Prof. Dr. Mathias Maier
 Dr. Sabrina Bohnacker
 Prof. Dr. med. Dr. Chris P. Lohmann
**iOCT geführte roboter-assistierte Mikrochirurgie, eine zukünftige Möglichkeit
 für subretinale Eingriffe. 100**
- Priv.-Doz. Dr. med. Andreas Ohlmann
 Dr. med. Raffael Liegl
Angiogene Mechanismen des Wnt/ β -Cateninsignalwegs in der Netzhaut 106
- Priv.-Doz. Dr. Christian van Oterendorp
 Hanna Gottschalk
 Dr. Mohammed Khattab
 Prof. Dr. Hans Hoerauf
Lipidemulsionen als Kontrastmittel für die OCT-Bildgebung110
- Dr. Maximilian Pfau
 Priv.-Doz. Dr. Monika Fleckenstein
 Dr. Julia S. Steinberg
 Dr. Sarah H. Thiele
 Prof. Dr. Robert P. Finger
 Prof. Dr. Steffen Schmitz-Valckenberg
 Prof. Dr. Frank G. Holz
**Etablierung funktioneller und struktureller Studienendpunkte
 für die altersabhängige Makuladegeneration114**

- Dr. Amelie Pielen
Dr. Lisa Danzmann
Marita Awe
Dr. Bernd Junker
Dr. Marcus May
Prof. Dr. Christoph Schindler
Prof. Dr. Carsten Framme, MBA
Investigator Initiated Clinical Trials am Beispiel des SUPER-Trial: SGLT2-Inhibitoren senken die Mortalität – verringern sie auch die diabetische Retinopathie? 120

- Dr. med. Mahdy Ranjbar
Prof. Dr. med. Salvatore Grisanti
Optimierung der Anti-VEGF Therapie bei AMD 124

- Dr. Sabrina Reinehr
Dr. Sandra Kühn
Dr. Teresa Tsai
Prof. Dr. H. Burkhard Dick
Priv.-Doz. Dr. med. Stephanie C. Joachim
Komplementsystem Veränderungen und Apoptose Mechanismen in Glaukom Modellen 128

- Kim Schaffrath
Anna-Marina van der Meer, M.Sc.
Dr. med. Tibor Lohmann
Dr. med. Hannah Schimitzek
Dr. rer. nat. Sandra Johnen
Priv.-Doz. Dr. med. Gernot Rössler
Prof. Dr. med. Peter Walter
Elektrische Netzhautstimulation: Grundlagen, Optimierung und klinische Anwendung134

- Dr. Friederike Schaub
Priv.-Doz. Dr. Robert Hörster
Prof. Dr. Sascha Fauser
Prof. Dr. Bernd Kirchhof
Prophylaktischer Ansatz gegen Proliferative Vitreoretinopathie: PRIVENT-Studie 138

- Dr. Alexander K. Schuster
Dr. Stefan Nickels
Prof. Dr. Norbert Pfeiffer
Ophthalmologische Epidemiologie und Versorgungsforschung – Bevölkerungsstudien helfen Sehbehinderung und Erblindung zu verhüten 142

- Dr. med. Armin Mir Mohi Sefat
Priv.-Doz. Dr. med. Martin Rudolf
Das 4F-Peptid als potentieller Wirkstoff bei AMD 146

- Univ.-Prof. Dr. med. Walter Sekundo
Prof. Dr. med. Marcus Blum
Prof. Dr. Dr. Farhad Hafezi
Dr. Sabine Kling
Apostolos Lazaridis
Dipl.-Ing. Anke Messerschmidt-Roth
Bogdan Spiru
Intrastromale Refraktive Chirurgie mit dem Femtosekundenlaser150

- Tanja Stachon, M.Sc.
Dr. Lorenz Latta
Prof. Dr. Berthold Seitz
Prof. Dr. Achim Langenbacher
Prof. Dr. Nora Szentmáry
**Molekulare Grundlagen des Keratokonus – Veränderungen des Harnstoff-Zyklus
als Ursache verminderter Kollagenstabilität**154

- Prof. Dr. rer. nat. Oliver Stachs
Prof. Dr. med. Anselm Jünemann
Prof. Dr.-Ing. Heidrun Schumann
Martin Röhlig, M.Sc.
Visual Analytics in der Augenheilkunde 160

- Univ.-Prof. Dr. Dr. Knut Stieger
Univ.-Prof. Dr. Birgit Lorenz
SPP 2127
»Gen- und zellbasierte Therapien zur Behandlung von neuroretinaler Degeneration« 166

- Dr. Jan Tode
Dr. Elisabeth Richert
Dr. Claus von der Burchard
Priv.-Doz. Dr. Stefan Koinzer
Prof. Dr. Alexa Klettner
Dr. Ralf Brinkmann
Prof. Dr. Johann Roider
Schonende retinale Lasertherapien als Behandlungsoption der trockenen AMD170

- Priv.-Doz. Dr. med. Jan Darius Unterlauff
Prof. Dr. rer. nat. Wolfram Eichler
Retinale Neuroprotektion174

- Joana Witt
Prof. Dr. med. Gerd Geerling
Prof. Dr. Dr. Stefan Schrader
**Plastisch komprimierte Kollagengele zur Augenoberflächenrekonstruktion –
»first in man«**178

- **Autorenverzeichnis**181

Innovative, individuelle und ganzheitliche Lösungen von W20 Medizintechnik AG

Bei der W20 Medizintechnik AG hat man die Bedürfnisse von Ophthalmochirurgen und deren Wünsche immer im Blick. Die Beratung deckt die gesamte Bandbreite der ophthalmologischen Praxis ab und das Produktangebot kann mit Exklusivmarken und eigenen Entwicklungen auch hohe persönliche Anforderungsspektren erfüllen.

Für die Kataraktchirurgie werden Intraokularlinsen mit einem Design für alle Bedürfnisse angeboten – der Chirurg wählt, ob die klare, gelbe, torische, progressive oder asphärische Linse am Besten für den Patienten passt. Für optimale OP-Abläufe stehen diese Linsen auch als pre-loaded Version zur Verfügung. Die für die Operation benötigten Viskoelastika, Instrumenten- und OP-Sets sowie Kapselspannringe oder Irisretraktoren kann W20 Medizintechnik ebenfalls liefern.

Auch für die vitreoretinale Chirurgie finden sich im Produktprogramm interessante Angebote: egal ob Einmal- oder wiederverwendbare Instrumente favorisiert oder Lasersonden gesucht werden, hier werden Sie fündig. Silikonöle, Tamponaden oder Vitrektomiellinsen gehören ebenso zum Produktspektrum wie Farbstoffe zum Anfärben von Membranen und Trokare in verschiedenen Ausführungen.

Dank der langjährigen Erfahrung im Aufbau und der betrieblichen Optimierung ophthalmochirurgischer Praxen und Kliniken wissen die Mitarbeiter genau was Sie benötigen. Gern planen sie mit Ihnen die OP-Einrichtung. Dazu steht ein großes Angebot an OP-Liegen und OP-Stühlen, Sterilisatoren und Zubehör sowie speziell auf die individuellen Bedürfnisse zugeschnittene Ergänzungslösungen aus Eigenentwicklung zur Verfügung. Die vollständige Unabhängigkeit sowohl von Konzernen als auch von externem Kapital sichert Ihnen als Kunde dabei höchstmögliche Kontinuität in der Betreuung. Hierfür steht der Leitsatz „We care“ – was die Mitarbeiter wörtlich nehmen. Zur Kundenorientierung gehört dabei auch eine möglichst kurze Lieferzeit – üblicherweise empfangen Sie Ihre Bestellung spätestens 72 Stunden nach Bestelleingang. Testen Sie es selbst! Nähere Informationen zum Produktspektrum finden Sie auf der Webseite www.w2o.de

KONTAKT

W20 Medizintechnik AG

Weißer-Tor-Straße 4
76661 Philippsburg
Tel.: 07256 92591-100
Fax: 07256 92591-110
info@w2o.de

Ihre Bedürfnisse - Unsere Produkte



www.w2o.de

- We care!

Wir bieten Ihnen Lösungen - innovativ, individuell, ganzheitlich.

Egal, ob Sie eine IOL, Viskoelastikum, eine Lasersonde oder ein Instrument für die Katarakt- oder vitreoretinale Chirurgie benötigen: Bei uns werden Sie fündig!



Humanes retinales Pigmentepithel: normale Alterung, degenerative Veränderungen, protektive Faktoren.

DR. THOMAS ACH, DR. KATHARINA BERMOND, PIA STOCKINGER,
CHRISTINE SCHMITT, PROF. DR. MICHAEL SENDTNER,
PROF. DR. JOST HILLENKAMP

Augenklinik
und Poliklinik
Universitätsklinik
Würzburg

Die Zellen des retinalen Pigmentepithels (RPEs) fungieren als Bindeglied zwischen den Fotorezeptoren der äußeren Netzhaut und der Choriokapillaris. Sie erfüllen dabei vielfältige Aufgaben in der Lichtabsorption, der Phagozytose abgeschilfter Fotorezeptor-Außensegmente, dem Recycling wichtiger Proteine des Sehzyklus und sind durch ihre starke Polarität (apikal: Fotorezeptoren; basal: Bruch Membran) auch in der Lage, Proteine und Faktoren zielgerichtet an die umgebenden Zellen und Strukturen abzugeben.

Durch diese zentrale Lage sind RPE-Zellen maßgeblich an der Homöostase der äußeren Netzhaut und angrenzender Strukturen beteiligt. Bei Störungen in physiologischen Abläufen in und um die RPE-Zellen (z.B. im Rahmen einer altersbedingten Makuladegeneration, AMD) kann es zu weitreichenden Veränderungen bis hin zum RPE-Zelluntergang kommen.

ALTERSABHÄNGIGE VERSUS KRANKHEITSBEDINGTE VERÄNDERUNGEN

Um allerdings physiologische, altersbedingte von pathologischen Veränderungen unterscheiden zu können, ist ein grundlegendes Verständnis zum normalen Aufbau und der Funktionsweise von humanen RPE-Zellen notwendig. Histologische Untersuchungen mit neuen, hochauflösenden Mikroskopen helfen dabei, den subzellulären Aufbau von RPE-Zellen zu beschreiben. Von be-

sonderem Interesse sind dabei die intrazellulären Granula: Lipofuszin, Melanolipofuszin und Melanosomen.

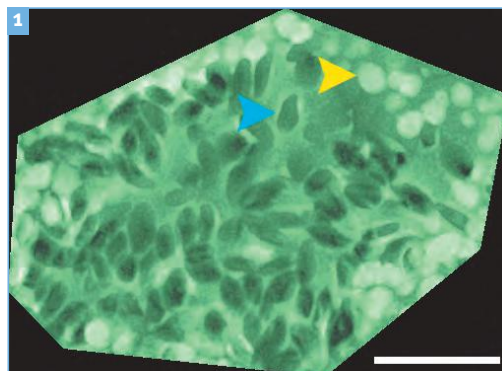
In bisherigen histologischen Untersuchungen konnten wir zeigen, dass RPE-Zellen im Alter eine signifikante Zunahme der Autofluoreszenzintensität pro Zelle aufweisen (entspricht einer Zunahme der Anzahl intrazellulärer Lipofuszin/Melanolipofuszin-Granula und/oder einer Abnahme der Anzahl von Melanosomen). Interessanterweise zeigt sich die RPE-Zellzahl dabei jedoch stabil: Spenderaugen über 80 Jahre weisen identische RPE-Zelldichten wie unter 50-jährigen auf [1]. Aufgrund dieser Beobachtung muss die bisher verfolgte Theorie eines Lipofuszin-bedingten Zelltodes zumindest kritisch diskutiert werden. Damit verbunden sind weitere wichtige Fragen, die in aktuellen Studien von uns untersucht werden: Anzahl der Granula pro Zelle, Verteilung der Granula innerhalb der Zelle (**Abbildung 1**), regionale Unterschiede der Granulaverteilung pro Zelle (in Abhängigkeit von der retinalen Lokalisation). Darüber hinaus lassen sich durch weiterführende spektrale Untersuchungen von RPE-Zellen und deren Granula (u.a. NIH-gefördertes Projekt) [2, 3] auch Informationen zu möglichen (Haupt-) Fluorophoren des Lipofuszins und Melanolipofuszins gewinnen, die bislang für die Makula noch nicht bekannt sind. Nicht nur die Zusammensetzung sondern auch mögliche intrazelluläre Abbauprozesse der Granula, die sich über spektrale Änderungen nachweisen lassen könnten, sind hier von Interesse: in der normalen Alterung als auch im Rahmen einer AMD.

Aus den von uns angefertigten hochauflösenden mikroskopischen Aufnahmen lässt sich auch die Autofluoreszenzintensität pro Zelle bestimmen; eine wichtige Information für die Interpretation klinischer Fundusautofluoreszenz-Aufnahmen auf zellulärer Ebene [4]. Mit Verwendung der quantifizierenden Fundusautofluoreszenz (qAF) steht uns zudem ein experimentelles klinisches Tool zur Verfügung, mit dem Autofluoreszenzintensitäten des Augenhintergrunds im longitudinalen Verlauf einzelner Probanden, aber auch zwischen verschiedenen Probanden verglichen werden können.

Abbildung 1

■ Hochaufgelöste Darstellung intrazellulärer RPE-Granula.

Mit Strukturierter Beleuchtung (Anregung 488 nm, Emission >510 nm) lassen sich die intrazellulären Granula von RPE-Zellen (Lipofuszin (gelbe Pfeilspitze); Melanolipofuszin (blaue Pfeilspitze)) gut voneinander unterscheiden. Damit sind Analysen auf subzellulärer Ebene (Anzahl Granula/Zelle, intrazelluläre Verteilung, spektrale Eigenschaften) möglich. Spender: 86 Jahre, weiblich, frühe AMD, RPE-Zelle der Perifovea, scale bar: 5 µm.



Die präzise histologische Untersuchung des RPEs ermöglicht in Kombination mit der hochauflösenden *in vivo* spectral domain Optische Kohärenz Tomographie (SD-OCT) auch histologisch-klinische Korrelationen. Unsere bislang beschriebenen Phänotyp-Änderungen des RPEs bei der exsudativen und nicht-exsudativen AMD konnten mittlerweile auch in klinischen OCT-Untersuchungen bestätigt werden [5, 6, 7].

Histologische Untersuchungen an großen Fallserien, standardisierte *ex vivo* Aufnahmemuster, hochauflösende Mikroskopie (u.a. Strukturierte Beleuchtung) und der direkte Vergleich mit *in vivo* bzw. *ex vivo* SD-OCT-Aufnahmen sind die Bestrebungen unserer weiteren Untersuchungen, um die physiologischen von den pathophysiologischen Veränderungen des RPEs, vor allem im Rahmen degenerativer retinaler Erkrankungen zu verstehen und Ansatzpunkte für geeignete (regenerative) Therapien ableiten zu können.*

CILIARY NEUROTROPHIC FACTOR (CNTF) IN DER RETINA

Neben regenerativen Therapien bei degenerativen Prozessen (z.B. im Rahmen einer AMD) wäre die Gabe protektiver Faktoren ein anderer therapeutischer Ansatz.

CNTF ist ein Protein der Interleukin-6 Familie und hat Einfluss auf das Überleben, die Differenzierung und die Proliferation von Neuronen und anderen Zellen im nervösen System.

LaVail und Kollegen haben in Rattenmodellen zum ersten Mal beschrieben, dass CNTF Fotorezeptoren der Netzhaut und Zellen des RPE schützen und degenerative Veränderungen verzögern kann [8]. In Folgearbeiten wurden in weiteren Tiermodellen (Maus, Ratte, Hund, Kaninchen) Auswirkungen einer intravitrealen CNTF-Gabe beschrieben, wobei positive, zellschützende Effekte von CNTF sowohl für die Stäbchen- als auch Zapfen-Fotorezeptoren beschrieben wurden.

Wie CNTF in der Retina genau wirkt ist weiterhin unklar, da bislang nur Ergebnisse aus Tiermodellen vorliegen, die sich aber nur schwer auf den Menschen übertragen lassen (u.a. fehlende Makula in Mäusen) [9]. Eine Bindung an CNTF Fotorezeptor-Außensegmenten als auch Bindung an Müller-Zellen und eine Freisetzung von Interleukin-6 und verwandten Zytokinen wurden propagiert.

Derzeit analysieren wir in mehreren Studien die Expression von CNTF und CNTF-Rezeptor Unter-einheiten in der normalen humanen Netzhaut sowie bei verschiedenen Stadien der AMD. Parallel hierzu helfen verschiedene Mausmodelle (u.a. CNTF^{-/-}), mögliche strukturelle Netzhautveränderungen bei veränderter CNTF-Signalkaskade zu untersuchen. Durch die Gegenüberstellung von Gemeinsamkeiten bzw. Differenzen in der CNTF-Expression der Retina bei Mensch und Maus erhoffen wir uns, daraus für den Menschen geeignete Therapiestrategien zur Behandlung degenerativer Netzhauterkrankungen entwickeln zu können.**

LITERATUR

1. Ach T., Huisingsh C., McGwin G. jr. et al. Quantitative autofluorescence and cell density maps of the human retinal pigment epithelium. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2014; 55: 4832–4841.
2. Smith R. T., Post R., Johri A., et al. Simultaneous decomposition of multiple hyperspectral data sets: signal recovery of unknown fluorophores in the retinal pigment epithelium. *Biomedical optics express* 2014; 5 (12): 4171–4185.
3. Tong Y., Ami T. B., Hong S. et al. Hyperspectral Autofluorescence Imaging Of Drusen And Retinal Pigment Epithelium In Donor Eyes With Age-related Macular Degeneration. *Retina* 2016; 36: S127–S136.
4. Ach T., Tolstik E., Messinger J. D., et al. Lipofuscin redistribution and loss accompanied by cytoskeletal stress in retinal pigment epithelium of eyes with age-related macular degeneration. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2015; 56: 3242–3252.
5. Zanzottera E. C., Ach T., Huisingsh C., et al. Visualizing retinal pigment epithelium phenotypes in the transition to atrophy in neovascular age-related macular degeneration. *Retina* 2016; 36 (Suppl. 1): S26–S39.
6. Zanzottera E. C., Ach T., Huisingsh C., et al. Visualizing retinal pigment epithelium phenotypes in the transition to geographic atrophy in age-related macular degeneration. *Retina* 2016; 36 (Suppl. 1): S12–S25.
7. Curcio C. A., Zanzottera E. C., Ach, T., et al. Activated Retinal Pigment Epithelium, an Optical Coherence Tomography Biomarker for Progression in Age-Related Macular Degeneration. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2017; Manuskript im Druck.
8. LaVail, Matthew M., et al. Multiple growth factors, cytokines, and neurotrophins rescue photoreceptors from the damaging effects of constant light. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 89.23 (1992): 11249–11253.
9. Wen R., Tao W., Li Y., et al. CNTF and retina. *Progress in retinal and eye research* 2012; 31 (2): 136–151.

* **Finanzielle Unterstützung:**
Interdisziplinäres Zentrum für Klinische Forschung (IZKF) Würzburg (TA, KB), Dr. Werner Jackstädt-Stiftung (TA), National Institutes of Health (TA).

** **Finanzielle Unterstützung:**
Interdisziplinäres Zentrum für Klinische Forschung (IZKF) Würzburg (TA, MS).



Dr. med. Thomas Ach

Sowohl das grundlagenwissenschaftliche als auch das klinische Interesse von Dr. Ach gilt der Physiologie und Pathophysiologie der äußeren Netzhaut, hier insbesondere des retinalen Pigmentepithels (RPEs).

Von 2012 bis 2014 hat er als DFG-Stipendiat bei Dr. Christine A. Curcio an der University of Alabama at Birmingham, USA, grundlegende histologische Arbeiten zur Zelldichte und Autofluoreszenz des humanen retinalen Pigmentepithels durchgeführt und habilitiert sich der-

zeit zu altersbedingten Veränderungen des RPEs versus Veränderungen bei altersbedingter Makuladegeneration.

Derzeitige wissenschaftliche Projekte beinhalten neben der Analyse von RPE-Zellen (Histologie und Pathohistologie; hochauflösende Mikroskopietechniken) auch neue Methoden zur klinischen retinalen Bildgebung (quantifizierende Fundusautofluoreszenz, spektrale Fundusuntersuchungen).

Seit Juli 2017 wird er vom US National Institutes of Health, NIH, gefördert, um als Teil einer internationalen Forschergruppe Grundlagen der Autofluoreszenz der äußeren Retina zu untersuchen und neue Informationen zur Physiologie/Pathophysiologie auf sub-zellulärer, molekularer und spektraler Ebene des RPEs zu gewinnen. Für seine wissenschaftlichen Arbeiten erhielt er mehrere Auszeichnungen und Preise und wurde im Juni 2017 in die US-amerikanische »The Macula Society« aufgenommen.

KONTAKT



Dr. med. Thomas Ach, M.Sc., FEBO

Universitätsklinikum Würzburg
Augenklinik und Poliklinik
Josef-Schneider-Straße 11
97080 Würzburg
Telefon: 0931 201-20602
Telefax: 0931 201-20245
E-Mail: ach_t@ukw.de

Neue Option zur Linderung und Erholung Trockener Augen – Quervernetzte Hyaluronsäure und Coenzym Q 10

Seit Mai 2017 steht mit den Augentropfen VisuXL eine neue und einzigartige Kombination zweier Inhaltsstoffe zur Symptomlinderung eines Trockenen Auges zur Verfügung. Erstmals kommt eine Kombination einer neuartigen, quervernetzten Hyaluronsäure (HA), Coenzym Q 10 (CoQ10) und Vitamin E TGPS auf der Augenoberfläche zum Einsatz. Die Quervernetzung der HA resultiert in einer 3-fach verlängerten Verweildauer auf der Augenoberfläche und hält das in diese flüssige Matrix eingebettete CoQ10, das eine wichtige Rolle bei der Funktion der Mitochondrien spielt, länger auf der Kornea.

Bereits in frühen Stadien eines Trockenen Auges treten Hornhautschäden auf. (Bron et al., Cornea 2003; 22 (7): 640-650). Ziel einer Therapie ist es, die daraus resultierenden Symptome zu lindern und die Erholung der Hornhaut zu begünstigen. VisuXL sind neue, konservierungsmittelfreie Augentropfen mit benetzenden und antioxidativen Eigenschaften. Die quervernetzte HA ist im Vergleich zur linearen Form stabiler und wirksamer (Muzzi et al., AOPT, Feb 2017) und verleiht VisuXL gute viskoelastische, mukomi-

metische und hydrierende Eigenschaften. Dies erlaubt in folgenden Fällen eine wirksame Behandlung: Trockenheit der Augen, Veränderungen der Hornhaut nach refraktiver Chirurgie, Trauma durch Fremdkörper oder chirurgische Eingriffe, Veränderungen der Augenoberfläche infolge von metabolischen Erkrankungen (Diabetes), Umweltstress, intensive und lange Exposition gegenüber UV- und ionisierenden Strahlungen, häufige und langanhaltende Nutzung von Computer oder Bildschirmen.

KONTAKT

VISUfarma GmbH
Kurfürstendamm 21
10719 Berlin
Tel.: 030 88706-3127
kundenservice@visufarma.com
www.visufarma.com

Augentropfen zur hochwertigen Linderung und Erholung bei Trockenen Augen

Patienten mit Trockenem Auge und einer Schädigung der Augenoberfläche benötigen eine effektive Therapie.

Schäden an der Augenoberfläche entstehen z.B. bereits in frühen Stadien eines Trockenen Auges.¹

VisuXL ist eine neue, einzigartige Kombination zweier Inhaltsstoffe: **quervernetzte Hyaluronsäure** und **Coenzym Q10**.

Während Coenzym Q10 die Erholung der Augenoberfläche beschleunigt,^{1,2} sorgt die quervernetzte Hyaluronsäure für eine langanhaltende Befeuchtung.³ Zusammen lindern sie die Symptome **trockener** und **geschädigter** Augen mit nur 2-3 x tropfen am Tag.¹⁻⁴

**Informieren Sie sich noch heute
über VisuXL.**

VisuXL.com

1. Gumus K. *Eye & contact Lens* 2017;43 (2):73-80.
2. Fogagnolo P et al. *Ophthalmologica* 2013;229(1): 26-31.
3. Muzzi M & Mencucci R. Association for Ocular Pharmacology and Therapeutics (AOPT) 13th Scientific Meeting, Feb 16-19 2017, Florence, Italy, Poster.
4. VisuXL IFU 12/2016.

VISU/DE/VIXL/0001



VisuXL

VISUfarma GmbH
Kurfürstendamm 21
10719 Berlin
T: +49 (0)30 88706-3127
kundenservice@visufarma.com

OCT-Angiographie: Chancen und Grenzen einer neuen Technologie

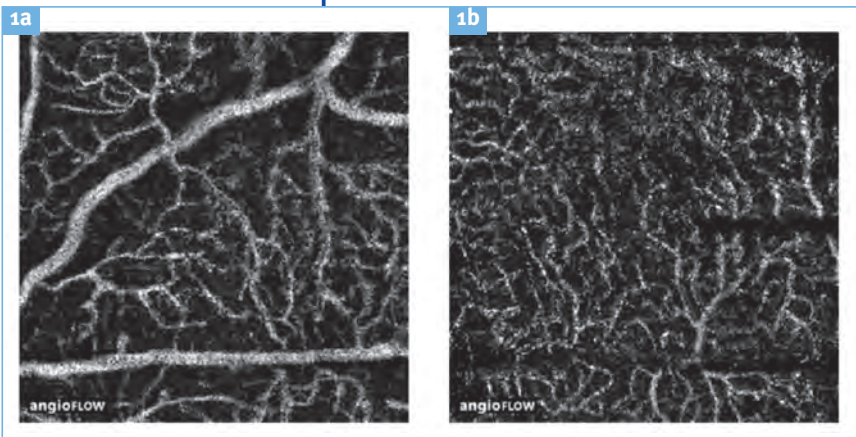
DR. MAGED ALNAWASEH, PRIV.-DOZ. DR. FLORIAN ALTEN,
DR. CHRISTOPH R. CLEMENS, PROF. DR. NICOLE ETER

Klinik für
Augenheilkunde,
Universitätsklinikum
Münster

Es lagen keine Interessen-
konflikte vor.

Abbildung 1

■ OCT-Angiographie einer
gesunden Mausretina.
A: Oberflächliches OCT
Angiogramm der Netzhaut;
B: tiefes OCT Angiogramm
der Netzhaut.



Eine neue vielversprechende Methode in der retinalen Bildgebung stellt die optische Kohärenztomographie Angiographie (OCT-A) dar, die erstmalig nicht-invasiv und schichtauflösend den Blutfluss in den Gefäßen der Netzhaut und der Aderhaut darstellen kann. Die Darstellung der retinalen und choroïdalen Gefäße war bis dato nur mit Hilfe der Fluoreszein (FAG)- und Indocyanin-grün (ICGA) -Angiographie möglich. Die OCT-A hat im Vergleich zur der FAG und ICGA zwei wichtige Vorteile:

Zum einen ist es möglich, mittels OCT-A den Blutfluss schichtaufgelöst darzustellen und damit die Gefäße in der Netzhaut in unterschiedlichen Ebenen getrennt voneinander zu visualisieren. Zum anderen erfordert die Durchführung der FAG und ICGA die intravenöse Gabe eines Farbstoffes, was nicht selten zu Nebenwirkungen führen kann [1, 2].

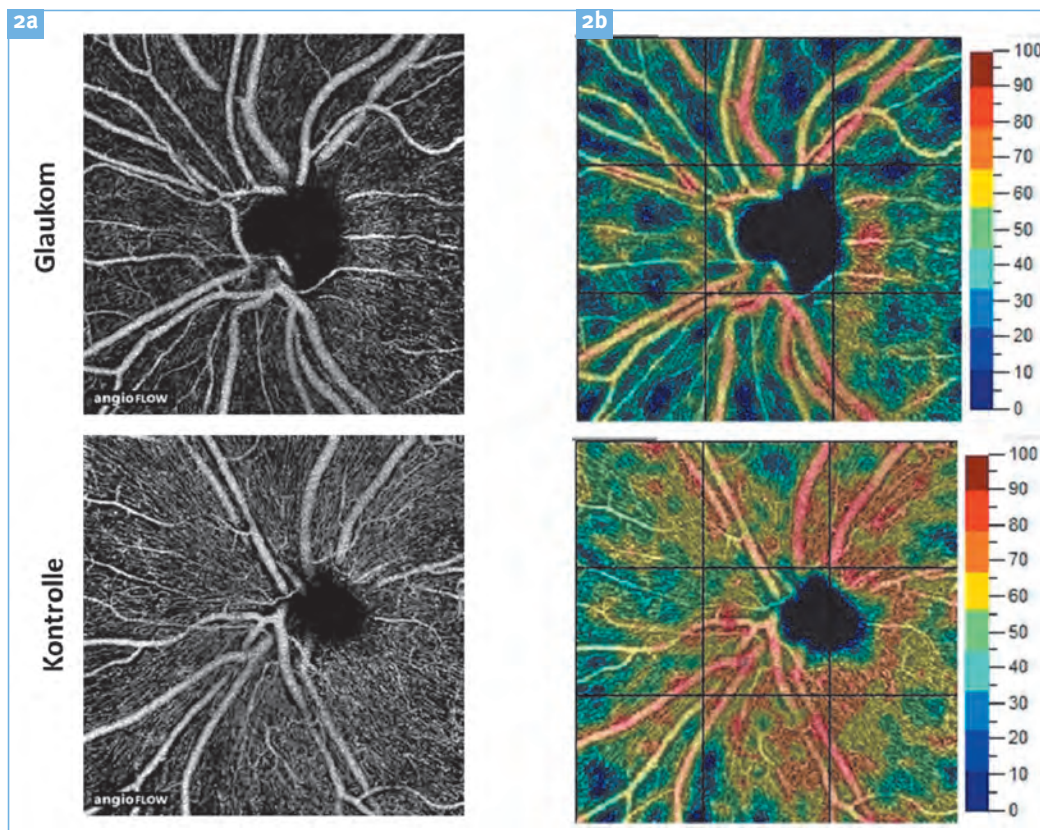
Basierend auf der OCT Technologie wird mittels Infrarot-Laser das von der Netzhaut reflektierte Licht von einem analogen in ein digitales Signal umgewandelt. Dabei werden Schichtaufnahmen der Netzhaut gesammelt, die von A- in B-Scans umgewandelt werden. Im Prinzip werden mehrere OCT-B-Scans einer bestimmten Stelle der Netzhaut aufgenommen. Dann werden die durchgeführten OCT-Aufnahmen in Bezug auf Bewegung analysiert: statisches Gewebe zeigt keine Veränderung, während Blutfluss einen Signalunterschied zwischen den Scans zeigt [3, 4]. Damit ist es möglich, gleichzeitig sowohl strukturelle Informationen als auch Details über den Blutfluss zu

generieren. Die Berechnung der dreidimensionalen angiographischen Informationen erfolgt mittels unterschiedlicher Algorithmen, beispielsweise der sogenannte Split-spectrum Amplituden Dekorrelations-Angiographie (SSADA) Algorithmus oder der Optical Mikroangiographie (OMAG) Algorithmus [5, 6].

EINSATZ IN DER KLINIK:

Die OCT-Angiographie ist eine sichere kontaktlose Untersuchungsmethode zur Gefäßdarstellung. Aktuell erscheint die Anwendung der OCT-A in der klinischen Praxis bei unterschiedlichen Erkrankungen sinnvoll. So ist es z.B möglich, die genaue dreidimensionale Konfiguration von Makroaneurysmata der retinalen Gefäßen zu visualisieren und thrombotische von nicht thrombotischen Bereichen zu unterscheiden [7]. Der Nutzen dieser Technologie für die klinische Praxis sowie für die ophthalmologische Forschung wurde in unterschiedlichen Arbeiten bei Patienten mit altersabhängiger Makuladegeneration, diabetischer Retinopathie, bei Gefäßverschlüssen der Netzhaut, makulären Telengieektasien Typ 2, Chorioretinopathia centralis serosa, Uveitis und Tumorerkrankungen beschrieben. Auch eine Anwendung im Tiermodell ist bereits von mehreren Arbeitsgruppen erfolgreich durchgeführt worden (**Abbildung 1**) [8–18].

So zeigte sich bei Diabetespatienten, dass die OCTA in der Lage ist, subklinische Befunde bei Patienten mit milden Formen der Retinopathie zur detektieren. Dies ist besonders sinnvoll in Fällen, in denen die FA nicht indiziert ist [12]. Kashani et al. zeigte in einer Pilot Studie an 25 Patienten mit einem venösen Gefäßverschluss, dass die OCT-A sehr gut mit den Befunden der FA korreliert und in der Lage ist, die klinisch relevanten Veränderungen in der Makula darzustellen [13]. Zusammenfassend kann man hier sagen dass, die OCT-A in der klinischen Praxis immer häufiger angewandt wird, häufig aber in Kombination mit FA und ICGA. Dies liegt an verschiedenen Faktoren wie den Limitationen der OCTA in Bezug auf die Beurteilung der peripheren Retina, und daran dass viele Retina- Spezialisten immer noch lernen, die Befunde der OCT-A besser zur interpretieren. Vorteilhaft ist die Technik sicherlich bei Patienten mit

**SCHLÜSSELWÖRTER:**

- OCT-Angiographie
- Flussdichte

Abbildung 2

■ OCT-Angiographie (A) und farbcodierte OCT-Angiographie Aufnahmen (B) eines Glaukom-Patienten (obere Zeile) und einer Gesunden Kontrolle (untere Zeile).

Farbstoffallergien, Patienten mit einer schweren Nierenerkrankung, sowie stillende und schwangere Patientinnen.

QUANTITATIVE ANALYSEN:

Im besonderen Focus der klinischen Forschung in der Ophthalmologie steht momentan die Möglichkeit der quantitativen Analyse mittels OCT-A. In mehreren Arbeiten wurden normative Daten, die Reproduzierbarkeit sowie der Einfluss von verschiedenen Faktoren auf die gemessene Flussdichte mittels OCT-A untersucht [19–21]. Hierbei zeigte sich sowohl im Tiermodell als auch bei gesunden Probanden, Glaukom-Patienten und bei Patienten mit unterschiedlichen Netzhaut- und systemischen Erkrankungen eine hohe Reproduzierbarkeit der gemessenen Flussdichte. [19, 23, 24, 25]

Veränderungen der gemessenen Flussdichte konnten bei verschiedener Erkrankung der Netzhaut und des Sehnervs gezeigt werden. Viele Arbeiten wurden in den vergangenen zwei Jahren zum Thema OCT-A und Glaukom veröffentlicht. So zeigte sich bei Glaukompatienten eine reduzierte

Flussdichte am Sehnerv sowie im Bereich der Makula im Vergleich zu gesunden Kontrollen (**Abbildung 2**). Das Ausmaß der reduzierten Flussdichte korrelierte zudem mit verschiedenen glaukomspezifischen strukturellen und funktionellen Parametern wie dem Gesichtsfeld oder der RNFL-Dicke [23, 26, 27]. Die Messungen der Flussdichte mittels OCT-A zeigte bei der Glaukom-Diagnostik eine vergleichbare Sensitivität im Vergleich zur RNFL-Messung [28]. Auch bei Patienten mit verschiedenen Netzhaut-Erkrankungen wie z.B. der Retinopathia Pigmentosa zeigten sich entsprechende Veränderungen der retinalen Gefäßdichte. Das Ausmaß der verminderten Durchblutung bei diesen Patienten korrelierte auch mit der funktionellen Einschränkung [29, 30].

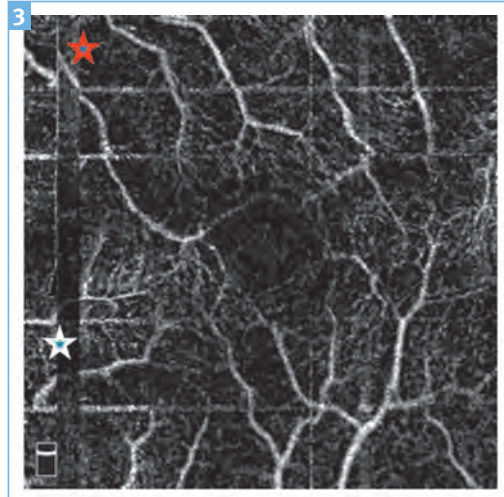
GRENZEN:

Trotz der rasanten technologischen Entwicklung der neuen Technik ist die OCT-A noch nicht in der Lage, die konventionelle Angiographie zu ersetzen. Hier spielen verschiedene Faktoren eine Rolle.

1. Die Durchführung von Aufnahmen in der Netzhautperipherie ist nicht möglich. Die Auf-

Abbildung 3

■ 3x3 mm² Aufnahme der Makula mit unterschiedlichen Bewegungsartefakten. Roter Stern: Gefäßversatz (»displacement«); weißer Stern: durchgängige schwarze Linie (»black line«), verursacht durch Blinzeln.



nahmefelder haben zuletzt deutlich an Größe zugenommen. Aktuell bieten einige Geräte eine 12mm x 12mm Aufnahme an. Ferner besteht die Möglichkeit einer sogenannten Composite Aufnahme, bei der die Information von mehreren Aufnahmen in einer zusammengeführt wird, um das Aufnahmegebiet zu vergrößern. Hier bleibt die OCT-A jedoch deutlich hinter einer konventionellen Widefield-Angiographie zurück.

2. Die Bildqualität leidet häufig unter verschiedenen Formen von Artefakten (**Abbildung 3**). Beispielsweise projizieren sich Gefäße der oberflächlichen Netzhautschichten in tieferliegende Schichten oder es entstehen Bewegungsartefakte aufgrund von Augenbewegungen bei der Durchführung der Aufnahmen. Diese Artefakte beeinflussen die Reproduzierbarkeit quantitativer Analysen. Die Integration eines Eye Tracking Systems hat hier zu einer deutlichen Verbesserung der Bildqualität geführt [31].
3. Die Interpretation der OCTA Daten wird dadurch erschwert, dass Fluss nur innerhalb bestimmter Grenze erfasst wird, sodass z. B. sehr langsamer Fluss wie in Mikroaneurysmata nicht immer erkannt werden kann.
4. Viele Phänomene der OCTA müssen noch weiter erforscht werden. Alte Phänomene und pathognomonische Zeichen aus den Zeiten der konventionellen Angiographie wie Leckage oder Pooling können bei der OCT-A nicht angewandt werden.

LITERATUR

1. Ha S.O., Kim D.Y., Sohn C.H., Lim K.S. Anaphylaxis caused by intravenous fluorescein: clinical characteristics and review of literature. Intern Emerg Med. 2014 Apr;9(3):325-30. doi: 10.1007/s11739-013-1019-6. Epub 2013 Nov 30.
2. Kwiterovich K.A., Maguire M.G., Murphy R.P., et al. Frequency of adverse systemic reactions after fluorescein angiography. Results of a prospective study. Ophthalmology. 1991 Jul; 98 (7): 1139–42.
3. Leitgeb R.A., Werkmeister R.M., Blatter C., et al. Doppler optical coherence tomography. Prog Retin Eye Res. 2014 Jul; 41: 26–43.
4. Spaide R.F., Fujimoto J.G., Waheed N.K. (2015) Image artifacts in optical coherence tomography angiography. Retina; 35 (11): 2163–80.
5. Wang R.K., An L., Francis P., Wilson D. (2010) Depth-resolved imaging of capillary networks in retina and choroid using ultrahigh sensitive optical microangiography. Opt Lett 35 (9): 1467–1469.
6. Jia Y., Tan O., Tokayer J., Potsaid B., Wang Y., Liu J.J., Kraus M.F., Subhash H., Fujimoto J.G., Hornegger J., Huang D. Split-spectrum amplitude-decorrelation angiography with optical coherence tomography. Opt Express. 2012 Feb 13; 20 (4): 4710–25. doi: 10.1364/OE.20.004710.
7. Alnawaiseh M., Schubert F., Nelis P., Wirths G., Rosentreter A., Eter N. Optical coherence tomography (OCT) angiography findings in retinal arterial macroaneurysms. BMC Ophthalmol. 2016 Jul 22; 16: 120.
8. Ishibazawa A., Nagaoka T., Takahashi A., et al. Optical Coherence Tomography Angiography in Diabetic Retinopathy: A Prospective Pilot Study. Am J Ophthalmol. 2015 Jul; 160 (1): 35-44.e1.
9. Maier M., Wehrmann K., Lohmann C.P., Feucht N. OCT Angiographie-Befunde bei akuter posteriorer multifokaler plakoider Pigmentepitheliopathie (APMPPE). Ophthalmologie 2017. 114 (1): 60–64.
10. Quaranta-El Maffouhi M., El Maffouhi A., et al. Chronic Central Serous Chorioretinopathy Imaged by Optical Coherence Tomographic Angiography. Am J Ophthalmol. 2015 pii: S0002-9394(15)00371-2.
11. Ng D.S., Bakhavatsalam M., Lai F.H., Cheung C.Y., Cheung G.C., Tang F.Y., Tsang C.W., Lai T.Y., Wong T.Y., Brelén M.E. Classification of Exudative Age-Related Macular Degeneration With Pachyvessels on En Face Swept-Source Optical Coherence Tomography. Invest Ophthalmol Vis Sci. 2017 Feb 1; 58 (2): 1054–1062. doi: 10.1167/iovs.16-20519.
12. de Carlo T.E., Chin A.T., Bonini Filho M.A., Adhi M., Branchini L., Salz D.A., Baumal C.R., Crawford C., Reichel E., Witkin A.J., Duker J.S., Waheed N.K. DETECTION OF MICROVASCULAR CHANGES IN EYES OF PATIENTS WITH DIABETES BUT NOT CLINICAL DIABETIC RETINOPATHY

- USING OPTICAL COHERENCE TOMOGRAPHY ANGIOGRAPHY. *Retina*. 2015 Nov; 35 (11): 2364–70.
13. Kashani A.H., Lee S.Y., Moshfeghi A., Durbin M.K., Puliafito C.A. OPTICAL COHERENCE TOMOGRAPHY ANGIOGRAPHY OF RETINAL VENOUS OCCLUSION. *Retina*. 2015 Nov; 35 (11): 2323–31.
 14. Spaide R.F., Klancnik J.M. Jr., Cooney M.J., Yannuzzi L.A., Balaratnasingam C., Dansingani K.K., Suzuki M. Volume-Rendering Optical Coherence Tomography Angiography of Macular Telangiectasia Type 2. *Ophthalmology*. 2015 Nov; 122 (11): 2261–9.
 15. Hassan M., Agarwal A., Afridi R., daSilva M.J., Karaca I., Sadiq M.A., Nguyen Q.D., Do D.V. The Role of Optical Coherence Tomography Angiography in the Management of Uveitis. *Int Ophthalmol Clin*. 2016 Fall; 56 (4): 1–24.
 16. Alnawaiseh M., Wirths G., Lahme L., Nelis P., Eter N. Unclear serous retinal detachment. *Ophthalmologie*. 2017 Apr 13.
 17. Mihailovic N., Alnawaiseh M., Merté R.L., Eter N. Choroidal neovascularisation in a patient with choroidal osteoma visualized by OCT angiography. *Ophthalmologie*. 2016 Nov 4.
 18. Alnawaiseh M., Rosentreter A., Hillmann A., et al. OCT angiography in the mouse: A novel evaluation method for vascular pathologies of the mouse retina. *Exp Eye Res*. 2016 Apr; 145: 417–23.
 19. Coscas F., Sellam A., Glacet-Bernard A., Jung C., Goudot M., Miere A., Souied E.H. Normative Data for Vascular Density in Superficial and Deep Capillary Plexuses of Healthy Adults Assessed by Optical Coherence Tomography Angiography. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2016 Jul 1; 57 (9): OCT211-23.
 20. Alten F., Heiduschka P., Clemens C.R., Eter N. Exploring choriocapillaris under reticular pseudodrusen using OCT-Angiography. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 2016 Nov; 254 (11): 2165–2173.
 21. Alnawaiseh M., Brand C., Laueremann J., Eter N. Messung der Flussdichte mittels OCT-Angiographie: Einfluss von Alter und Geschlecht. *Ophthalmologie* accepted.
 22. Alnawaiseh M., Lahme L.; Treder M.; Rosentreter A.; Eter N. The short-term effects of exercise on optic nerve and macular perfusion measured by Optical Coherence Tomography angiography. *Retina*. 2016 Dec 9.
 23. Jia Y., Wei E., Wang X., et al. Optical coherence tomography angiography of optic disc perfusion in glaucoma. *Ophthalmology*. 2014 Jul; 121 (7): 1322–32.
 24. Wang X., Jia Y., Spain R., Potsaid B., Liu J.J., Baumann B., Hornegger J., Fujimoto J.G., Wu Q., Huang D. Optical coherence tomography angiography of optic nerve head and parafovea in multiple sclerosis. *Br J Ophthalmol*. 2014 Oct; 98 (10): 1368–73.
 25. Li J., Yang Y.Q., Yang D.Y., Liu X.X., Sun Y.X., Wei S.F., Wang N.L. Reproducibility of Perfusion Parameters of Optic Disc and Macula in Rhesus Monkeys by Optical Coherence Tomography Angiography. *Chin Med J (Engl)*. 2016 May 5; 129 (9): 1087–90.
 26. Liu L., Jia Y., Takusagawa H.L., et al. (2015) Optical Coherence Tomography Angiography of the Peripapillary Retina in Glaucoma. *JAMA Ophthalmol*; 133 (9): 1045–52.
 27. Holló G. (2016) Intrasession and Between-Visit Variability of Sector Peripapillary Angioflow Vessel Density Values Measured with the Angiovue Optical Coherence Tomograph in Different Retinal Layers in Ocular Hypertension and Glaucoma. *PLoS One*; 11 (8): e0161631.
 28. Rao H.L., Pradhan Z.S., Weinreb R.N., Riyazuddin M., Dasari S., Venugopal J.P., Puttaiah N.K., Rao D.A.S., Devi S., Mansouri K., Webers C.A.B. Vessel Density and Structural Measurements of Optical Coherence Tomography in Primary Angle Closure and Primary Angle Closure Glaucoma. *Am J Ophthalmol*. 2017 May; 177: 106–115.
 29. Battaglia Parodi M., Cicinelli M.V., Rabiolo A., Pierro L., Gagliardi M., Bolognesi G., Bandello F. Vessel density analysis in patients with retinitis pigmentosa by means of optical coherence tomography angiography. *Br J Ophthalmol*. 2017 Apr; 101 (4): 428–432.
 30. Maged Alnawaiseh; Friederike Schubert; Peter Heiduschka, Nicole Eter. Optical coherence tomography angiography in patients with retinitis pigmentosa. under review
 31. Laueremann J.L., Treder M., Heiduschka P., Clemens C.R., Eter N., Alten F. Impact of eye-tracking technology on OCT-angiography imaging quality in age-related macular degeneration. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 2017 May 4.



Dr. med. Maged Alnawaiseh, FEBO ist Oberarzt an der Universitäts-Augenklinik Münster. Das Medizinstudium absolvierte er 2005-2011 an der Universität zu Köln. Die Approbation erfolgte am Institut für Neurophysiologische Universität zu Köln (2014, unter Prof. Dr. rer. nat. Toni Schneider) zum Thema »Die Rolle von zwei nickelsensitiven Kalziumkanälen bei der retinalen Signalübertragung und die Einflüsse von Hypericin auf die isolierte pigmentepithelfreie Netzhaut, Elektoretinographische Untersuchungen«. Unter anderem war er tätig an der American University of Beirut im Bereich der Chirurgie und am Zentrum für Augenheilkunde an der Universität zu Köln.

FÖRDERUNGEN UND AUSZEICHNUNGEN

Dr. med. Maged Alnawaiseh wurde bisher gefördert durch das Stipendium des Albertus-Magnus-Programmes der Universität zu Köln, das Köln Fortune (Forschungs-)Stipendium, ein Stipendium im Rahmen des NRW-Stipendienprogrammes und aus Mitteln der Stiftung Maria-Pech. Ferner erfolgte eine Förderung im Rahmen der Research Rotation des Interdisziplinären Zentrums für Klinische Forschungen Münster (IZKF).



Prof. Dr. med. Nicole Eter ist Lehrstuhlinhaberin und Direktorin der Klinik für Augenheilkunde am Universitätsklinikum Münster und seit diesem Jahr Prodekanin des Dekanats der Medizinischen Fakultät. Ihr Studium der Humanmedizin absolvierte sie an der Universität Bonn (1988–1994) und legte dort die Facharztprüfung zur Fachärztin für Augenheilkunde ab (1999). Die Promotion (1995) und Habilitation (2002) erfolgten ebenfalls an der medizinischen Fakultät der Universität Bonn. Seit 2010 hat sie eine W3-Professur mit

Leitungsfunktion an der Universität Münster. Sie ist seit 2016 Vizepräsidentin der Deutschen Ophthalmologischen Gesellschaft und zweite Vorsitzende der Vereinigung ophthalmologischer Lehrstuhlinhaber sowie Prüfärztin der Ärztekammer Westfalen-Lippe (seit 2012).

FÖRDERUNGEN UND AUSZEICHNUNGEN

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

KONTAKT



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



**Maren Kuhlmann -
EyeteC-Produktmanagerin**

ANGIO ONE SHOT WIDEFIELD

**Canon HS-100 - Das einzige SD-
OCT mit echter 3 μ m Auflösung**

- Premium Angio eXpert Software
- bis zu 12x4mm oder 10x10mm Angio Scans
- überragende Scanqualität durch 3D-Eyetracker
- Averaging von bis zu 200 Scans
- vollautomatische Messung

Canon

EYETEC

Ophthalmo-Technologie und Service



EyeteC GmbH, Maria-Goeppert-Str. 9
D-23562 Lübeck
Telefon: +49 (0)451 505 703 60
info@eyeteC.com, eyeteC.com

Augenerkrankungen in der älteren deutschen Bevölkerung: Populationsbasierte Analysen im Rahmen der Augenstudie der Universität Regensburg (AugUR)

DR. CAROLINE BRANDL^{1,2,3}, PRIV.-DOZ. DR. KLAUS J. STARK²,
DR. MARTINA E. ZIMMERMANN², PROF. DR. BERNHARD H.F. WEBER³,
PROF. DR. HORST HELBIG¹, PROF. DR. IRIS M. HEID²

1 Klinik und Poliklinik für Augenheilkunde, Universitätsklinikum Regensburg

2 Lehrstuhl für Genetische Epidemiologie, Universität Regensburg

3 Institut für Humangenetik, Universität Regensburg

EPIDEMIOLOGISCHE FORSCHUNG IN DEUTSCHLAND

Grundsätzliches Ziel epidemiologischer Forschung ist die Beschreibung der Häufigkeit von Erkrankungen und deren Risikofaktoren. Zur epidemiologischen Methodik gehören Beobachtungsstudien, welche zufällige Stichproben von wohlbeschriebenen Bevölkerungsgruppen standardisiert untersuchen (Querschnittstudien) bzw. nachverfolgen (Kohortenstudien), oder Fallstichproben, die mit geeigneten Kontrollstichproben verglichen werden (Fall-Kontroll-Studien). Die generierten Daten liefern wichtige Determinanten für Krankenversorgung, Präventionsprogramme und Forschungsmanagement.

Die Deutsche Ophthalmologische Gesellschaft (DOG) stellte 2012 in ihrem »Weißbuch zur Situation der ophthalmologischen Versorgung in Deutschland« fest, dass »über die Zahl der betroffenen Menschen, die an häufigen Augenerkrankungen leiden, [...] bislang nur wenige Studien vorliegen« [1]. In der Tat muss bei der Ermittlung von Sehbehinderung oder Blindheit in Deutschland auf internationale populationsbasierte Studien der Bevölkerung europäischer Abstammung außerhalb von Deutschland zurückgegriffen werden (z. B. Rotterdam-Studie, Beaver Dam Eye Studie, USA oder Blue Mountain Eye Studie, Australien [2–4]). Diese sind allerdings aus verschiedenen Gründen – wie unterschiedlicher Lebensstil, unterschiedlicher genetischer Hintergrund, etc. – nur bedingt übertragbar. Für Deutschland stellte die DOG klar: »Aus der ophthalmologischen Epidemiologie müssen daher bessere Daten als bisher über die Prävalenzen und Inzidenzen von Augenerkrankungen und von Risikofaktoren in der Bevölkerung generiert werden, wofür auch groß angelegte Bevölkerungsstudien nötig sind« [1].

Diese 2012 geschilderte Mangel-Situation hat sich durchaus gebessert durch ehrgeizige Projekte wie die Mainzer Gutenberg Gesundheitsstudie [5, 6] oder die Kooperative Gesundheitsforschung in der Region Augsburg (KORA Studie) [7, 8], welche

bereits epidemiologische Daten zu wesentlichen ophthalmologischen Phänotypen publizieren konnten. Die ophthalmologischen Analysen des KORA-Projektes finden auch im Rahmen einer engen Kooperation des Helmholtz Zentrums München mit dem Lehrstuhl für Genetische Epidemiologie sowie der Universitäts-Augenklinik Regensburg statt. Darüber hinaus wird beispielsweise im Rahmen der Rheinlandstudie in der Region Bonn [<http://www.rheinland-studie.de/>] sowie der NaKo Gesundheitsstudie deutschlandweit [9] im großen Stil rekrutiert. Diese Studien werden zukünftig wertvolle Erkenntnisse liefern.

In Regensburg wurde die Augenstudie der Universität Regensburg (AugUR) etabliert. Sie legt mit ihrem intensiven ophthalmologischen Studienprogramm einen Schwerpunkt auf Augenerkrankungen und fokussiert auf die ältere Bevölkerung über 70 Jahre [10]. So grenzt AugUR sich von anderen Projekten ab (z. B. NaKo Einschlussalter 20–69 Jahre) und ergänzt diese komplementär.

AUGUR ALS PLATTFORM FÜR UNTERSCHIEDLICHE ANALYSEN ZU ERKRANKUNGEN DES ALTERS – MIT HAUPTFOKUS AUF OPHTHALMOLOGISCHEN FRAGESTELLUNGEN

Mit der AugUR Studie wollen die Regensburger Forscher u. a. folgende Fragestellungen adressieren: Wie häufig sind die verschiedenen Augenerkrankungen in der älteren Bevölkerung und mit wie vielen Neuerkrankungen pro Jahr muss man rechnen? Unterscheidet sich die Erkrankungshäufigkeit zwischen Männern und Frauen, oder z. B. zwischen Rauchern und Nicht-Rauchern? Wie quantifiziert man einen Effekt durch das Rauchen und wie verändert sich dieser Effekt, wenn das Rauchen aufgegeben wird? Welche genetischen Faktoren spielen eine Rolle und zeigen diese eine Wechselwirkung mit Lebensstilfaktoren? Aus den erhobenen Daten lassen sich auch Aspekte der Versorgungsforschung aufzeigen: Welcher Anteil der älteren Personen kann vernünftig sehen? Sind sich diejenigen Personen, welche in den medizini-



Abbildung 1

■ Logo der AugUR Studie.

schen Untersuchungen im Studienzentrum Erkrankungen aufweisen, dieser Erkrankungen bewusst?

Im März 2013 startete die vom Bundesministerium für Bildung und Forschung (BMBF) geförderte AugUR Studie als Kooperationsprojekt des Lehrstuhls für Genetische Epidemiologie, der Universitäts-Augenklinik und des Instituts für Humangenetik an der Universität Regensburg. Mittlerweile wurde die erste Baseline-Rekrutierungsphase (AugUR I) abgeschlossen. Hierfür wurden per Zufallsstichprobe 5644 Personen über 70 Jahre aus Regensburg Stadt und weiteren 5 Gemeinden des Landkreises mittels schriftlicher

Einladung kontaktiert. 1.133 Probanden im Alter von 70 bis 95 Jahren wurden von 2013 bis 2015 im Studienzentrum am Universitätsklinikum Regensburg untersucht (Netto-Responderate 20.1%; 54.9% Männer [n=622], 45.1% Frauen [n=511]). Seit Mai 2016 läuft der 3-Jahres Follow-Up (bisheriger Follow-Up-Response 80.1%) sowie eine zweite Baseline-Rekrutierungswelle (AugUR II).

Das ca. 3-stündige Untersuchungsprogramm ist in **Tabelle 1** zusammengefasst. **Tabelle 2** gibt einen speziellen Überblick über die ophthalmologischen Testungen.

Tabelle 1

■ *Allgemeines Untersuchungsprogramm der AugUR-Studie.*

Untersuchte Kategorien	Methode/Gerät	Erhobene Parameter
Allgemeine Parameter	Interview-basierter Fragebogen	Alter, Geschlecht, Ethnizität, Familienstand, Bildung, Beruf
Lebensstilfaktoren	Interview-basierter Fragebogen	Körperliche Aktivität, Ernährungsgewohnheiten, Rauchen, Alkoholkonsum
Lebensqualität	Interview-basierter Fragebogen	Subjektiver Gesundheitszustand, generelle Kondition
Allgemeinerkrankungen	Interview-basierter Fragebogen	Diabetes, kardiovaskuläre Erkrankungen, Atemwege, Niere, Leber, Arthritis, Haut, Tumorerkrankungen
Medikation	Interview-basierter Fragebogen, Pharmazentralnummer	Aktuelle Medikamenteneinnahme
Anthropometrie und Fitness	Messstation, Maßband Dynamometer	Größe, Gewicht, Taillen- und Hüftumfang Handgreifkraft
Kardiovaskulär	Messstation Vascular Explorer Echokardiographie	Blutdruck, Puls Knöchel-Arm-Index, Pulswellengeschwindigkeit, Augmentationsindex Rechtsherz-/Linksherzfunktion und -masse, Herzklappen
Diabetes	AGE Reader Externes Labor	Haut-Autofluoreszenz (Glykosilierungs-Endprodukte) Serum Glukose, HbA1c
Blut-Parameter	Externes Labor	Großes Blutbild, C-reaktives Protein, LDL, HDL, Gesamt-Cholesterol, Triglyceride
Urin-Parameter	Clinitek®	Albumin: Kreatinin/Protein: Kreatinin-Ratio, Glucose, Ketone, Nitrit, pH, Erythrozyten, Leukozyten
Blut-Biobanking	-20°C, -80°C, Flüssig-Stickstoff	Vollblut, Plasma, Serum, RNA Überstand, RNA zelluläre Fraktion
Urin-Biobanking	-80°C, Flüssig-Stickstoff	Urin Überstand, Urin mit Pellet

Tabelle 2

■ *Ophthalmologisches Untersuchungsprogramm der AugUR-Studie.*

Untersuchte Kategorien	Methode/Gerät	Erhobene Parameter
Anamnese	Interview-basierter Fragebogen	Augenerkrankungen und/ oder ophthalmologische Interventionen
Visus	ETDRS Tafel, eigene Korrektur falls vorhanden	Retinale Funktion
Amsler Gitter	Schwarz-auf-weiß, 10x10 cm mit 0.5 cm Gitter	Metamorphopsien, Skotome, Retinale Funktion
Photostress Test	ETDRS Tafel und direktes Ophthalmoskop (Heine Beta 200 M2, Heine Optotechnik, Deutschland)	Photostress Recovery Time, Retinale Funktion
Retinale Bildgebung	DRS nicht-mydratische, vollautomatische Farbfunduskamera (Centervue, Italien), Spectralis SD-OCT+BluePeak (Heidelberg Engineering, Deutschland)	Detaillierte Evaluation zentraler retinaler Pathologien, AMD Klassifikation

Abkürzungen: ETDRS = Early Treatment Diabetic Retinopathy Study; DRS = Digital Retinography System; SD-OCT = Spectral Domain - optische Kohärenztomographie

Tabelle 3

■ Augenerkrankungen in der AugUR Studie, erhoben durch Selbstangabe der 1133 Teilnehmer.

Selbstangabe Augenerkrankungen	Teilnehmer, % (n)
Katarakt	49.0 (555)
Altersbedingte Makuladegeneration	6.7 (76)
Glaukom	7.3 (83)
Diabetische Retinopathie	1.2 (14)
Andere Augenerkrankungen, gesamt*	28.1 (318)
Sicca Syndrom	9.4 (107)
Erkrankungen der okulären Adnexe (z. B. Lidtumor, Fehlstellungen, Infektion)	1.9 (22)
Corneale Erkrankungen (z. B. Infektion, Pterygium)	2.0 (23)
Glaskörperdegenerationen (Mouches volantes, Floater)	2.7 (31)
Uveitis (inkl. Skleritis)	0.7 (8)
Retinale Erkrankungen (z. B. Ablösung, Loch/Riss, Ödem)	3.8 (43)
Retinale vaskuläre Erkrankungen (Gefäßverschlüsse, Blutungen)	2.9 (33)
Doppelbilder	1.7 (19)
Amblyopie	1.1 (13)
Trauma (schwer, z. B. Verlust des Auges)	0.2 (2)
Tumor (intraokulär)	0.1 (1)
Andere (z. B. keine genaueren Angaben)	1.1 (13)

*) Antworten wurden als Freitext dokumentiert, Mehrfachantworten waren möglich. Angaben sind noch nicht durch den niedergelassenen Augenarzt validiert.

Tabelle 4

■ Ophthalmologische Interventionen, erhoben durch Selbstangabe der 1133 Teilnehmer.

Selbstangabe ophthalmologische Interventionen	Teilnehmer, % (n)
Augeninterventionen, gesamt*	41.7 (473)
Katarakt-Op	34.2 (387)
Glaukom-Op	0.4 (4)
Lidchirurgie (z. B. Chalazion-Op, Korrektur von Fehlstellungen)	0.4 (5)
Hornhautchirurgie (z. B. Transplantation, Pterygium-Op)	0.4 (4)
Retinale Chirurgie (Buckel, Pars-Plana-Vitrektomie)	1.3 (15)
Strabologische Eingriffe	1.0 (11)
Intravitreale Injektionen	
Verschiedene Indikationen	1.1 (13)
Altersbedingte Makuladegeneration	1.3 (15)
Laserbehandlungen	
Retina (panretinal, Pexie)	2.6 (30)
Nachstar (Kapsulotomie)	6.4 (72)
Andere (z. B. keine genaueren Angaben)	1.9 (21)

*) Antworten wurden als Freitext dokumentiert, Mehrfachantworten waren möglich. Angaben sind noch nicht durch den niedergelassenen Augenarzt validiert.

ERSTE ERGEBNISSE DER AUGUR STUDIE

Die Auswertungen der AugUR I Querschnittserhebung haben mittlerweile erste Ergebnisse generiert. An dieser Stelle sollen beispielhaft die Häufigkeiten verschiedener, durch Selbstangabe erhobener Augenerkrankungen und ophthalmologischer Interventionen dargestellt werden (**Tabellen 3** und **4**); 34.2% der Probanden gaben keine ihnen bekannten Augenerkrankungen an.

Auch zum Sehvermögen gibt es Daten: Im Interview berichteten 3.6% der Studienteilnehmer, dass sie nicht in der Lage seien mit oder ohne entsprechender refraktiver Korrektur Zeitung zu lesen; 5.3% der Probanden können laut Selbstangabe nicht die Gesichter von Passanten erkennen. Andererseits verwenden lediglich 1.3% der Studienteilnehmer vergrößernde Sehhilfen. Hier deutet sich eventuell eine Unterversorgung an. Eine gute Versorgung scheint es im AugUR-Rekrutierungsgebiet hinsichtlich der Katarakt-Therapie zu geben: Bei 49.0% der Probanden wurde laut Selbstangabe eine Linsentrübung diagnostiziert, 69.9% davon sind Katarakt-operiert.

BEWERTUNG UND AUSBLICK

Folgende Überlegungen sollten zukünftig für den Bereich der epidemiologischen Forschung in der Ophthalmologie berücksichtigt werden:

Durch die weitere Alterung der Bevölkerung ist mit einer Zunahme chronischer Augenerkrankungen des Alters zu rechnen. Dies wird zu einem erheblichen Anstieg der Behandlungszahlen in der Augenheilkunde führen. Etwaige Präventionsmöglichkeiten werden noch mehr an Relevanz gewinnen. Epidemiologische Studien in der älteren Bevölkerung sind daher von entscheidender Bedeutung.

Darüber hinaus hat die neuere, multimodale retinale Bildgebung bislang noch kaum Eingang in die epidemiologisch-ophthalmologische Forschung gefunden. So basieren z. B. vorhandene bevölkerungsbasierte Daten zur Epidemiologie der AMD derzeit auf manuell klassifizierten Farbfundusfotografien. Multimodale Bildgebung muss zunehmend in populationsbasierten Studien eingesetzt werden, um eine deutlich sensitivere Definition und Detektion von Frühformen retinaler Erkrankungen zu ermöglichen. AugUR kann auf ein ausgedehntes ophthalmologisches bildgebendes Programm zurückgreifen und eine Vielzahl an Fragestellungen bearbeiten.

LITERATUR

1. Wolfram C.P., N. (2012) Weißbuch zur Situation der ophthalmologischen Versorgung in Deutschland. In: http://www.dog.org/wp-content/uploads/2013/03/DOG_Weissbuch_2012_fin.pdf.
2. Hofman A., Brusselle G.G., Darwish Murad S. et al. (2015) The Rotterdam Study: 2016 objectives and design update. *European journal of epidemiology* 30: 661–708.
3. Joachim N., Mitchell P., Burlutsky G. et al. (2015) The Incidence and Progression of Age-Related Macular Degeneration over 15 Years: The Blue Mountains Eye Study. *Ophthalmology* 122: 2482–2489.
4. Klein R., Klein B.E., Knudtson M.D. et al. (2007) Fifteen-year cumulative incidence of age-related macular degeneration: the Beaver Dam Eye Study. *Ophthalmology* 114: 253–262.
5. Hohn R., Kottler U., Peto T. et al. (2015) The ophthalmic branch of the Gutenberg Health Study: study design, cohort profile and self-reported diseases. *PLoS one* 10: e0120476.
6. Korb C.A., Kottler U.B., Wolfram C. et al. (2014) Prevalence of age-related macular degeneration in a large European cohort: results from the population-based Gutenberg Health Study. *Graefes archive for clinical and experimental ophthalmology = Albrecht von Graefes Archiv für klinische und experimentelle Ophthalmologie* 252: 1403–1411.
7. Brandl C., Breinlich V., Stark K.J. et al. (2016) Features of Age-Related Macular Degeneration in the General Adults and Their Dependency on Age, Sex, and Smoking: Results from the German KORA Study. *PLoS one* 11: e0167181.
8. Reitmeir P., Linkohr B., Heier M. et al. (2016) Common eye diseases in older adults of southern Germany: results from the KORA-Age study. *Age and ageing*.
9. Leitritz M.A., Hense H.W., Schiefer U. et al. (2013) [Development and first results of fast and cost-effective examination methods for an ophthalmological screening within the National Cohort]. *Klinische Monatsblätter für Augenheilkunde* 230: 1238–1246.
10. Stark K., Olden M., Brandl C. et al. (2015) The German AugUR study: study protocol of a prospective study to investigate chronic diseases in the elderly. *BMC geriatrics* 15: 130.

Dr. med. Caroline Brandl ist Fachärztin an der Klinik und Poliklinik für Augenheilkunde des Universitätsklinikums Regensburg (Direktor: Prof. Dr. med. Horst Helbig). Das Studium der Humanmedizin absolvierte sie von 2003 bis 2010 an der Fakultät für Medizin der Universität Regensburg. Im Jahr 2015 schloss sie ihre ophthalmologische Weiterbildungsassistenz mit deutschem und europäischem Facharzt (FEBO) ab. Sie widmet sich seit ihrer Promotion im Jahr 2008 zur Thematik okulärer Stammzellen (ausgezeichnet mit dem Promotionspreis der Frauenbeauftragten) unterschiedlichen Methoden und Ansätzen der Netzhautforschung. Neben einer Forschungskooperation mit dem Institut für Humangenetik Regensburg zur Evaluation induzierter pluripotenter Stammzellen als Disease Models, liegt ihr aktueller Schwerpunkt auf der Beantwortung komplexer epidemiologisch-ophthal-

mologischer Fragestellungen im Rahmen der AugUR Studie, an deren Initiierung sowie BMBF-Folgefinanzierung sie maßgeblich beteiligt war. Auch konnte sie Drittmittel für ophthalmologische Auswertungen der KORA Studie bei der ProRetina Stiftung einwerben.

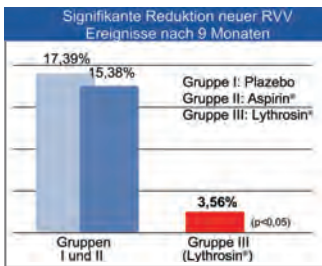
Dr. med. Caroline Brandl

Klinik und Poliklinik für Augenheilkunde
Universitätsklinikum Regensburg
Franz-Josef-Strauss-Allee 11
93042 Regensburg
Telefon: 0941 944-5214
Telefax: 0941 944-9202
E-Mail: Caroline.Brandl@ukr.de



KONTAKT





Lythrosin® Kapseln – Rekurrenz bei retinalem Venenverschluss (RVV) verringern

iatroVision setzt als Experte für vaskuläre Erkrankungen der Netzhaut neue Maßstäbe in der Sekundärprävention des retinalen Venenverschlusses (RVV) nach einem Erstereignis. Lythrosin® Kapseln wurden speziell für diese Patienten entwickelt und seine Substanzen sind im US-amerikanischen Arzneimittelbuch 34 definiert [1].

Literatur

1. USP Monograph. 34.1196-1197, 2011.
2. Pütter M. Thromb Res 95: 155-161, 1999.
3. Araghi-Niknam M. Integ Med 2: 73-77, 1999.
4. Rodriguez P. Panmin. Med. 57(3): 1215, 2015.

Normalisierung der Blutplättchenaktivität und Hemmung der Thromboxan-Biosynthese

Ein entscheidender und innovativer Vorteil von Lythrosin® Kapseln sind die gerinnungshemmenden Eigenschaften mit sensitiver antithrombotischer Wirkung ohne jedoch die Blutungszeit zu verlängern. Lythrosin® Kapseln inhibieren die Freisetzung von Thromboxan A2 (TxA2) aus Thrombozyten und senken konsekutiv den Thromboxan B2 (TxB2) Spiegel im Serum. Thromboxan B2 (der stabile Metabolit von TxA2) gilt als potenter Vasokonstriktor mit proaggregatorischen Eigenschaften [2,3].

fikant ($p < 0,05$) von 20/40 auf 20/25. Auch bei ödematösen Veränderungen der Retina konnte eine signifikante Verbesserung mittels OCT Untersuchungen festgestellt werden. In der Kontrollgruppe und der Aspirin® Gruppe gab es keine signifikanten Veränderungen. Weitere Ergebnisse zur laufenden Studie wird es in einem weiteren Follow-Up nach 24 Monaten geben [4].

Keine schwerwiegenden Nebenwirkungen

Lythrosin® Kapseln wurden sehr gut vertragen. Nachteilige Effekte auf die Blutungszeit zeigten sich nicht. Das hohe Sicherheitsprofil ist durch die US-amerikanische Behörde FDA zertifiziert. Bei der Anwendung von Lythrosin® Kapseln werden selten leichte Nebenwirkungen wie Magen-Darm-Beschwerden, Kopfschmerzen, Übelkeit und Schwindel berichtet. Bei einer sehr ausgeprägten arteriellen Hypotonie sollte Lythrosin® nicht eingesetzt werden.

KONTAKT

iatroVision GmbH
Expo Plaza 3
30539 Hannover
service@iatroVision.de
www.iatroVision.de

Signifikante Reduktion der rekurrenten RVV

In einer placebo-kontrollierten randomisierten Studie konnten Lythrosin® Kapseln das Wiederauftreten retinaler Venenverschlüsse nach 9 Monaten auf 3,56 % ($p < 0,05$) signifikant verringern. In der Kontrollgruppe war die Inzidenz des RVV signifikant um 4,88 mal höher als in der Lythrosin® Gruppe. Auch im Vergleich zu Aspirin® zeigte Lythrosin® eine um 4,32 niedrigere Inzidenz der RVV. Nach 9 Monaten verbesserte sich der Visus der Lythrosin® Gruppe signi-

Mit Lythrosin® Kapseln steht erstmals ein Präparat zur Sekundärprävention des retinalen Venenverschlusses (RVV) nach einem Erstereignis zur Verfügung.



Lythrosin®

- ✓ **Wirksam: Reduktion** neuer RVV Ereignisse¹ ($p < 0,05$)
- ✓ **Regulierend: Normalisierung** der Blutplättchenaktivität²
- ✓ **Verträglich: Hohes** Sicherheitsprofil (FDA Zertifikat)³

PZN 12575065

© 2017 iatroVision GmbH - EXPO Plaza 3, D-30539 Hannover
service@iatroVision.de, www.iatroVision.de



iatroVision
Gesundheit zum Leben.

¹ Rodríguez et al., Panminerva Med. Sep; 57 (3): 121-5, 2015 ² Araghi-Niknam M et al. Integ Med 2: 73-77, 1999
³ The United States Pharmacopeia Convention, 2007, USP Monograph. 30. 964-965, 2011, USP Monograph. 34.1196-1197



REMOGEN[®]
omega

DHA
EPA

Die ersten Augentropfen mit Omega-3-Fettsäuren

- Wirkt auf die drei Schichten des Tränenfilms
- Hypoosmolar
- Bei Trockenen Augen
- Bei Augenreizungen
- Auch mit Kontaktlinsen verwendbar
- Frei von Konservierungsstoffen



 TRB CHEMEDICA

TRB CHEMEDICA AG

 Telefon 0800/243 63 34 · Fax 0800/243 63 35
info@trbchemedica.de · www.trbchemedica.de

Aufnahme und Transport von Bevacizumab und Aflibercept in retinalen Endothelzellen

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

Klinik für
 Augenheilkunde
 Universitätsklinikum
 Ulm

Der Wachstumsfaktor »vascular endothelial growth factor-A« (VEGF-A) spielt bei der Pathogenese verschiedener okulärer Erkrankungen eine wichtige Rolle; seine Konzentration ist unter diesen Umständen in der Glaskörperflüssigkeit erhöht [1]. Folgerichtig werden an VEGF-A bindende Proteine wie Ranibizumab, Aflibercept und Bevacizumab erfolgreich zur Therapie z. B. des diabetischen Makulaödems eingesetzt, das auf der durch VEGF-A erhöhten Permeabilität retinaler Endothelzellen (REC) beruht [2–5]. Wir konnten in verschiedenen Studien mit immortalisierten retinalen Endothelzellen vom Rind (iBREC) zeigen, dass der VEGF-A-spezifische IgG Bevacizumab und das an verschiedene Mitglieder der VEGF-Familie bindende, rekombinante Fusionsprotein Aflibercept die durch die Spleißvariante VEGF-A₁₆₅ induzierte Schrankenstörung wieder rückgängig machen (**Abb. 1**) [6–11].

Da Antikörper und Fusionsproteine wie Aflibercept, die einen Fc-Terminus eines humanen IgG besitzen (**Abb. 1**), verstärkt intravitreal eingesetzt

werden, sind Studien zum Transportweg dieser Proteine aus dem Auge sehr wichtig. Interessanterweise sind Bevacizumab und Aflibercept nach intravitrealer Injektion in das Affenauge in verschiedenen okulären Strukturen lokalisiert u. a. in retinalen Gefäßen und dem retinalen Pigmentepithel (RPE) [12, 13]. Bevacizumab konnte nach Injektion ins Mausauge auch in den Endothelzellen der retinalen Gefäße nachgewiesen werden [14]. Daher scheint die Beteiligung von Strukturen des hinteren Augenabschnitts am Transport von IgG oder verwandten Molekülen aus dem Auge wahrscheinlich. Zudem bestätigen *in vitro*-Studien, dass IgG sowie Aflibercept von REC und von Zellen des RPE aufgenommen werden [15–18].

Wir haben jetzt am Modell der von uns etablierten Zelllinie iBREC in verschiedenen Studien untersucht, ob Aflibercept und Bevacizumab durch eine Einzelzellschicht transportiert werden. Dazu haben wir ein 2-Kammersystem verwendet, bei dem die beiden Kammern durch eine auf einer porösen Membran kultivierten Einzelzellschicht getrennt sind (Schema in **Abb. 2**). Bevacizumab oder Aflibercept – in physiologisch relevanter Konzentration von 250 µg/ml – wurden in eine der beiden Kammern gegeben, und der Überstand aus der gegenüberliegenden Kammer mittels Western Blot-Analysen auf das Vorhandensein des jeweiligen VEGF-bindenden Proteins untersucht. So konnten wir zeigen, dass beide VEGF-bindenden Proteine von iBREC von der basalen zur apikalen Seite der Zellen und in umgekehrter Richtung transportiert werden (**Abb. 2A**) [15, 16]. Für unsere Untersuchungen haben wir die Anordnung *basal*→*apikal* verwendet, da intravitreal verabreichte Proteine die retinalen Endothelzellen von der basalen Seite erreichen. Interessanterweise ist der Transport von Aflibercept oder Bevacizumab deutlich beschleunigt, wenn iBREC in Gegenwart von fötalem Rinderserum (FBS) kultiviert werden (**Abb. 2A**) [15, 16]. Unter diesen Umständen ist auch der überwiegende Teil der beiden VEGF-bindenden Proteine in der Fraktion zu finden, in der sich Proteine aus den Membranen oder Organellen befinden (**Abb. 2B**). Dagegen werden Bevacizumab und Aflibercept überwiegend zusammen mit Proteinen aus dem Zytoskelett isoliert, wenn iBREC in Abwesenheit von FBS kultiviert werden (**Abb. 2B**); der Effekt ist bei Bevacizumab deutlicher ausgeprägt [15, 16]. Außerdem ist die Menge des intrazellulären

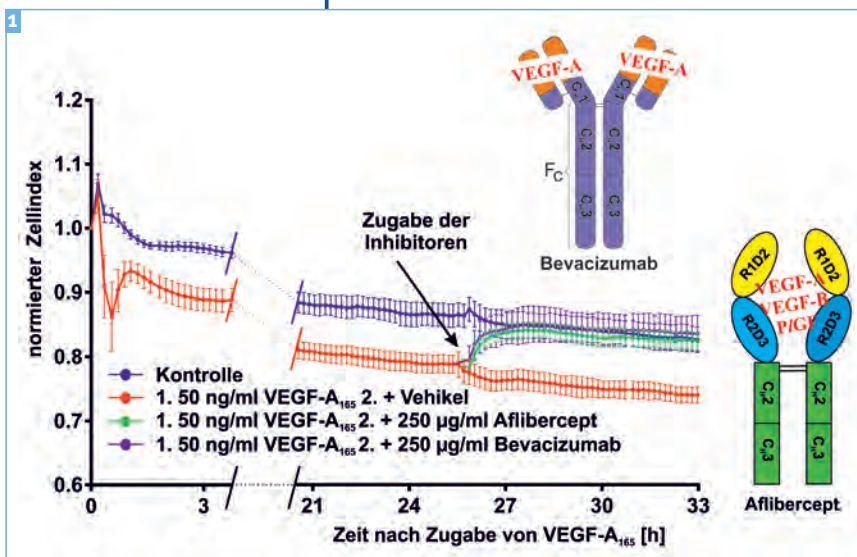


Abbildung 1

Die an VEGF-A bindenden Proteine Aflibercept und Bevacizumab machen die durch VEGF-A₁₆₅ hervorgerufene Störung der iBREC-Schranke wieder vollständig rückgängig. iBREC wurden auf Goldelektroden bis zur Ausbildung einer Einzelzellschicht kultiviert und 24 h mit VEGF-A₁₆₅ behandelt, bevor die VEGF-Inhibitoren zugegeben wurden. Als Maß für die Permeabilität wurde der Zellindex gemessen, der bei durchlässiger Zellschicht niedrig ist. Beide Inhibitoren erhöhen den in Gegenwart von VEGF-A₁₆₅ erniedrigten Zellindex in gleichem Maß.

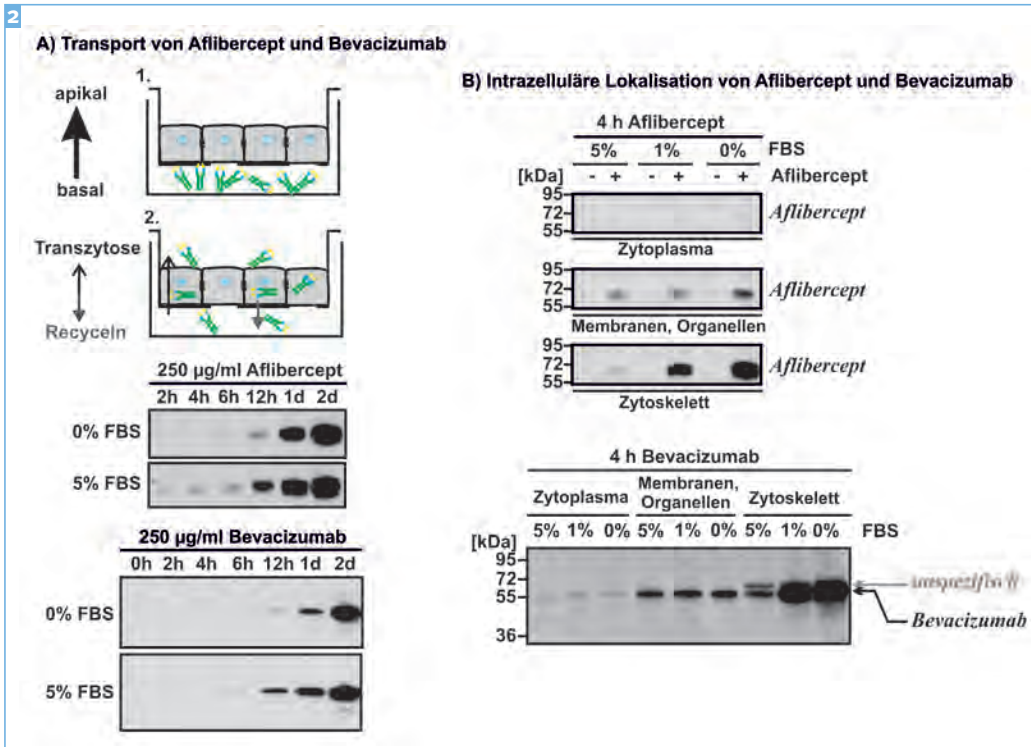


Abbildung 2

Transporteffizienz und intrazelluläre Lokalisation von Aflibercept und Bevacizumab sind abhängig vom Serumgehalt im Zellkulturmedium. (A) Nach Zugabe von Aflibercept bzw. Bevacizumab in die untere Kammer eines 2-Kammersystems wurde im Überstand der oberen Kammer auf das Vorhandensein des Inhibitors mittels Western Blot-Analysen getestet. Beide Inhibitoren werden durch die Einzelzellschicht transportiert, wobei der Transport in Anwesenheit von fötalem Rinderserum (FBS) im Zellkulturmedium erhöht ist. (B) iBREC wurden mit 250 µg/ml Aflibercept bzw. Bevacizumab für 4 h inkubiert bevor die Zellen zur Herstellung von fraktionierten Proteinextrakten gemetert wurden. In Anwesenheit von FBS werden beide Inhibitoren überwiegend zusammen mit Proteinen aus Membranen bzw. Organellen, bei Abwesenheit von FBS dagegen bevorzugt zusammen mit Proteinen des Zytoskeletts isoliert.

Aflibercepts und Bevacizumabs unter diesen Umständen viel höher; dies deutet auf eine Störung des intrazellulären Transports hin. Erste Ergebnisse unserer laufenden Studie zeigen, dass einige am intrazellulären Transport beteiligte Proteine tatsächlich serumabhängig exprimiert sind.

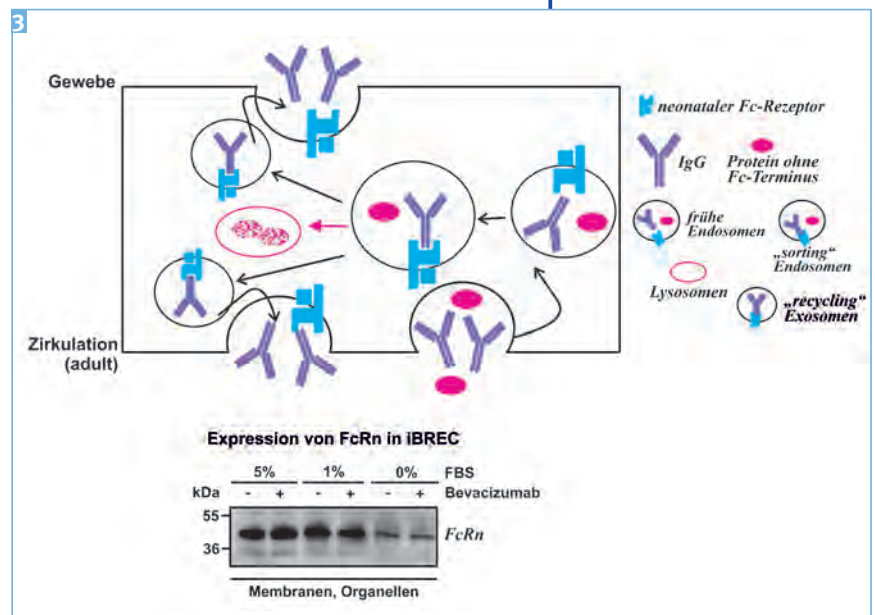
Dass die intrazelluläre Menge von Aflibercept und Bevacizumab bei niedrigeren Kultivierungstemperaturen geringer ist, deutet auf einen aktiven Transport der beiden Proteine hin [15, 16]. Ein offensichtliches Kandidatenprotein für den intrazellulären Transport von IgG oder verwandten Proteinen ist der neonatale Fc-Rezeptor/Transporter (FcRn), der von (retinalen) Endothelzellen aufgenommenes IgG in frühen Endosomen bei niedrigem pH-Wert bindet (Schema in Abb. 3) [19, 20]. Über sogenannte »sorting«-Endosomen, in denen

z. B. Proteine ohne Fc-Terminus sowie nicht gebundenes IgG vom IgG/FcRn-Komplex getrennt werden, wird der Komplex von »recycling«-Exosomen entweder zur gegenüberliegenden Zellseite oder zu der Seite der Aufnahme transportiert; dort erfolgt die Freisetzung des IgG bei physiologischen pH [20]. So wird das an den FcRn gebundene IgG vor Abbau in den Lysosomen geschützt. Verschiedene Gewebe exprimieren den FcRn, darunter auch okuläre Strukturen wie retinale Gefäße oder RPE [21]. Interessanterweise nimmt die Expression von FcRn durch iBREC ab, wenn die Zellen in Abwesenheit von FBS kultiviert werden (Abb. 3) [15, 16]. Da der FcRn einen IgG im Bereich des Fc-Terminus bindet, liegt die Annahme nahe,

Abbildung 3

Der am Transport von IgG beteiligte neonatale Fc-Rezeptor wird von iBREC serumabhängig exprimiert.

Der neonatale Fc-Rezeptor (FcRn) ist in frühen Endosomen lokalisiert, wo er von der Zelle aufgenommenes IgG am Fc-Terminus bei pH ~6 bindet. Der Komplex wird dann über »sorting«-Endosomen und »recycling«-Exosomen entweder zu der Seite der IgG-Aufnahme oder zur gegenüberliegenden Seite transportiert. Dort wird das IgG bei neutralem pH wieder abgegeben. iBREC exprimieren den FcRn, wobei das Signal nur in der Fraktion gefunden wird, die Proteine aus Membranen bzw. Organellen enthält. Mit abnehmendem Gehalt von FBS im Zellkulturmedium sinkt die Menge von FcRn.



dass FcRn eine Rolle beim intrazellulären Transport verschiedener Fc-Terminus-tragenden Proteine wie auch Aflibercept spielt. Im Einklang mit dieser Hypothese ist unsere Beobachtung, dass ca. 4 h nach ihrer Zugabe sowohl Aflibercept als auch Bevacizumab in frühen Endosomen lokalisiert sind, die durch die Expression des Proteins EEA1 gekennzeichnet sind [15, 16]. In humanen mikrovaskulären Endothelzellen sind der FcRn und EEA1 zusammen in frühen Endosomen lokalisiert [20].

Sollte ein Komplex aus dem FcRn mit Bevacizumab bzw. Aflibercept tatsächlich eine Rolle beim intrazellulären Transport beider Proteine spielen, müssten Transport oder Lokalisation verändert sein, wenn man die Bildung dieses Komplexes unterbindet. Als Hilfsmittel bietet sich dafür Protein A von *S. aureus* an, das an IgG im Fc-Terminus in der gleichen Region wie der FcRn bindet und somit die Interaktion zwischen IgG und dem FcRn verhindert (Schema in **Abb. 4**) [22, 23]. In der Folge kann der Komplex aus IgG und FcRn nicht gebildet werden und das IgG wird in den Zellen abgebaut. Tatsächlich ist der Transport von Aflibercept und von Bevacizumab in Gegenwart von Protein A deutlich verlangsamt (**Abb. 4A**). Auch die Menge des zusammen mit Proteinen aus Membranen und

Organellen isolierten Bevacizumabs und Aflibercepts ist erheblich verringert, wenn iBREC zusammen mit den VEGF-bindenden Proteinen und Protein A inkubiert werden (**Abb. 4B**) [15, 16].

Wir konnten somit zeigen, dass Fc-Terminus tragende Proteine wie z.B. Bevacizumab oder Aflibercept durch eine iBREC-Einzelzellschicht transportiert werden und dass an diesem Prozess vermutlich der FcRn beteiligt ist.

1. Werden iBREC bei 4°C anstelle von 37°C kultiviert, befindet sich weniger Bevacizumab oder Aflibercept in den Zellen; es findet also ein aktiver intrazellulärer Transport der beiden VEGF-bindenden Proteine statt.
2. Aflibercept und Bevacizumab sind in iBREC in frühen Endosomen lokalisiert, in denen sich auch der FcRn befindet.
3. Wird die Interaktion zwischen dem FcRn und Aflibercept bzw. Bevacizumab verhindert, werden beide Proteine langsamer durch die Einzelzellschicht transportiert und es befindet sich auch weniger Aflibercept bzw. Bevacizumab in den Zellen.

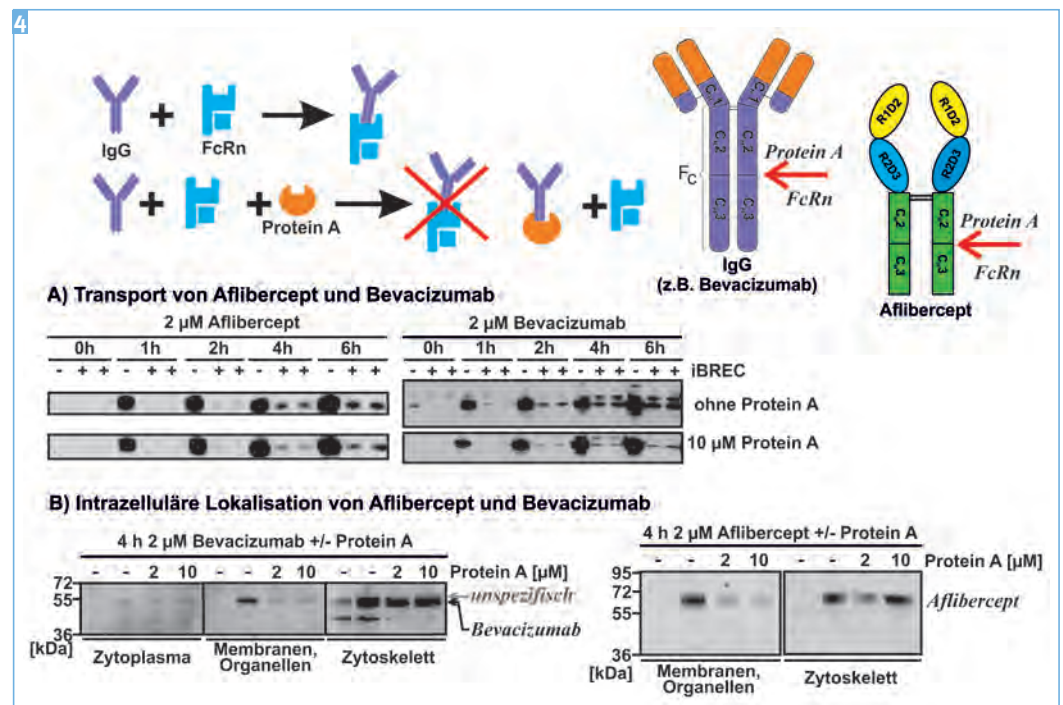


Abbildung 4

Das mit dem FcRn um die Bindung an den Fc-Terminus konkurrierende bakterielle Protein A verringert Transporteffizienz und intrazelluläre Menge von Aflibercept und Bevacizumab.

Protein A von *S. aureus* bindet in der gleichen Region des Fc-Terminus zwischen den Bereichen C₂H und C₃H der schweren Kette wie der FcRn. Der den IgG vor dem Abbau schützende Komplex aus IgG und FcRn kann sich dann nicht bilden. (A) Tatsächlich ist der Transport von Aflibercept oder Bevacizumab durch die iBREC-Einzelzellschicht in Gegenwart des 5fachen Überschusses an Protein A deutlich verringert. (B) Ebenso befindet sich weniger Aflibercept bzw. Bevacizumab in der Fraktion, die Proteine aus den Membranen bzw. Organellen enthält, wenn iBREC zusammen mit Protein A und den VEGF-Inhibitoren kultiviert werden.

Auch in vivo scheint der FcRn für den okulären Transport von Bevacizumab eine Rolle zu spielen: Bevacizumab wurde in REC nach intravitrealer Injektion in das Mausauge nur dann nachgewiesen, wenn die Mäuse den FcRn exprimierten [14]. Dass Aflibercept, Bevacizumab und Fc-Fragmente nach intravitrealer Injektion in retinalen Gefäßen und im RPE detektiert wurden, zeigt die Beteiligung dieser Strukturen am Transport von IgG oder Fc-Fusionsproteinen aus dem Auge [12, 13, 24]. Außerdem scheint vor allem der Fc-Terminus für die Art des Transportes von entscheidender Bedeutung zu sein.

In weiterführenden Projekten wollen wir Proteine identifizieren, die außer dem FcRn am intrazellulären Transport von IgG oder Fc-Fusionsproteinen beteiligt sind, um den Transport therapeutisch bedeutsamer Proteine durch die Endothelzellschicht besser verstehen zu können.

LITERATUR

1. Aiello L. P. et al. N Engl J Med 1994; 331: 1480–1487.
2. Qaum T. et al. Invest Ophthalmol Vis Sci 2001; 42: 2408–2413.
3. Arevalo J. F. et al. J Ophthalmol 2011: Article ID 584238.
4. Lang G. E. et al. Ophthalmology 2013; 120: 2004–2012.
5. Do D. V. et al. Ophthalmology 2012; 119: 1658–1665.
6. Presta L. G. et al. Cancer Res 1997; 57: 4593–4599.
7. Holash J. et al. Proc Natl Acad Sci USA 2002; 99: 11393–11398.
8. Deissler H. L. et al. Int J Mol Med 2005; 15: 65–70.
9. Deissler H. L. et al. Br J Ophthalmol 2012; 96: 1023–1028.
10. Deissler H. L. et al. Exp Eye Res 2013; 115: 162–171.
11. Deissler H. L. et al. Exp Eye Res 2014; 22: 20–31.
12. Heiduschka P. et al. Invest Ophthalmol Vis Sci 2007; 48: 2814–2823.
13. Julien S. et al. Br J Ophthalmol 2014; 98: 813–825.
14. Kim H. et al. Mol Vis 2009; 15: 2803–2812.
15. Deissler H. L. et al. Exp Eye Res 2016; 143: 49–59.
16. Deissler H. L. et al. Exp Eye Res 2017; 154: 39–46.
17. Aboul Naga S. H. et al. Exp Eye Res 2015; 131: 29–41.
18. Dithmer M. et al., Exp Eye Res 2016; 145: 187–205.
19. Junghans R. P. et al. Proc Natl Acad Sci USA 1996; 93: 5512–5516.
20. Ward E. S. et al. Int Immunol 2003; 15: 187–195.
21. Powner M. B. et al. Invest Ophthalmol Vis Sci 2014; 55: 1607–1615.
22. Raghavan M. et al. Immunity 1994; 1: 303–315.
23. Wines B. D., Powell M. S., Parren P. W. et al., J Immunol 2000; 164: 5313–5318.
24. Taubitz T. et al. Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol 2016; 254: 2401–2409.

DANKSAGUNG

Die Autoren bedanken sich bei Novartis Pharma GmbH, Nürnberg und Bayer Vital GmbH, Leverkusen für die finanzielle Unterstützung der diesem Bericht zugrunde liegenden Projekte.

Dr. rer. nat. Heidrun Deißler leitet seit Anfang 2003 das Forschungslabor der Klinik für Augenheilkunde am Universitätsklinikum Ulm. Nach Abschluss ihres Studiums der Chemie an den Universitäten Essen und Marburg promovierte sie 1993 in Essen und war nach einem Forschungsaufenthalt an der University of Glasgow als wissenschaftliche Mitarbeiterin am Institut für Genetik der Universität zu Köln bis 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 der Aufklärung molekularer Mechanismen, die bei der Pathogenese der Diabetischen Retinopathie und des Makulaödems eine Rolle spielen. Außerdem interessiert sie sich für die Bedeutung retinaler Endothelzellen beim Transport intravitreal verabreichter Proteine.

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 Forschungsförde-

rungen der Novartis Pharma GmbH und der Bayer Vital 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 EYEnovative Förderpreis der Novartis Pharma GmbH 2011 gewürdigt. Frau Dr. Deißler ist außerdem Gutachterin für internationale Fachzeitschriften und Mitglied verschiedener wissenschaftlicher Gesellschaften.

Dr. rer. nat. Heidrun Deißler

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



KONTAKT





KONTAKT



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

2009–2010 und Präsident des World Ophthalmology Congress 2010 in Berlin. Sein klinischer Schwerpunkt liegt im Bereich der vorderen Augenabschnitte.

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

Prof. Dr. Gerhard K. Lang
Direktor der
Klinik für Augenheilkunde
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 200 Publikationen in wissenschaftlichen Zeitschriften. Sie hat über 40 Buchkapitel geschrieben und ein Buch über »Diabetische Retinopathie«, »Photodynamische Therapie« und »Augenheilkunde Essentials« herausgegeben. Sie ist Mitglied in mehreren nationalen und internationalen Advisory Boards und Steering Committees. Sie ist verantwortlich für zahlreiche, durch Drittmittel geförderte Forschungsprojekte der Universitäts-Augenklinik Ulm, unter anderem von der EU geförderten Consortiums-Studien.

Prof. Dr. Gabriele E. Lang
Leiterin der Sektion
Konservative Retinologie
und Laserchirurgie
Klinik für Augenheilkunde
Universitätsklinikum Ulm
Prittwitzstraße 43
89075 Ulm

LENTIS® Comfort | Comfort^{toric}

Erleben Sie Komfort
ohne Kompromisse



Probleme beim Lesen im Alltag?



Kompetente Beratung



LENTIS® Comfort
Den Alltag
wieder scharf
sehen!
(ab ca. 50cm)

Grauer Star	<input checked="" type="checkbox"/>
Weniger Brille bei:	
Computer	<input checked="" type="checkbox"/>
Smartphone	<input checked="" type="checkbox"/>
Autofahren	<input checked="" type="checkbox"/>
Einlaufen	<input checked="" type="checkbox"/>

Wieder Spaß am PC, beim Autofahren ...



Katarakt? Presbyopie?

Bilder sagen mehr als tausend Worte. Schauen Sie es sich an! www.youtube.com/oculentis



DIE EXPERTEN FÜR MOBILE OP-TISCHE OPHTHALMOLOGIE

BRUMABA entwickelt, designed und produziert in Deutschland hochwertige und zuverlässige Operationstische

Die BRUMABA GmbH & Co.KG ist ein deutsches Familienunternehmen mit Spezialisierung auf mobile OP-Tische. Seit 1980 stellt BRUMABA OP-Tische her, die dem aktuellen Stand der Ophthalmologie entsprechen. Ziel ist es, dem Operateur optimalen Zugriff auf den Patienten zu garantieren sowie Patienten sicher und vor allem entspannt zu lagern.

BRUMABA Operationstische gibt es für unterschiedliche Anwendungsbereiche. Wichtige Grundprinzipien sind Mobilität und Langlebigkeit. Für die Ophthalmologie kam es mit darauf an, die OP-Abläufe zu optimieren. BRUMABA OP-Tische lassen sich auf ausgereiften Fahrwerken leicht und einfach verschieben. Aufwändiges Umbetten von Patienten entfällt. Das spart Zeit und entlastet das OP-Personal. Hochwertige Materialien, Edelstahl und beste Verarbeitung sorgen für wartungsarmen und dauerhaften Gebrauch in Klinik und Praxis. Die Stromversorgung der OP-Tische erfolgt über zuverlässige und leistungsstarke Akkus. Die Lade-Kapazität reicht für ca. 150 OP-Zyklen. Das bedeutet, erst nach ca. zwei Wochen muss der Akku erneut geladen werden.

Über ein ausgereiftes und leistungsstarkes Hubsystem lassen sich die OP-Tische schnell und geräuschlos in verschiedenste Positionen fahren. Neben individuellen Einstellungen des

OP-Tisches können zusätzlich acht „Memory Positionen“ programmiert werden. Dies ermöglicht dem Operateur jederzeit ergonomisches sowie ermüdungsfreies Arbeiten. Die bewusst gewählte schlanke Bauweise der BRUMABA OP-Tische gibt dem OP-Personal maximale Beinfreiheit. Moderne Visko-Polster in unterschiedlichen Stärken passen sich den Patienten optimal an und sorgen für ruhiges und bequemes Liegen.

Alle BRUMABA Produkte werden in Deutschland entwickelt, designed und produziert. Die Entwicklungsingenieure stehen in engem Kontakt mit den Anwendern und profitieren so vom intensiven Gedankenaustausch. Praxisorientierung bis ins kleinste Detail ist bei BRUMABA der Maßstab für alle Produkte. Funktionalität und modernes Design bilden eine Einheit.

Bewährte Produkte für die Ophthalmologie sind:



GENIUS EYE
ART. NR. Y1.01.12



GENIUS EYE PRO
ART. NR. Y1.02.12



TRONUS
ART. NR. T2.01.00



BALANCE ADVANCE
ART. NR. H2.11.12

OP-TISCH
SYSTEME

OP-STÜHLE
& HOCKER

PATIENTEN
TRANSPORT
STÜHLE



KATALOG KOSTENLOS ANFORDERN:

Telefon: +49 (0) 8171 / 2672 - 0
Fax: +49 (0) 8171 / 2672 - 10

eMail: info@brumaba.de
Internet: www.brumaba.de

DESIGNED, ENGINEERED AND MANUFACTURED SINCE 1980
MADE IN GERMANY

BRUMABA
OPERATING TABLE SYSTEMS

BRUMABA GmbH & Co. KG Bgm.-Finsterwalder-Ring 11
82515 Wolfratshausen

DIE EXPERTEN FÜR MOBILE OP-TISCHE

OPHTHALMOLOGIE



OP-STUHL
BALANCE ADVANCE
ART. NR. H2.11.12



OP-TISCH
GENIUS EYE
ART. NR. Y1.01.12

OP-TISCH
SYSTEME

OP-STÜHLE
& HOCKER

PATIENTEN
TRANSPORT
STÜHLE



KATALOG KOSTENLOS ANFORDERN:

Telefon: +49 (0) 8171 / 2672 - 0
Fax: +49 (0) 8171 / 2672 - 10

eMail: info@brumaba.de
Internet: www.brumaba.de

BRUMABA GmbH & Co. KG
Bgm.-Finsterwalder-Ring 11
82515 Wolfratshausen


BRUMABA
OPERATING TABLE SYSTEMS

Gentherapie für Netzhauterkrankungen

PROF. DR. DR. M. DOMINIK FISCHER^{1,2,3}, PROF. DR. MARIUS UEFFING²,
PROF. DR. K. ULRICH BARTZ-SCHMIDT¹

1 Universitäts-Augenklinik

2 Forschungsinstitut für Augenheilkunde,
Department für Augenheilkunde,
Tübingen

3 Nuffield Laboratory of Ophthalmology,
Nuffield Department of Clinical
Neurosciences,
University of Oxford

Genetik ist eine Disziplin, welche mit der Augenheilkunde seit jeher eng verbunden ist – bereits Hippokrates und Plutarch beschreiben die Vererbung ophthalmologischer Merkmale [1]. Dank des technologischen Fortschritts und der beharrlichen Arbeit von Ärzten und Wissenschaftlern kennt man heute mehr als 250 Gene, deren Mutation Erkrankungen am Auge verursachen (<https://sph.uth.edu/retnet/>). Als in der Mitte des 20. Jahrhunderts klar wurde, dass die DNA (und nicht Proteine) Träger der Erbinformation ist [2] und beobachtet wurde, wie Viren mit dem Transfer von DNA neues genetischen Material in Zielzellen einbringen [3], wurde die Idee zur therapeutischen Verwendung solch eines Gentransfers geboren [4]. Gentherapie bedeutet demnach das Einbringen einer therapeutischen Nukleinsäure (z. B. DNA) in die Zielzelle eines Patienten mit dem Ziel einen genetischen Defekt zu beheben oder auszugleichen [5].

Bei vielen Mutationen langt bereits ein gesundes Allel aus um die Ausprägung eines Phänotyps zu verhindern (rezessiver Erbgang). Nach diesem Prinzip kann das Einbringen einer gesunden Kopie des mutierten Gens in die Zielzelle eines Patienten mit Mutationen in beiden Allelen des somatischen Genoms ebenfalls einen solchen Phänotyp verhindern, bzw. als »drittes Allel« die Erkrankung stoppen. In der Tat zeigen Gentherapien nach dieser Strategie einen therapeutischen Effekt [6–9].

Anwendung findet solch eine Strategie bisher vor allem bei erblichen Netzhauterkrankungen, welche zur Erblindung führen. Die erste klinische Prüfung einer retinalen Gentherapie wurde vor 10 Jahren in London durch James Bainbridge durchgeführt [10]. Ergebnisse dieser und kurz darauf folgender Studien zeigten, dass solch eine Gentherapie grundsätzlich ohne schwere Nebenwirkungen angewendet werden kann und dass diese darüber hinaus zu einer klinisch relevanten und statistisch signifikanten Verbesserung der Sehfunktion führen kann [6–8]. Durch die große genetische Heterogenität vieler Netzhauterkrankungen (>250 verschiedene Gene) besteht nun ein Impetus weitere Varianten retinaler Gentherapien zu entwickeln [11].

Am Department für Augenheilkunde in Tübingen konnten 2015 und 2016 die ersten klinischen Studien zur retinalen Gentherapie initiiert werden. Diesen gingen fast 25 Jahre intensiver Vorarbeiten in der Grundlagenforschung voraus [12–35]. Die erste Anwendung retinaler Gentherapie in Deutschland erfolgte im November 2015 durch Prof. Bartz-Schmidt und Prof. Fischer an einem Patienten mit CNGA3-assoziiierter Achromatopsie. Dies war zugleich die erste Gentherapie für Achromatopsie weltweit. Gefördert von der Tistou und Charlotte Kerstan Stiftung konnte das RD-CURE Konsortium die dafür notwendigen Vorarbeiten leisten und die Studie finanzieren. In den Vorarbeiten zeigte sich, dass die Gentherapie für Achromatopsie mittels Adenoassoziierter Viren (AAV) prinzipiell geeignet ist um das fehlen jeglicher Zapfenfunktion bei Achromatopsie zu beheben [31]. Im Mausmodell der CNGA3-assoziierten Achromatopsie konnte gezeigt werden, dass das Einbringen des fehlenden Cnga3 Gens einen therapeutischen Effekt hat und der Maus erlaubt nun auch die Zapfenphotorezeptoren für einen Seheindruck zu verwenden.

Die Sicherheitsstudien im Vorfeld der klinischen Prüfung wurde an Cynomolgen durchgeführt und konnte zeigen, dass die subretinale Injektion des Genterapeutikums mittels Induktion einer transienten neurosensorischen Abhebung keinen klinisch signifikanten Schaden verursacht [36, 37]. Im direkten Vergleich zwischen Tieren nach subretinaler bzw. intravitrealer Applikation des Genterapeutikums zeigte die äußere Körnerschichtdicke in der Fovea einen leichten Verlust von $6.5 \pm 9.7 \mu\text{m}$ nach subretinaler Injektion vs. $1.0 \pm 4.2 \mu\text{m}$ nach intravitrealer Injektion. Solch eine geringe Änderung der äußeren Körnerschichtdicke lässt die Schlussfolgerung zu, dass eine transiente Induktion einer zentralen neurosensorischen Abhebung keinen signifikanten klinischen Einfluss hat. Zudem ist es wichtig daran zu erinnern, dass dieses chirurgische Vorgehen in der Regel die Erblindung des Patienten verhindern soll und somit eine günstige Risiko-Nutzen-Abwägung besteht.

Weiterhin konnten wir zeigen, dass es nach subretinaler Applikation zu signifikant geringerer Verteilung von Viruspartikeln außerhalb des Auges kommt als nach intravitrealer Injektion [38]. Durch die Verwendung eines zapfenspezifischen Promoters in der therapeutischen Nukleinsequenz ist das Risiko einer sogenannten *off-target-expression* extrem gering [39]. Da das rekombinante AAV außerdem nicht pathogen und nicht für sich replikationsfähig ist, besteht auch nach Einschätzung der Behörden keine wesentliche Gefährdung der Umwelt nach okulärer Gentherapie. Auch der wichtige Nachweis, dass die Keimbahn nach okulärer Gentherapie frei von rekombinanten Viruspartikeln bleibt, konnte beim Affen wiederholt erbracht werden.

Die immunologischen Untersuchungen bestätigten, dass Antikörper gegen AAV8 von vorneherein eine hohe Prävalenz bei Cynomolgen haben. Die Applikation einer okulären Gentherapie induzierte hierbei keine wesentliche humorale Immunantwort nach subretinaler Applikation. Jedoch zeigte sich ein deutlicher Anstieg des Antikörpertiters gegen AAV8 nach intravitrealer Applikation [40].

Weitere Untersuchungen an den Tieren konnten zudem bestätigen, dass es bei sehr hohen Dosen (mindestens 10-mal mehr als in der klinischen Anwendung) durchaus zu entzündlichen Veränderungen am Auge kommen kann [41]. Diese Entzündungen zeigten sich vorwiegend an der behandelten Netzhaut und bestanden aus perivaskulären und paranachymalen Infiltraten. Immunhistochemische Analysen konnten eine erhöhte Aktivität von Gliazellen, sowie eine Einwanderung von CD8+ und CD20+ Lymphozyten nachweisen. Molekulare Analysen auf Expressionsebene zeigten eine Aktivität der angeborenen Immunantwort in dem entzündeten Gewebe, welche möglicherweise durch die AAV Partikel ausgelöst wurde und für die Induktion einer spezifischen Immunantwort eine wichtige Rolle spielt.

Da die retinale Gentherapie sich zwar insgesamt sicher zeigt, es aber in manchen klinischen Studien durchaus auch zu klinisch relevante Entzündungen zu kommen scheint, untersuchen wir weiterhin die genauen molekularen und zellulären Mechanismen der angeborenen Immunantwort auf Gentherapeutika. Denn nur wenn klar ist, welche Mechanismen hier eine wesentliche Rolle spielen, können auch Strategien entwickelt werden, diese für den Patienten günstig zu beeinflussen. Eine dahingehend optimierte Gentherapie 2.0 könnte einer großen Zahl an Patienten mit genetisch bedingten Erkrankungen am Auge (und ggf. darüber hinaus) eine große Hilfe sein.

Das Department für Augenheilkunde mit seiner integrativen Struktur zwischen Forschungsinstitut und Augenklinik bietet mit seinem Neubau hier

alle Voraussetzungen für erfolgreiche, translationale Forschung. In enger Zusammenarbeit mit Kooperationspartnern in ganz Deutschland und darüber hinaus wird es gelingen hier einen substantiellen Beitrag zur Weiterentwicklung dieser hoch-innovativen Therapie zu leisten.

LITERATUR

1. Rudolph G. (2013) [Ophthalmology and genetics]. *Klin Monbl Augenheilkd* 230: 221–222 DOI 10.1055/s-0032-1328289.
2. Avery O. T., Macleod C. M., McCarty M. (1944) Studies on the Chemical Nature of the Substance Inducing Transformation of Pneumococcal Types : Induction of Transformation by a Desoxyribonucleic Acid Fraction Isolated from Pneumococcus Type Iii. *J Exp Med* 79: 137–158.
3. Axelrod D., Habel K., Bolton E. T. (1964) Polyoma Virus Genetic Material in a Virus-Free Polyoma-Induced Tumor. *Science* 146: 1466–1469.
4. Rogers S., Pfuderer P. (1968) Use of viruses as carriers of added genetic information. *Nature* 219: 749–751.
5. Fischer M. D. (2016) On Retinal Gene Therapy. *Ophthalmologica* 236: 1–7 DOI 10.1159/000445782.
6. Russell S., Bennett J., Wellman J. A., Chung D. C., Yu Z. F., Tillman A., Wittes J., Pappas J., Elci O., McCague S., Cross D., Marshall K. A., Walshire J., Kehoe T. L., Reichert H., Davis M., Raffini L., George L. A., Hudson F. P., Dingfield L., Zhu X., Haller J. A., Sohn E. H., Mahajan V. B., Pfeifer W., Weckmann M., Johnson C., Gewaily D., Drack A., Stone E., Wachtel K., Simonelli F., Leroy B. P., Wright J. F., High K. A., Maguire A. M. (2017) Efficacy and safety of voretigene neparvovec (AAV2-hRPE65v2) in patients with RPE65-mediated inherited retinal dystrophy: a randomised, controlled, open-label, phase 3 trial. *Lancet* DOI 10.1016/S0140-6736(17)31868-8.
7. Jacobson S. G., Cideciyan A. V., Roman A. J., Sumaroka A., Schwartz S. B., Heon E., Hauswirth W. W. (2015) Improvement and decline in vision with gene therapy in childhood blindness. *N Engl J Med* 372: 1920–1926 DOI 10.1056/NEJMoa1412965.
8. Bainbridge J. W., Mehat M. S., Sundaram V., Robbie S. J., Barker S. E., Ripamonti C., Georgiadis A., Mowat F. M., Beattie S. G., Gardner P. J., Feathers K. L., Luong V. A., Yzer S., Balaggan K., Viswanathan A., de Ravel T. J., Casteels I., Holder G. E., Tyler N., Fitzke F. W., Weleber R. G., Nardini M., Moore A. T., Thompson D. A., Petersen-Jones S. M., Michaelides M., van den Born L. I., Stockman A., Smith A. J., Rubin G., Ali R. R. (2015) Long-term effect of gene therapy on Leber's congenital amaurosis. *N Engl J Med* 372: 1887–1897 DOI 10.1056/NEJMoa1414221.
9. Edwards T. L., Jolly J. K., Groppe M., Barnard A. R., Cottrill C. L., Tolmachova T., Black G. C., Webster A. R., Lotery A. J., Holder G. E., Xue K., Downes S. M., Simunovic M. P., Seabra M. C., MacLaren R. E. (2016) Visual Acuity after Retinal Gene Therapy for Choroideremia. *N Engl J Med* 374: 1996–1998 DOI 10.1056/NEJMc1509501.
10. Bainbridge J. W., Smith A. J., Barker S. S., Robbie S., Henderson R., Balaggan K., Viswanathan A., Holder G. E., Stockman A., Tyler N., Petersen-Jones S., Bhat-

- tacharya S.S., Thrasher A.J., Fitzke F.W., Carter B.J., Rubin G.S., Moore A.T., Ali R.R. (2008) Effect of gene therapy on visual function in Leber's congenital amaurosis. *N Engl J Med* 358: 2231–2239 DOI 10.1056/NEJMoa0802268.
11. Wilson J.M. (2012) It's time for gene therapy to get disruptive! *Hum Gene Ther* 23: 1–3 DOI 10.1089/hum.2011.2530.
 12. Kohl S., Jagle H., Wissinger B. (1993) Achromatopsia. In: Pagon R.A., Adam M.P., Ardinger H.H., Wallace S.E., Amemiya A., Bean L.J.H., Bird T.D., Ledbetter N., Mefford H.C., Smith R.J.H., Stephens K. (eds) *GeneReviews*(R), Seattle (WA).
 13. Kohl S., Baumann B., Broghammer M., Jagle H., Sieving P., Kellner U., Spegal R., Anastasi M., Zrenner E., Sharpe L.T., Wissinger B. (2000) Mutations in the CNGB3 gene encoding the beta-subunit of the cone photoreceptor cGMP-gated channel are responsible for achromatopsia (ACHM3) linked to chromosome 8q21. *Hum Mol Genet* 9: 2107–2116.
 14. Eksandh L., Kohl S., Wissinger B. (2002) Clinical features of achromatopsia in Swedish patients with defined genotypes. *Ophthalmic Genet* 23: 109–120.
 15. Kohl S., Baumann B., Rosenberg T., Kellner U., Lorenz B., Vadala M., Jacobson S.G., Wissinger B. (2002) Mutations in the cone photoreceptor G-protein alpha-subunit gene GNAT2 in patients with achromatopsia. *Am J Hum Genet* 71: 422–425 DOI 10.1086/341835.
 16. Rosenberg T., Baumann B., Kohl S., Zrenner E., Jorgensen A.L., Wissinger B. (2004) Variant phenotypes of incomplete achromatopsia in two cousins with GNAT2 gene mutations. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 45: 4256–4262 DOI 10.1167/iovs.04-0317.
 17. Trankner D., Jagle H., Kohl S., Apfelstedt-Sylla E., Sharpe L.T., Kaupp U.B., Zrenner E., Seifert R., Wissinger B. (2004) Molecular basis of an inherited form of incomplete achromatopsia. *J Neurosci* 24: 138–147 DOI 10.1523/JNEUROSCI.3883-03.2004.
 18. Kohl S., Varsanyi B., Antunes G.A., Baumann B., Hoyng C.B., Jagle H., Rosenberg T., Kellner U., Lorenz B., Salati R., Jurklics B., Farkas A., Andreasson S., Weleber R.G., Jacobson S.G., Rudolph G., Castellan C., Dollfus H., Legius E., Anastasi M., Bitoun P., Lev D., Sieving P.A., Munier F.L., Zrenner E., Sharpe L.T., Cremers F.P., Wissinger B. (2005) CNGB3 mutations account for 50% of all cases with autosomal recessive achromatopsia. *Eur J Hum Genet* 13: 302–308 DOI 10.1038/sj.ejhg.5201269.
 19. Varsanyi B., Wissinger B., Kohl S., Koeppen K., Farkas A. (2005) Clinical and genetic features of Hungarian achromatopsia patients. *Mol Vis* 11: 996–1001.
 20. Khan N.W., Wissinger B., Kohl S., Sieving P.A. (2007) CNGB3 achromatopsia with progressive loss of residual cone function and impaired rod-mediated function. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 48: 3864–3871 DOI 10.1167/iovs.06-1521.
 21. Reuter P., Koeppen K., Ladewig T., Kohl S., Baumann B., Wissinger B., Achromatopsia Clinical Study G (2008) Mutations in CNGA3 impair trafficking or function of cone cyclic nucleotide-gated channels, resulting in achromatopsia. *Hum Mutat* 29: 1228–1236 DOI 10.1002/humu.20790.
 22. Chang B., Grau T., Dangel S., Hurd R., Jurklics B., Sener E.C., Andreasson S., Dollfus H., Baumann B., Bolz S., Artemyev N., Kohl S., Heckenlively J., Wissinger B. (2009) A homologous genetic basis of the murine cpfl1 mutant and human achromatopsia linked to mutations in the PDE6C gene. *Proc Natl Acad Sci USA* 106: 19581–19586 DOI 10.1073/pnas.0907720106.
 23. Grau T., Artemyev N.O., Rosenberg T., Dollfus H., Haugen O.H., Cumhur Sener E., Jurklics B., Andreasson S., Kernstock C., Larsen M., Zrenner E., Wissinger B., Kohl S. (2011) Decreased catalytic activity and altered activation properties of PDE6C mutants associated with autosomal recessive achromatopsia. *Hum Mol Genet* 20: 719–730 DOI 10.1093/hmg/ddq517.
 24. Kohl S., Coppieters F., Meire F., Schaich S., Roosing S., Brennenstuhl C., Bolz S., van Genderen M.M., Riemsdag F.C., European Retinal Disease C., Lukowski R., den Hollander A.I., Cremers F.P., De Baere E., Hoyng C.B., Wissinger B. (2012) A nonsense mutation in PDE6H causes autosomal-recessive incomplete achromatopsia. *Am J Hum Genet* 91: 527–532 DOI 10.1016/j.ajhg.2012.07.006.
 25. Wang I., Khan N.W., Branham K., Wissinger B., Kohl S., Heckenlively J.R. (2012) Establishing baseline rod electroretinogram values in achromatopsia and cone dystrophy. *Doc Ophthalmol* 125: 229–233 DOI 10.1007/s10633-012-9350-1.
 26. Fahim A.T., Khan N.W., Zahid S., Schachar I.H., Branham K., Kohl S., Wissinger B., Elnor V.M., Heckenlively J.R., Jayasundera T. (2013) Diagnostic fundus autofluorescence patterns in achromatopsia. *Am J Ophthalmol* 156: 1211–1219 e1212 DOI 10.1016/j.ajo.2013.06.033.
 27. Greenberg J.P., Sherman J., Zweifel S.A., Chen R.W., Duncker T., Kohl S., Baumann B., Wissinger B., Yannuzzi L.A., Tsang S.H. (2014) Spectral-domain optical coherence tomography staging and autofluorescence imaging in achromatopsia. *JAMA ophthalmology* 132: 437–445 DOI 10.1001/jamaophthalmol.2013.7987.
 28. Michalakis S., Muhlfriedel R., Tanimoto N., Krishnamoorthy V., Koch S., Fischer M.D., Becirovic E., Bai L., Huber G., Beck S.C., Fahl E., Buning H., Schmidt J., Zong X., Gollisch T., Biel M., Seeliger M.W. (2012) Gene therapy restores missing cone-mediated vision in the CNGA3^{-/-} mouse model of achromatopsia. *Adv Exp Med Biol* 723: 183–189 DOI 10.1007/978-1-4614-0631-0_25.
 29. Heine S., Michalakis S., Kallenborn-Gerhardt W., Lu R., Lim H.Y., Weiland J., Del Turco D., Deller T., Tegeder I., Biel M., Geisslinger G., Schmidt A. (2011) CNGA3: a target of spinal nitric oxide/cGMP signaling and modulator of inflammatory pain hypersensitivity. *J Neurosci* 31: 11184–11192 DOI 10.1523/JNEUROSCI.6159-10.2011.
 30. Michalakis S., Kleppisch T., Polta S.A., Wotjak C.T., Koch S., Rammes G., Matt L., Becirovic E., Biel M. (2011) Altered synaptic plasticity and behavioral abnormalities in CNGA3-deficient mice. *Genes, brain, and behavior* 10: 137–148 DOI 10.1111/j.1601-183X.2010.00646.x.
 31. Michalakis S., Muhlfriedel R., Tanimoto N., Krishnamoorthy V., Koch S., Fischer M.D., Becirovic E., Bai L., Huber G., Beck S.C., Fahl E., Buning H., Paquet-Durand F., Zong X., Gollisch T., Biel M., Seeliger M.W. (2010) Restoration of cone vision in the CNGA3^{-/-} mouse model of conge-

- nital complete lack of cone photoreceptor function. *Mol Ther* 18: 2057–2063 DOI 10.1038/mt.2010.149.
32. Mamasuew K., Michalakis S., Breer H., Biel M., Fleischer J (2010) The cyclic nucleotide-gated ion channel CNGA3 contributes to coolness-induced responses of Gruenberg ganglion neurons. *Cell Mol Life Sci* 67: 1859–1869 DOI 10.1007/s00018-010-0296-8.
 33. Haverkamp S., Michalakis S., Claes E., Seeliger M.W., Humphries P., Biel M., Feigenspan A. (2006) Synaptic plasticity in CNGA3(-/-) mice: cone bipolar cells react on the missing cone input and form ectopic synapses with rods. *J Neurosci* 26: 5248–5255 DOI 10.1523/JNEUROSCI.4483-05.2006.
 34. Michalakis S., Geiger H., Haverkamp S., Hofmann F., Gerstner A., Biel M. (2005) Impaired opsin targeting and cone photoreceptor migration in the retina of mice lacking the cyclic nucleotide-gated channel CNGA3. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 46: 1516–1524 DOI 10.1167/iovs.04-1503.
 35. Claes E., Seeliger M., Michalakis S., Biel M., Humphries P., Haverkamp S. (2004) Morphological characterization of the retina of the CNGA3(-/-)Rho(-/-) mutant mouse lacking functional cones and rods. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 45: 2039–2048.
 36. Ochakovski G.A., Bartz-Schmidt K.U., Fischer M.D. (2017) Retinal Gene Therapy: Surgical Vector Delivery in the Translation to Clinical Trials. *Front Neurosci* 11: 174 DOI 10.3389/fnins.2017.00174.
 37. Ochakovski G.A., Peters T., Michalakis S., Wilhelm B., Bartz-Schmidt K.U., Fischer M.D. (2017) Subretinal injection for gene therapy does not cause clinically significant outer nuclear layer thinning in normal primate foveae. *Invest Ophthalmol Vis Sci* accepted for publication.
 38. Seitz I.P., Fischer M.D., Michalakis S., Wilhelm B., Kahle N., Zrenner E., Ueffing M., Bartz-Schmidt K.U., Biel M., Wissinger B., Peters T. (2016) rAAV8 biodistribution and shedding after subretinal injection in non-human primates. *Invest Ophthalmol Vis Sci*: ARVO E-Abstract C0067.
 39. Bellingrath J.S., Fischer M.D. (2015) [Gene therapy as a treatment concept for inherited retinal diseases]. *Ophthalmologie* 112: 720–727 DOI 10.1007/s00347-015-0121-8.
 40. Reichel F.F., Peters T., Wilhelm B., Muehlfriedel R., Biel M., Paquet-Durand F., Ueffing M., Wissinger B., Bartz-Schmidt K.U., Fischer M.D., Michalakis S. (2016) Humoral immune response to subretinal AAV8 in non-human primates. *Invest Ophthalmol Vis Sci*: ARVO E-Abstract B0203.
 41. Reichel F.F., Dauletbekov D.L., Klein R., Peters T., Ochakovski G.A., Seitz I.P., Wilhelm B., Ueffing M., Biel M., Wissinger B., Michalakis S., Bartz Schmidt K.U., Fischer M.D. (2017) AAV8 can induce innate and adaptive immune response in the primate eye. *Mol Ther*.

Prof. Dr. Dr. Dominik Fischer ist Oberarzt mit dem Schwerpunkt vitreoretinale Chirurgie und translationale Forschung am Department für Augenheilkunde der Universität Tübingen. Er studierte Medizin an der Universität Witten/Herdecke. Nach einem Forschungsaufenthalt als Visiting Scholar an der University of Pennsylvania promovierte er 2007 summa cum laude und absolvierte seine Facharztausbildung in Augenheilkunde bei Prof. Bartz-Schmidt in Tübingen. Als Facharzt und Fellow of the European Board of Ophthalmology (FEBO) wurde er 2012 habilitiert und erhielt die *venia legendi* für das Fach Augenheilkunde. Es folgte eine wissenschaftliche Tätigkeit als MRC Clinical Research Fellow bei Prof. MacLaren, die er 2016 mit einer Promotion an der Universität Oxford (DPhil in Clinical Neuroscience) abschloss. Mit der Ernennung außerplanmäßigen Professor 2015 kehrte er nach Tübingen zurück.

FÖRDERUNGEN UND AUSZEICHNUNGEN

Kumulativ ca. 2 Mio EUR eingeworbene Drittmittel von BMBF, Universität Tübingen (fortune, FANT und IZKF Förderung), UK Medical Research Council, Tistou und Charlotte Kerstan Stiftung, ProRetina e.V., Gesellschaft zur Förderung der Neuroophthalmologie e.V.,

NightStar Ltd, Bayer Vital GmbH, Novartis Pharma GmbH. Ausgewählte Auszeichnungen der letzten 5 Jahre: Retina Förderpreis der Deutschen Ophthalmologischen Gesellschaft, Preis des Deutschen Förderprogramms für Augenheilkunde von Bayer, Henning-Zügel Stiftungspreis für grundlagenorientierte Forschung, Ophthalmologica Preis und Vorlesung der EURETINA, European Leadership Development Program der SOE, Doctoral Training Award des Medical Research Council und der Universität Oxford, Graduate Research Grant Award der der Universität Oxford, Leonardo Da Vinci Grant Award der Europäischen Kommission, Clinical Research Training Fellowship des Medical Research Council.



Prof. Dr. Dr. med. M. Dominik Fischer, FEBO

Universitäts-Augenklinik Tübingen
Department für Augenheilkunde
Elfriede-Aulhorn-Straße 5–7
72076 Tübingen
Telefon: 07071 2987894
Telefax: 07071 2925092
E-Mail: dominik.fischer@uni-tuebingen.de

KONTAKT



Molekulare Bildgebung der Retina durch Autofluoreszenzlebensdauermessung (FLIO) bei altersbedingter Makuladegeneration

DR. RER. NAT. MARTIN HAMMER, LYDIA SAUER, SUSANNE SALWESKI, JOHANNA SCHMIDT, ROWENA SCHULTZ, SVEN PETERS, LUKAS KREILKAMP, PRIV.-DOZ. DR. MED. REGINE AUGSTEN, PROF. DR. MED. DANIEL MELLER

Universitätsklinikum
Jena

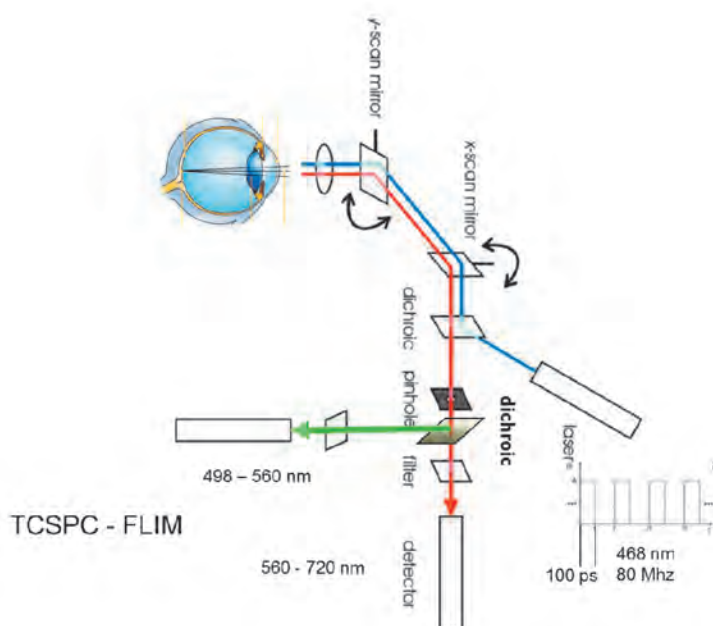
Moderne bildgebende Verfahren, insbesondere die optische Kohärenztomographie (OCT), haben in den letzten Jahren eine einzigartige Entwicklung genommen. Sie erlauben einen Blick auf die dreidimensionale Struktur von Netz- und Aderhaut mit einer Auflösung, die einzelne zelluläre Schichten darstellt. Dies hat nicht nur die diagnostischen Möglichkeiten verbessert, sondern auch entscheidend zu unserem Verständnis der Pathogenese so komplexer Krankheitsbilder wie der altersbedingten Makuladegeneration (AMD) beigetragen. Allerdings zeigt die OCT pathologische Prozesse erst, wenn bereits morphologische Veränderungen aufgetreten sind. Daher sollte sie durch Verfahren der funktionellen und molekularen Bildgebung ergänzt werden. Hierzu gehören z. B. die Oxymetrie des retinalen Gefäßsystems [1–4] und die Bestimmung der Makulapigmentdichte [5] die eine Aussage über das antioxidative Schutzsystem der Retina, insbesondere der Makula, ermöglicht [6, 7]. Als eine neue Technik zur Charakterisierung des retinalen Metabolismus haben wir die Messung und bildliche Darstellung der Autofluoreszenzlebensdauer entwickelt. Da das Fluores-

zenzabklingverhalten im Bereich von Pico- bis Nanosekunden ein charakteristischer Parameter sowohl von Coenzymen des Energiestoffwechsels (NADH, FAD) als auch von Stoffwechselendprodukten (Lipofuszin, glykosilierte Proteine) ist, erlaubt diese Technik eine molekulare Bildgebung [8]. Anwendung findet sie bereits im klinischen Bereich wie der Dermatologie zur Diagnostik verschiedener Hautläsionen [9] und Melanomen [10], sowie in klinisch-experimentellen Bereichen zur Unterscheidung präkanzerogener und kanzerogener Veränderungen in Zell- und Gewebeproben, z. B. der uterinen Zervix [11] oder des Darms [12]. Bei den kanzerogenen Veränderungen wird vor allem ein erhöhter oder veränderter Energiestoffwechsel der Zellen beobachtet, der über das Verhältnis der Fluoreszenzintensität der Coenzyme $\text{NAD}^+/\text{NADH}_2$ und FAD^+/FADH (Redox Ratio) und deren veränderte Fluoreszenzlebensdauer charakterisiert werden kann [13, 14]. Weiterhin haben Kollagene, Elastin und Melanin spezifische Abklingzeiten [15–17]. Alle genannten Fluorophore können in Netzhaut, RPE, Chorioidea und Sklera vorkommen und zur Fluoreszenz beitragen. Dominiert wird die Fundusautofluoreszenz (FAF) jedoch durch Abbauprodukte des Retinals als Bestandteile des Lipofusins im RPE sowie durch Lipide und Lipoproteine in Drusen und Ablagerungen auf der Bruchschichten Membran. Die quantitative Erfassung dieser Fluorophore kann helfen, physiologische und pathophysiologische Stoffwechselläufe am Augenhintergrund besser zu verstehen.

Insbesondere in der Diagnostik der AMD hat sich die FAF inzwischen klinisch etabliert. Allerdings lässt die Beobachtung der örtlichen Verteilung der Fluoreszenzintensität keinen Rückschluss auf einzelne Fluorophore zu. Hierzu haben wir an der Jenaer Augenklinik die Autofluoreszenzlebensdauermessung (FLIO) etabliert [18, 19]. Diese beruht auf einer Anregung der FAF mit kurzen Laserpulsen (ca. 100 ps bei 468 nm) und einer Messung der zeitlichen Verzögerung der Emission einzelner Fluoreszenzphotonen zum Laserpuls (zeitkorrelierte Einzelphotonenzählung) in zwei Spektralkanälen (498–560 nm und 560–720 nm). Um Bilder zu erhalten ist diese Technik in ein Scanning Laser Ophthalmoskop (SLO) integriert (**Abb. 1**). Für unsere klinisch-experimentellen Untersuchungen

Abbildung 1

■ Schematische Darstellung des FLIO-scanners



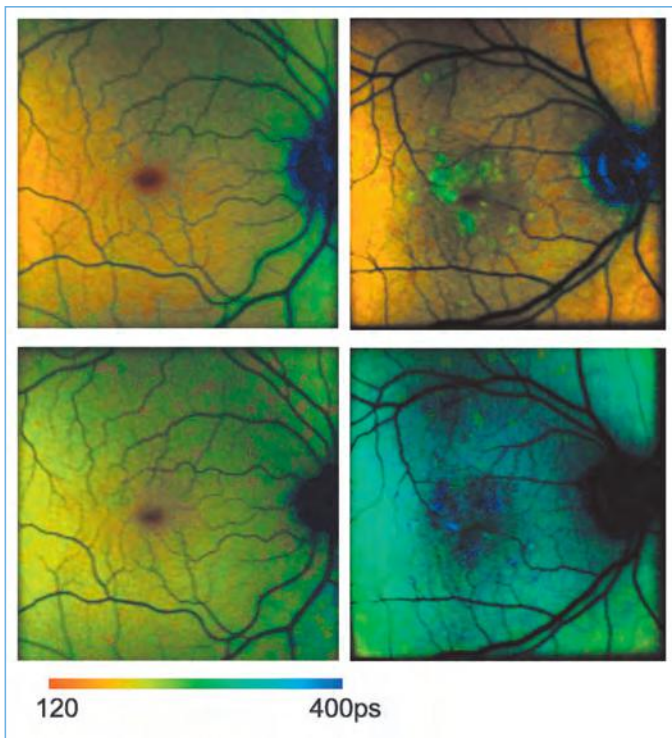


Abbildung 2

■ Fluoreszenzlebensdauer (farbcodiert, s. scalebar) eines AMD-Patienten (rechts) und einer altersgerechten Kontrolle (links), Fluoreszenzemission bei 498–560 nm (oben) und 560–720 nm (unten)

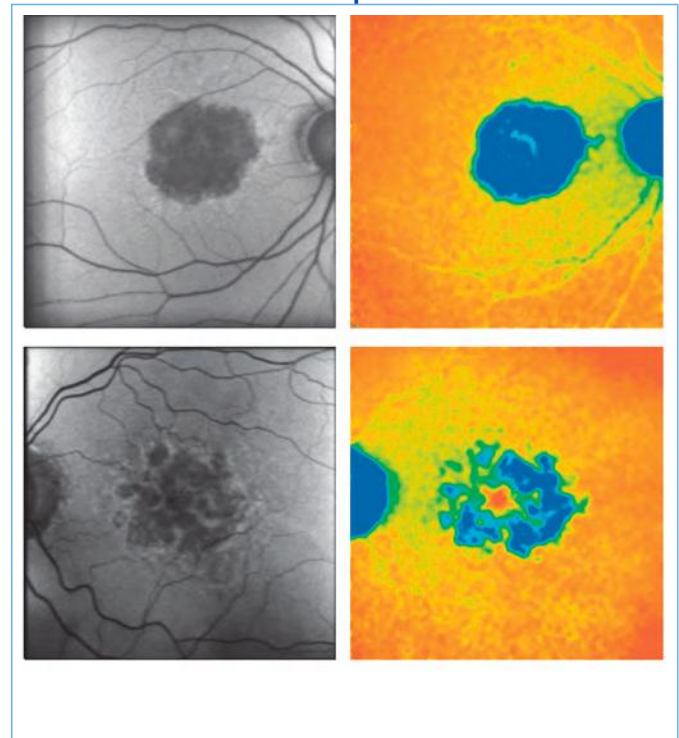


Abbildung 3

■ FAF-Aufnahmen (links) und Fluoreszenzlebensdauern (rechts) bei klassischer geografischer Atrophie (oben) und Atrophie mit makulärer Aussparung (unten)

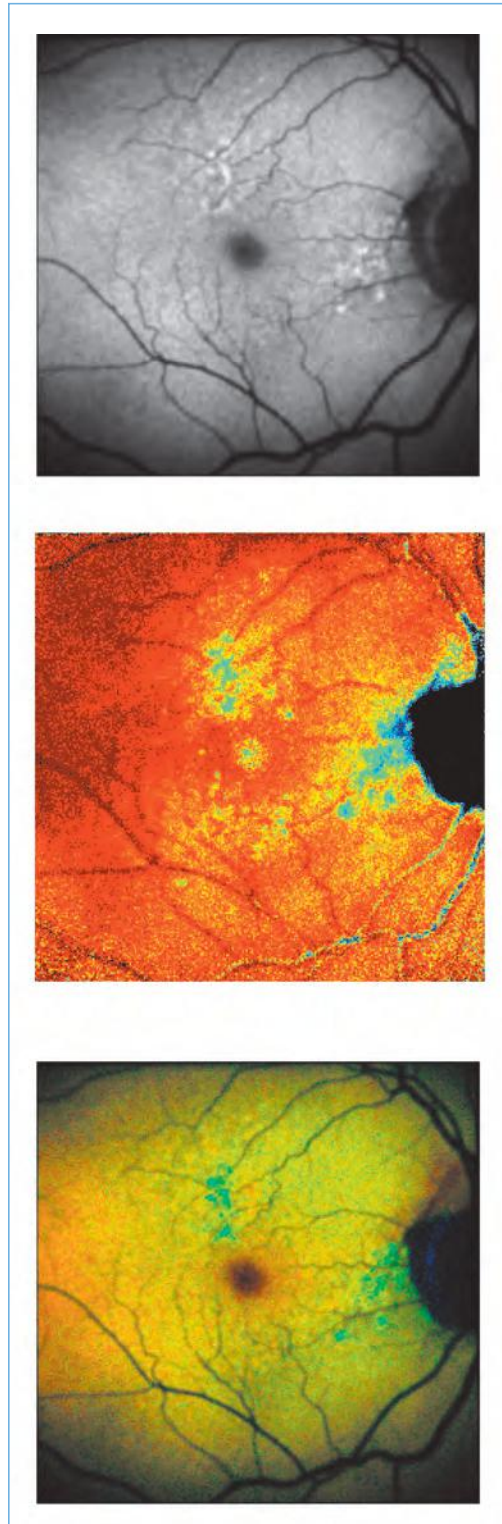
nutzen wir ein FLIO – Prototypgerät der Fa. Heidelberg Engineering. Jedes fluoreszente Molekül ist (abhängig von seiner Einbettungsmatrix) durch einen spezifischen exponentiellen Abfall der Fluoreszenz über der Zeit gekennzeichnet. Liegen wie am Augenhintergrund mehrere Fluorophore vor, ist von einem multiexponentiellen Zerfall der Fluoreszenz auszugehen. Daher wird der zeitliche Abfall der Fluoreszenz durch eine Summe aus drei Exponentialfunktionen approximiert. Dies gibt uns die charakteristischen Fluoreszenzlebensdauern für drei Fluorophore sowie deren Anteil an der Gesamtfluoreszenz. Einen schnellen Überblick über das Vorkommen einzelner Fluorophore gibt der amplitudengewichtete Mittelwert der Zerfallszeiten, die mittlere Lebensdauer. Die Nutzung von zwei spektralen Kanälen gestattet darüber hinaus eine Unterscheidung der Fluorophore hinsichtlich ihrer Emissionsspektren.

Während die mittlere Fluoreszenzlebensdauer des RPE ca. 300ps beträgt [18] finden sich in der Fovea, bedingt durch das Makulapigment, deutlich kürzere Lebensdauern von 82ps (498–560 nm) und 128ps (560–720 nm) [19]. Die Fluoreszenz der Papille ist dagegen von Kollagen und Elastin im Bindegewebe bestimmt und hat deutlich längere Lebensdauern (Abb. 2, links). Die Fluoreszenz des RPE ist durch das Lipofuszin dominiert. Lipofuszin ist ein Sammelbegriff für in allen postmitotischen Zellen akkumulierte Stoffwechselendprodukte. Dies können ganz verschiedene chemische Verbindungen sein. Unsere Ergebnisse weisen darauf hin, dass sich die Zusammensetzung

des Lipofuzins mit der Entwicklung einer AMD ändert. So zeigen AMD-Patienten deutlich längere Fluoreszenzlebensdauern als gesunde Kontrollen [20]. FLIO-Aufnahmen zeigen zudem deutlich die Orte der ersten pathologischen Veränderungen, die oft paramakulär liegen (Abb. 2, rechts). Dies bestätigt auch eine aktuelle, in Kooperation mit dem Moran Eye Center (University of Utah, Salt Lake City) durchgeführte, Studie mit 90 Patienten [20]. Eine typische Änderung der Fluoreszenzeigenschaften des Gewebes findet sich bei der geographischen Atrophie (GA). Der Untergang des RPE, in dessen Lysosomen das Lipofuszin akkumuliert wird, führt zu der aus FAF-Aufnahmen bekannten Hypofluoreszenz (Abb. 3, links). Gleichzeitig messen wir in der Atrophiezone deutlich verlängerte Fluoreszenzlebensdauern (615 ps, Sauer et al. eingereicht bei Acta Ophthalmologica) die denen in der Papille (Abb. 3, rechts) ähnlich sind und auf Kollagen in Chorioidea bzw. Sklera oder die Entwicklung einer disziformen Narbe hinweisen können. Interessanterweise zeigt FLIO eine Aussparung der Makula von der AMD (macular sparing) sehr deutlich (Abb. 3, rechts unten). In einer Studie von Dysli et al. [21] zeigten 10 von 41 Patienten mit GA dieses Phänomen. In dieser Studie, wie auch in unseren Untersuchungen, korrelierten die Fluoreszenzlebensdauern in der Makula mit dem Visus der Patienten. Zentrale Inseln mit erhaltener Funktion innerhalb einer GA oder bei einer RPE-Abhebung werden auch von anderen Autoren beschrieben [22, 23]. Es wird eine Erneuerung der Photopigmente der Zapfen über die Müllerzellen angenommen. FLIO

Abbildung 4

■ Hyperfluoreszente harte Drusen. FAF-Bild (oben), spektrales Verhältnis der Fluoreszenz (mitte, kurzwellige Emission blau, langwellige Emission rot) und Fluoreszenzlebensdauer (unten, die blaugrüne Farbkodierung der Drusen zeigt die gegenüber dem RPE längeren Lebensdauern)



könnte die Integrität der Müllerzellen über die Fluoreszenz des in diesen Zellen befindlichen Makulapigmentes anzeigen und somit diagnostisch interessante Informationen zum Zustand der Makula liefern.

Ein frühes Symptom altersbedingter Veränderungen am Augenhintergrund sind Ansammlungen von Stoffwechselendprodukten zwischen RPE und Bruchscher Membran, sogenannte basolinäre Ablagerungen und Drusen. Da diese die Diffusion

von Sauerstoff und anderen Metaboliten aus der Choriokapillaris in das RPE und die äußere Netzhaut behindern, werden erste Atrophien des RPE oft über großen weichen Drusen beobachtet. Daher könnten Drusen künftig ein therapeutisches Target sein [24]. Oft zeigen Drusen eine Hyperfluoreszenz. Eine weitere Charakterisierung dieser Fluoreszenz würde helfen zu erkennen, welche Drusen mit einem Risiko der AMD-Progression assoziiert sind und welche Drusen auf eine mögliche therapeutische Intervention reagieren. Weiterhin könnte sie dazu beitragen, die chemischen Verbindungen zu identifizieren, die in Drusen akkumuliert werden. Das wäre hilfreich für die Entwicklung therapeutischer Strategien. In vitro Studien haben gezeigt, dass Drusen Fluoreszenzlicht bei kürzeren Wellenlängen emittieren als das Lipofuszin im RPE [25]. Weiterhin fanden wir längere Fluoreszenzabklingzeiten in Drusen [26]. Kürzlich ist es uns gelungen, diese spektralen und zeitlichen Unterschiede der Fluoreszenz von Drusen und dem darüber liegenden RPE in vivo zu beobachten (**Abb. 4**) [27]. Damit ist die Identifizierung von Drusen sowie deren Unterscheidung ein weiteres diagnostisch interessantes Anwendungsfeld von FLIO.

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

LITERATUR

1. Beach J.M., Schwenger K.J., Srinivas S., Kim D., Tiedeman J.S. (1999) Oximetry of retinal vessels by dual-wavelength imaging: calibration and influence of pigmentation. *J Appl Physiol* 86: 748–758.
2. Garhofer G., Bek T., Boehm A.G., Gherghel D., Grunwald J., Jeppesen P., Kergoat H., Kotliar K., Lanzl I., Lovasik J.V., Nagel E., Vilser W., Orgul S., Schmetterer L. (2010) Use of the retinal vessel analyzer in ocular blood flow research. *Acta Ophthalmol*: 717–722.
3. Hammer M., Vilser W., Riemer T., Liemt F., Jentsch S., Dawczynski J., Schweitzer D. (2011) Retinal venous oxygen saturation increases by flicker light stimulation. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 52: 274–277 DOI iovs.10-5537 [pii] 10.1167/iov.10-5537.
4. Schweitzer D., Hammer M., Kraft J., Thamm E., Konigsdorffer E., Strobel J (1999) In vivo measurement of the oxygen saturation of retinal vessels in healthy volunteers. *IEEE T Bio-Med Eng* 46: 1454–1465.
5. Schweitzer D., Jentsch S., Dawczynski J., Hammer M., Wolf-Schnurrbusch U.E.K., Wolf S. (2010) Simple and objective method for routine detection of the macular pigment xanthophyll. *J Biomed Opt* 15: 061714–061710 DOI 10.1117/1.3526358.

6. Beatty S., Koh H., Phil M., Henson D., Boulton M. (2000) The role of oxidative stress in the pathogenesis of age-related macular degeneration. *Surv Ophthalmol* 45: 115–134.
7. Landrum J.T., Bone R.A. (2001) Lutein, zeaxanthin, and the macular pigment. *Arch Biochem Biophys* 385: 28–40 DOI 10.1006/abbi.2000.2171.
8. Lakowicz J.R. (2006) Principles of fluorescence spectroscopy. Springer, New York.
9. König K., Riemann I. (2003) High-resolution multiphoton tomography of human skin with subcellular spatial resolution and picosecond time resolution. *J Biomed Opt* 8: 432–439 DOI 10.1117/1.1577349.
10. Dimitrow E., Riemann I., Ehlers A., Koehler M.J., Norgauer J., Elsner P., König K., Kaatz M. (2009) Spectral fluorescence lifetime detection and selective melanin imaging by multiphoton laser tomography for melanoma diagnosis. *Experimental dermatology* 18: 509–515 DOI 10.1111/j.1600-0625.2008.00815.x
11. Li D., Zheng W., Qu J.Y. (2009) Two-photon autofluorescence microscopy of multicolor excitation. *Opt Lett* 34: 202–204.
12. Mycek M.A., Schomacker K.T., Nishioka N.S. (1998) Colonic polyp differentiation using time-resolved autofluorescence spectroscopy. *Gastrointestinal endoscopy* 48: 390–394.
13. Heikal A.A. (2010) Intracellular coenzymes as natural biomarkers for metabolic activities and mitochondrial anomalies. *Biomark Med* 4: 241–263 DOI 10.2217/bmm.10.1
14. Skala M.C., Riching K.M., Gendron-Fitzpatrick A., Eickhoff J., Eliceiri K.W., White J.G., Ramanujam N. (2007) 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* 104: 19494–19499.
15. Berezin M.Y., Achilefu S. (2010) Fluorescence lifetime measurements and biological imaging. *Chem Rev* 110: 2641–2684 DOI 10.1021/cr900343z.
16. Chorvat D., Chorvatova A. (2009) Multi-wavelength fluorescence lifetime spectroscopy: a new approach to the study of endogenous fluorescence in living cells and tissues. *Laser Physics Letters* 6: 175–193 DOI 10.1002/lapl.200810132.
17. Schweitzer D. (2010) Metabolic Mapping. In: Holz F (ed) *Medical Retina: Focus on Retinal Imaging*. Springer Berlin Heidelberg Berlin, Heidelberg, pp. 107–124.
18. Dysli C., Quellec G., Abegg M., Menke M.N., Wolf-Schnurrbusch U., Kowal J., Blatz J., La Schiazza O., Lechtile A.B., Wolf S., Zinkernagel M.S. (2014) Quantitative analysis of fluorescence lifetime measurements of the macula using the fluorescence lifetime imaging ophthalmoscope in healthy subjects. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 55: 2106–2113 DOI 10.1167/iovs.13-13627
19. Sauer L., Schweitzer D., Ramm L., Augsten R., Hammer M., Peters S. (2015) Impact of Macular Pigment on Fundus Autofluorescence Lifetimes. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 56: 4668–4679 DOI 10.1167/iovs.14-15335.
20. Sauer L., Kreilkamp L., Peters S., Meller D., Bernstein P.S., Hammer M. (2017) Time-resolved fundus autofluorescence in dry AMDARVO-abstract, pp. #3399.
21. Dysli C., Wolf S., Zinkernagel M.S. (2016) Autofluorescence Lifetimes in Geographic Atrophy in Patients With Age-Related Macular Degeneration. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 57: 2479–2487 DOI 10.1167/iovs.15-18381.
22. Bhavsar K.V., Freund K.B. (2014) Retention of good visual acuity in eyes with neovascular age-related macular degeneration and chronic refractory subfoveal subretinal fluid. *Saudi journal of ophthalmology: official journal of the Saudi Ophthalmological Society* 28: 129–133 DOI 10.1016/j.sjopt.2014.03.001.
23. Giannakaki-Zimmermann H., Querques G., Munch I.C., Shroff D., Sarraf D., Chen X., Cunha-Souza E., Mrejen S., Capuano V., Rodrigues M.W., Gupta C., Ebnetter A., Zinkernagel M.S., Munk M.R. (2017) Atypical retinal pigment epithelial defects with retained photoreceptor layers: a so far disregarded finding in age related macular degeneration. *BMC Ophthalmol* 17: 67 DOI 10.1186/s12886-017-0452-0.
24. Buschini E., Fea A.M., Lavia C.A., Nassisi M., Pignata G., Zola M., Grignolo F.M. (2015) Recent developments in the management of dry age-related macular degeneration. *Clin Ophthalmol* 9: 563–574 DOI 10.2147/OPHT.559724.
25. Tong Y., Ben Ami T., Hong S., Heintzmann R., Gerig G., Ablonczy Z., Curcio C.A., Ach T., Smith R.T. (2016) Hyperspectral Autofluorescence Imaging of Drusen and Retinal Pigment Epithelium in Donor Eyes with Age-Related Macular Degeneration. *Retina* DOI 10.1097/IAE.0000000000001325.
26. Schweitzer D., Gaillard E.R., Dillon J., Mullins R.F., Russell S., Hoffmann B., Peters S., Hammer M., Biskup C. (2012) Time-resolved autofluorescence imaging of human donor retina tissue from donors with significant extramacular drusen. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 53: 3376–3386 DOI 10.1167/iovs.11-8970.
27. Hammer M., Kreilkamp L., Sauer L., Ach T., Smith T., Curcio CA (2017) Fundus autofluorescence from drusen is spectrally different from that of lipofuscin, ARVO-abstract #48.



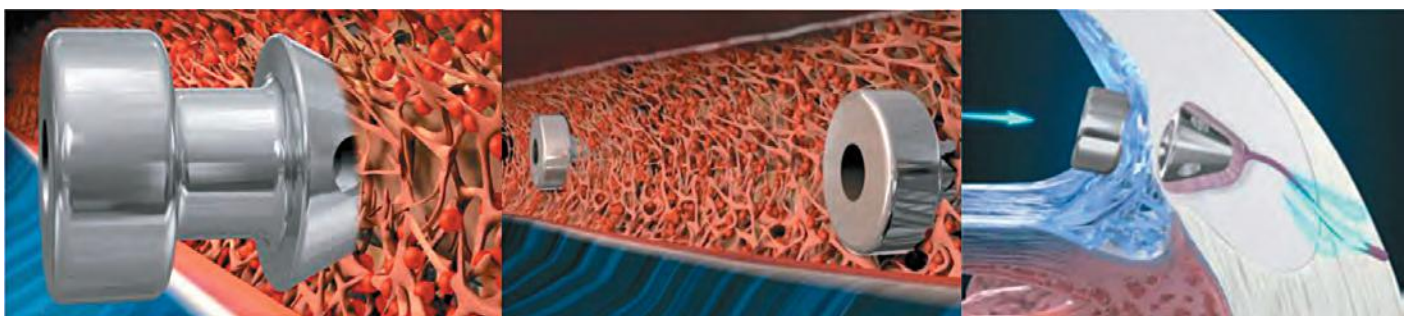
KONTAKT

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



Mikroinvasive Glaukomchirurgie mit der iStent-Technologie

Die mikroinvasive Glaukomchirurgie (MIGS) mit trabekulären Stents hat inzwischen einen festen Platz im Therapiespektrum von leichten bis moderaten Verlaufsformen des primären Offenwinkelglaukoms. MIGS definiert sich über eine ab interno Mikroinzision, eine gute Wirksamkeit bei einem hohen Sicherheitsprofil, ein minimales Trauma das eine schnelle Rehabilitation erlaubt.



Abbildung

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

Innerhalb der MIGS Kategorie spielt die iStent-Technologie von Glaukos eine führende Rolle. Insgesamt wurden weltweit bisher über 250 000 Stents implantiert. In Deutschland ist die neueste iStent Generation, das iStent inject-System verfügbar.

Es besteht aus zwei in einem sterilen Einmalinjektor vorgeladenen Mikrostents. Mit einer Länge von 360 µm und einem Durchmesser von 230 µm handelt es sich um das derzeit kleinste beim Menschen eingesetzte Medizinprodukt. Die Stents sind aus Heparin-beschichtetem nicht-ferromagnetischem medizinischem Titan. Das Funktionsprinzip beruht auf einer Umgehung des Trabekelmaschenwerkes zur Verbesserung des Kammerwasserabflusses. Unter gonioskopischer Visualisierung werden zwei Stents im Abstand von 30-40° nasal unten in das pigmentierte Trabekelmaschenwerk platziert. Die Implantation kann sowohl als alleiniger Eingriff, als auch in Verbindung mit einer Kataraktoperation durchgeführt werden.

Besonders Patienten, die trotz medikamentöser Mehrfachtherapie den Zieldruck nicht erreichen, Patienten mit mangelnder Compliance oder Schwierigkeiten bei der Tropfenapplikation und solche mit Unverträglichkeitsreaktionen profitieren von der effektiven Drucksenkung und der damit verbundenen Reduktion der Medikamentenbelastung.

Die Wirksamkeit und Sicherheit ist in zahlreichen wissenschaftlichen Untersuchungen dokumentiert. Bei *L. Voskanyan et al.* hatten in einer paneuropäi-

schen Multicenterstudie 66% der 99 mit einem iStent injekt versorgten Augen nach 1 Jahr ohne antiglaukomatöse Medikamente einen Augeninnendruck von 18 mmHg oder darunter. Bei *D. Lindstrom et al.* war dies bei allen 57 Augen nach eineinhalb Jahren der Fall. Einen Augeninnendruck unter 15 mmHg ohne Medikation hatten zu diesem Zeitpunkt 67% der Augen dieser Studie. Langzeitergebnisse zeigen nach 4 Jahren noch eine Augeninnendrucksenkung von 33% gegenüber dem Ausgangswert und eine Reduktion der augeninnendrucksenkenden Medikamente um 78%. *P. Arriola-Villalobos et al.* konnten 11 von 20 Patienten mit kombinierter Operation 5 Jahre nachbeobachten. Der Augeninnendruck wurde um 37% gegenüber dem Ausgangswert gesenkt und 45% der Patienten benötigten keine antiglaukomatöse Medikation mehr.

KONTAKT

Glaukos Germany GmbH
 Gustav-Stresemann-Ring 1
 65189 Wiesbaden
 Tel.: 0611 9777-4403
 Fax: 0611 9777-4404
 kontakt@glaukos.com
 www.istent.de
 www.glaukos.com

■ **Literatur**

1. Arriola-Villalobos P, Martinez-de-la-Casa J.M., Diaz-Valle D., et al. (2016) Ophthalmol 1056573. Epub 2016 Nov
2. Lindstrom R, Lewis R., Hornbeak D.M., et al. (2016) Adv Ther 33: 2082-2090.
3. Neuhann T.H. (2015) J Cataract Refract Surg 41: 2664-2671.
4. Voskanyan L, Garcia-Feijó J., Belda J.I., et al. (2014) Adv Ther 31: 189-201.

iStent inject®



Innovationen in der Micro-Invasive Glaucoma Surgery

Das Prinzip



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

- Kleinstes bekanntes Medizinprodukt zur Implantation beim Menschen
- Das gezielte Platzieren der Stents hilft, den konventionellen Abfluss dauerhaft wiederherzustellen^{1,2}

Die Patientenselektion

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

Wirksamkeit in Studien belegt

**1 Jahr
stabile
IOD-Senkung³**

99 Patienten wurden nach Implantation von zwei iStent *inject* über ein Jahr beobachtet. 66 % der Augen hatten einen dauerhaft gesenkten IOD von ≤ 18 mmHg ohne Medikation

**4 Jahre
dauerhafte
IOD-Senkung⁴**

Die Daten von 36 Patienten mit kombinierter iStent-/Kataraktoperation, beobachtet über einen Zeitraum von vier Jahren, zeigten danach eine IOD-Senkung um 33 % gegenüber dem Ausgangswert.

Die Anzahl IOD-senkender Medikamente konnte um 78 % reduziert werden und fast 60 % der Patienten benötigten keine Glaukom-Medikation

**5 Jahre
kontinuierliche
IOD-Senkung⁵**

Bei 19 Patienten wurde im Rahmen einer Kataraktoperation ein iStent implantiert. 42 % der Patienten benötigten auch nach fünf Jahren noch keine drucksenkenden Medikamente

Referenzen

1. Brubaker RF. The flow of aqueous humor in the human eye. *Trans Am Ophthalmol Soc.* 1982;80:391-474.
2. iStent *inject*® Trabecular Micro-Bypass System: Directions for Use, Laguna Hills, Calif: Glaukos Corporation.
3. Voskanyan L, Garcia-Feijoo J, Belda J, et al. Prospective, Unmasked Evaluation of the iStent Inject System for Open-Angle Glaucoma: Synergy Trial. *Adv Ther* 2014;31:189-201.
4. Neuhann T (2015) Präsentiert anlässlich der Jahrestagung der ESCRS in Barcelona.
5. Arriola-Villalobos P, Martinez-de-la-Casa J, Diaz-Valle D, et al. Combined iStent trabecular micro-bypass stent implantation and phacoemulsification for coexistent open-angle glaucoma and cataract: a long-term study. *Br J Ophthalmol* 2012;96:645-649.

Therapeutische Lymphangiogenese an der Hornhaut: eine neue Therapieoption bei pathologischen Entzündungen, Ödem-bedingten Trübungen und Glaukom?

DR. MED. DR. NAT. MED. DENIZ HOS^{1,2}, FEBO
 PRIV.-DOZ. DR. RER. NAT. FELIX BOCK^{1,2},
 PROF. DR. MED. CLAUS CURSIEFEN^{1,2}, FEBO

1 Zentrum für
 Augenheilkunde
 Uniklinik Köln

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

Das Lymphgefäßsystem spielt eine wichtige Rolle bei der Regulation des Flüssigkeits-, Lipid- und Blutdruckhaushaltes [1, 2]. Darüber hinaus sind Lymphgefäße auch an Entzündungs- und Autoimmunprozessen, der Metastasierung von Tumoren und der Ausbildung von Abstoßungsreaktionen nach Organ- oder Gewebetransplantation beteiligt [1, 2]. Aufgrund dieser Fülle von Aufgaben kommen Lymphgefäße nahezu überall im Organismus vor. Die Hornhaut stellt dabei eine Ausnahme dar, da sie im physiologischen Zustand frei von Blut- und Lymphgefäßen ist [3]. Allerdings können eine Reihe von (meist entzündlichen) Erkrankungen zu einem sekundären Einwachsen von Blut- und Lymphgefäßen vom angrenzenden Limbusbereich in die Hornhaut führen (korneale Neovaskularisationen) [4, 5]. Zahlreiche Studien belegen, dass korneale Neovaskularisationen ein wichtiger Risikofaktor für immunologisch vermittelte Abstoßungsreaktionen nach (perforierender) Keratoplastik sind [6]. Tierexperimentelle Daten deuten hierbei darauf hin, dass vor allem Lymphgefäße, welche im Gegensatz zu Blutgefäßen klinisch nicht sichtbar sind, hierbei eine wichtige Rolle spielen [7]. Möglicherweise erfolgt über diese Lymphgefäße eine erleichterte Migration von antigenpräsentierenden Zellen vom Transplantat zu den regionalen Lymphknoten, worauf es zu einer schnelleren Sensibilisierung gegenüber Spenderantigenen und nachfolgend zu einer Abstoßungsreaktion kommt [8]. Dementsprechend kann eine selektive pharmakologische Blockade der kornealen Lymphangiogenese im Mausmodell das Risiko von Abstoßungsreaktionen deutlich senken [7, 9]. Tierexperimentelle Studien konnten kürzlich auch zeigen, dass korneale Lymphgefäße an der Ausbildung des trockenen Auges und allergischer Reaktionen am Auge beteiligt sind und eine Blockade des Lymphgefäßwachstums den klinischen Verlauf dieser Erkrankungen positiv beeinflusst [10–12]. Somit werden korneale Lymphgefäße in der Regel als pathologisch angesehen, und eine positive Rolle dieser Gefäße in der Hornhaut wurde bislang nicht beschrieben [13].

Unsere Arbeitsgruppe konnte kürzlich erstmals einen positiven Effekt von Lymphgefäßen an der Hornhaut aufzeigen [14]. Diese Studie beschäftigte sich mit der Rolle von Interleukin-10 (IL-10),

einem primär anti-inflammatorischen Zytokin, bei der Regulation entzündlicher Lymphangiogenese an der Hornhaut. Wir konnten im Mausmodell zeigen, dass IL-10 zwar nicht im gesunden Zustand in der Hornhaut exprimiert wird, es allerdings im Rahmen einer Entzündung zu einem deutlichen Anstieg der IL-10 Expression in rekrutierten Makrophagen kommt. Diese Zellen erhöhen nach (autokriner) Stimulation mit IL-10 die Expression des pro-lymphangiogenen Wachstumsfaktors VEGF-C. Demgegenüber zeigen IL-10-defiziente Mäuse eine verminderte korneale VEGF-C Expression und ein vermindertes Lymphgefäßwachstum nach einem entzündlichen Stimulus. Der Einfluss von IL-10 auf die korneale Lymphangiogenese scheint hierbei vor allem indirekt (über Makrophagen) vermittelt zu sein, da lymphatische vaskuläre Endothelzellen nicht direkt durch IL-10 beeinflusst werden. Darüber hinaus zeigen entzündete Hornhäute von IL-10-defizienten Mäusen eine erhöhte Expression pro-inflammatorischer Zytokine sowie ein dichteres entzündliches Zellinfiltrat. Diese gesteigerte Entzündungsreaktion in IL-10-defizienten Mäusen persistiert, selbst nachdem der entzündliche Stimulus nicht mehr vorhanden ist. Um zu analysieren, ob der der Phänotyp in IL-10-defizienten Mäusen durch eine spezifische Störung des IL-10-Signalweges in Makrophagen bedingt ist, untersuchten wir Mäuse mit einer konditionalen Deletion von STAT3, einem Transkriptionsfaktor der IL-10 Signalkaskade, in myeloiden Zellen (LysozymMCre-Stat3^{fl/fl}). Diese Mäuse, in denen der IL-10 Signalweg spezifisch im Makrophagen blockiert ist, zeigen ein reduziertes Lymphgefäßwachstum und eine erhöhte Anzahl kornealer Entzündungszellen nach einem inflammatorischen Reiz. Weiterhin fördert die lokale Behandlung mit rekombinanten IL-10 die Ausbildung kornealer Lymphgefäße und führt zu einer schnelleren Auswanderung von Makrophagen aus dem entzündeten Gebiet. Zusammengefasst zeigt diese Arbeit also, dass IL-10 indirekt die entzündliche Lymphangiogenese in der Hornhaut über Makrophagen reguliert. Eine verminderte Lymphangiogenese in IL-10-defizienten und LysozymMCre-Stat3^{fl/fl}-Mäusen ist mit schwereren Entzündungsreaktionen verbunden, während eine lokale Behandlung mit IL-10 zu einer schnelleren Auflösung von Entzündungsreaktio-

nen führt. Somit zeigen die Ergebnisse dieser Arbeit, dass Lymphgefäße in späteren Phasen der Entzündung zu einem vereinfachten Abtransport von Immunzellen aus dem entzündeten Gewebe und damit zur Auflösung der Entzündungsreaktion beitragen [14]. *Die Induktion von Lymphgefäßen (z.B. durch Applikation von IL-10) könnte daher von Nutzen sein, um pathologische Entzündungen an der Hornhaut zu therapieren.*

Neben der Steuerung von Entzündungsreaktionen spielen Lymphgefäße auch eine wichtige Rolle bei der Regulation der Flüssigkeitshomöostase [1]. In extraokulären Geweben, wie z. B. der Haut, wurde gezeigt, dass Lymphgefäße notwendig sind, um einen normalen Gewebedruck aufrecht zu erhalten und eine pathologische Ödembildung zu verhindern [15]. Auch für adäquate Wundheilungsreaktionen (an der Haut) spielen Lymphgefäße eine wichtige Rolle, da diese Gefäße wichtig für den Abtransport von inflammatorischen Zellen und Zelldebris sind [15]. In diesem Zusammenhang weisen aktuelle Publikationen darauf hin, dass eine spezifische Aktivierung von Lymphgefäßen (z.B. durch Stimulation mit dem spezifisch lymphangiogenen Wachstumsfaktor VEGF-C) zu einer Verminderung chronischer Entzündungen an der Haut führt [16, 17]. Weiterhin konnte gezeigt werden, dass eine Blockade des lymphangiogenen Rezeptors VEGFR-3 zu einer Ödemsteigerung und Akkumulation von Entzündungszellen (in der Haut) führt [18]. Auch an der Hornhaut kommt es im Rahmen von physiologischen Wundheilungsreaktionen zu einer Ansammlung interstitieller Flüssigkeit, Entzündungszellen und Zelldebris, welche theoretisch über Lymphgefäße abtransportiert werden müssen, so dass uns eine Beteiligung kornealer Lymphgefäße an diesen Prozessen möglich erschien. Daher untersuchten wir in einer aktuellen Studie, ob sich korneale Lymphgefäße während einer akuten Hornhautverletzung ausbilden und ob diese Gefäße (positiv) zum Heilungsverlauf beitragen [19]. In einem Mausmodell der perforierenden Hornhautverletzung, welche zu einem ausgeprägten Hornhautödem führt, konnten wir zeigen, dass Lymphgefäße transient in der Akutphase der Wundheilungsreaktionen in die Hornhaut einwachsen und die Auflösung des Hornhautödems regulieren. Die pharmakologische Hemmung dieser Lymphgefäße durch VEGFR-3-Blockade führte dabei zu einer verzögerten Drainage des Hornhautödems sowie tendenziell langsameren Wiederherstellung der Hornhauttransparenz (**Abb. 1**). Bemerkenswerterweise waren in der Hornhaut eines Patienten mit akutem Hydrops bei akutem Keratokonus ebenfalls Lymphgefäße nachweisbar, so dass die Rolle dieser Gefäße bei der Regulation der kornealen Flüssigkeits-Homöostase auch von klinischer Bedeutung zu sein scheint [19]. *Diese Studie lässt vermuten, dass eine therapeutische Lymphangiogenese in Zukunft bei akuten und ggfs. auch chronischen Ödemen der Hornhaut anwendbar sein könnte, um die Hornhaut wieder aufzuklären.*

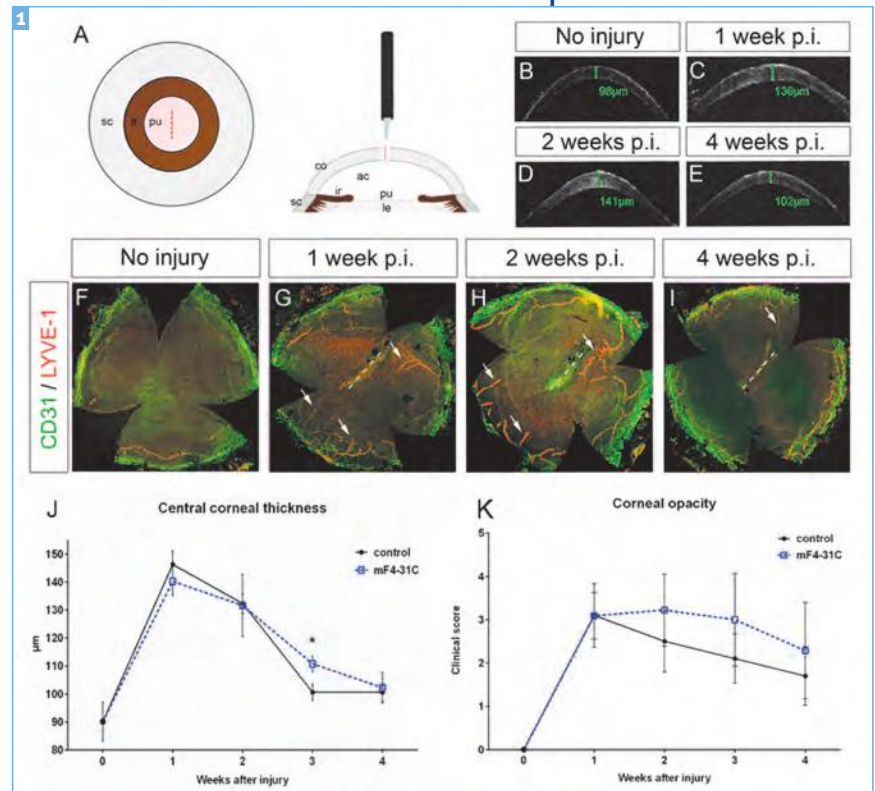


Abbildung 1

■ Korneale Lymphgefäße sind an der Regulation von Hornhautödem und der Hornhauttransparenz beteiligt.

(A) Mausmodell der perforierenden Hornhautverletzung (ac: anterior chamber; co: cornea; ir: iris; le: lens; pu: pupil; sc: sclera); (B–E) In vivo OCT-Scans der Hornhaut nach perforierender Inzision zeigen eine vorübergehende Zunahme der Hornhautdicke als Maß für das Hornhautödem (Grün: zentrale Hornhautdicke; p.i.: post injury). (F–I) Hornhaut-Flachpräparate nach perforierender Inzision zeigen ein transientes Wachstum von Lymphgefäßen in die zentrale Hornhaut (Pfeile). Ein Wachstum von Blutgefäßen ist nicht nachweisbar (rot: LYVE-1 positive Lymphgefäße; grün: CD31 positive Blutgefäße; gestrichelte Linien: Bereich der Inzision). (J, K) Eine Blockade der kornealen Lymphangiogenese führt zu einer signifikant verzögerten Wiederabnahme der Hornhautdicke (J) sowie tendenziell langsameren Wiederherstellung der Hornhauttransparenz (K). Modifiziert aus [19].

Zusammenfassend implizieren die Ergebnisse dieser zwei Arbeiten, dass Lymphgefäße an der Hornhaut auch eine bisher noch nicht beschriebene, physiologische und damit positive Rolle haben können [14, 19]. Diese Erkenntnisse könnten neue Behandlungsmöglichkeiten für Hornhauterkrankungen, die mit pathologischen Entzündungen oder einem Hornhautödem mit nachfolgendem Transparenzverlust einhergehen, eröffnen.

Auch die Glaukumforschung beschäftigt sich inzwischen mit dem lymphatischen System. Einige spannende Arbeiten konnten aktuell zeigen, dass der Schlemm'sche Kanal, der das Kammerwasser aus der vorderen Augenkammer der systemischen Blutzirkulation zuführt und maßgeblich an der Regulation des Augendruckes beteiligt ist, strukturelle Ähnlichkeiten mit einem (embryonalen) Lymphgefäß hat [20–22]. Beispielsweise werden Lymphendothel-spezifische Marker wie PROX-1 und VEGFR-3 durch (Endothel-)Zellen des Schlemm'schen Kanals exprimiert. Weiterhin führt

eine Behandlung mit dem pro-lymphangiogenen Faktor VEGF-C im Mausmodell zu einem »Wachstum« und einer erhöhten Drainage-Kapazität des Schlemm'schen Kanals und damit verbunden zu einer Reduktion des Augendruckes [20]. Darüber hinaus implizieren Studienergebnisse, dass Mutationen in weiteren wichtigen (lymph)vaskulären Faktoren mit kongenitalen Glaukomen assoziiert sind und eine experimentelle Unterbrechung dieser Signalwege in Versuchstieren zum typischen Bild des kongenitalen Glaukoms mit erhöhtem Augeninnendruck und Buphthalmus führt [23–25]. *Somit könnte das lymphatische System zukünftig ein neuer und innovativer Ansatzpunkt bei der Therapie des Glaukoms sein.*

LITERATUR

- Alitalo K., Tammela T. & Petrova T. V. Lymphangiogenesis in development and human disease. *Nature* 438, 946–953, doi: 10.1038/nature04480 (2005).
- Alitalo K. The lymphatic vasculature in disease. *Nature medicine* 17, 1371–1380, doi: 10.1038/nm.2545 (2011).
- Cursiefen C. Immune privilege and angiogenic privilege of the cornea. *Chemical immunology and allergy* 92, 50–57, doi: 10.1159/000099253 (2007).
- Cursiefen C., Chen L., Dana M.R. & Streilein J.W. Corneal lymphangiogenesis: evidence, mechanisms, and implications for corneal transplant immunology. *Cornea* 22, 273–281 (2003).
- Cursiefen C., Kuchle M. & Naumann G. O. Angiogenesis in corneal diseases: histopathologic evaluation of 254 human corneal buttons with neovascularization. *Cornea* 17, 611–613 (1998).
- 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* 117, 1300–1305 e1307, doi: 10.1016/j.ophtha.2010.01.039 (2010).
- Dietrich T. et al. Cutting edge: lymphatic vessels, not blood vessels, primarily mediate immune rejections after transplantation. *Journal of immunology* 184, 535–539, doi: 10.4049/jimmunol.0903180 (2010).
- Hos D. & Cursiefen C. Lymphatic vessels in the development of tissue and organ rejection. *Advances in anatomy, embryology, and cell biology* 214, 119–141, doi: 10.1007/978-3-7091-1646-3_10 (2014).
- Albuquerque R.J. et al. Alternatively spliced vascular endothelial growth factor receptor-2 is an essential endogenous inhibitor of lymphatic vessel growth. *Nature medicine* 15, 1023–1030, doi: 10.1038/nm.2018 (2009).
- Goyal S., Chauhan S.K. & Dana R. Blockade of prolymphangiogenic vascular endothelial growth factor C in dry eye disease. *Archives of ophthalmology* 130, 84–89, doi: 10.1001/archophthol.2011.266 (2012).
- Goyal, S. et al. Evidence of corneal lymphangiogenesis in dry eye disease: a potential link to adaptive immunity? *Archives of ophthalmology* 128, 819–824, doi: 10.1001/archophthol.2010.124 (2010).
- Lee H.S. et al. Involvement of corneal lymphangiogenesis in a mouse model of allergic eye disease. *Investigative ophthalmology & visual science* 56, 3140–3148, doi: 10.1167/iovs.14-16186 (2015).
- Bock F. et al. Novel anti(lymph)angiogenic treatment strategies for corneal and ocular surface diseases. *Progress in retinal and eye research* 34, 89–124, doi: 10.1016/j.preteyeres.2013.01.001 (2013).
- Hos D. et al. IL-10 Indirectly Regulates Corneal Lymphangiogenesis and Resolution of Inflammation via Macrophages. *The American journal of pathology* 186, 159–171, doi: 10.1016/j.ajpath.2015.09.012 (2016).
- Oliver G. & Delmar M. The rediscovery of the lymphatic system: old and new insights into the development and biological function of the lymphatic vasculature. *Genes & development* 16, 773–783, doi: 10.1101/gad.975002 (2002).
- Huggenberger R. & Delmar M. The cutaneous vascular system in chronic skin inflammation. *The journal of investigative dermatology. Symposium proceedings / the Society for Investigative Dermatology, Inc. [and] European Society for Dermatological Research* 15, 24–32, doi: 10.1038/jidsymp.2011.5 (2011).
- Huggenberger R. et al. An important role of lymphatic vessel activation in limiting acute inflammation. *Blood* 117, 4667–4678, doi: 10.1182/blood-2010-10-316356 (2011).
- Huggenberger R. et al. Stimulation of lymphangiogenesis via VEGFR-3 inhibits chronic skin inflammation. *The Journal of experimental medicine* 207, 2255–2269, doi: 10.1084/jem.20100559 (2010).
- Hos D. et al. Transient Ingrowth of Lymphatic Vessels into the Physiologically Avascular Cornea Regulates Corneal Edema and Transparency. *Sci Rep in press* (2017).
- Aspelund A. et al. The Schlemm's canal is a VEGF-C/VEGFR-3-responsive lymphatic-like vessel. *The Journal of clinical investigation* 124, 3975–3986, doi: 10.1172/JCI75395 (2014).
- Park D.Y. et al. Lymphatic regulator PROX1 determines Schlemm's canal integrity and identity. *The Journal of clinical investigation* 124, 3960–3974, doi: 10.1172/JCI75392 (2014).
- Truong T.N., Li H., Hong Y.K. & Chen L. Novel characterization and live imaging of Schlemm's canal expressing Prox-1. *PLoS one* 9, e98245, doi: 10.1371/journal.pone.0098245 (2014).
- Leppanen V.M., Saharinen P. & Alitalo K. Structural basis of Tie2 activation and Tie2/Tie1 heterodimerization. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 114, 4376–4381, doi: 10.1073/pnas.1616166114 (2017).
- Souma T. et al. Angiopoietin receptor TEK mutations underlie primary congenital glaucoma with variable expressivity. *The Journal of clinical investigation* 126, 2575–2587, doi: 10.1172/JCI85830 (2016).
- Thomson B.R. et al. A lymphatic defect causes ocular hypertension and glaucoma in mice. *The Journal of clinical investigation* 124, 4320–4324, doi: 10.1172/JCI77162 (2014).

KONTAKT



Dr. med. Dr. nat. med. Deniz Hos, FEBO
 Zentrum für Augenheilkunde
 Uniklinik Köln
 Kerpener Straße 62
 50924 Köln
 Telefon: 0221 478 98896
 E-Mail: deniz.hos@uk-koeln.de

AddOn[®]

4-fache
Feinkorrektur für
pseudophake Augen



First Quality
in Ophthalmology



AddOn[®]
SML



AddOn[®]
torisch

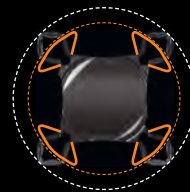


AddOn[®]
progressiv

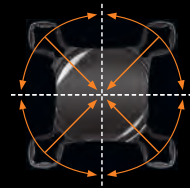


AddOn[®]
sphärisch

mit 4-facher
Sicherheit im Sulkus



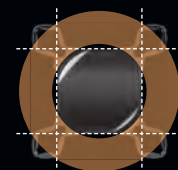
Sulkus Fit
durch 4 flexible Haptiken



Rotationsstabilität
durch Non Torque Design



Non IOL Touch & Zell-Stopp
durch konvex-konkave Optik



Non Iris Capture
durch Square Design

Neuronale Zeroidlipofuszinosen und die Netzhaut: von Tiermodellen und Patienten

WANDA JANKOWIAK, DR. SIMON DULZ, DR. YEVGENIYA ATISKOVA,
DR. SUSANNE BARTSCH, PROF. DR. MARTIN SPITZER,
PROF. DR. UDO BARTSCH

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

Die neuronalen Zeroidlipofuszinosen (NCL) sind eine Gruppe genetisch heterogener lysosomaler Speichererkrankungen, die gewöhnlich im Kindesalter auftreten [Mole and Williams, 1993; Haltia, 2003]. Obwohl NCLs mit einer Inzidenz von 1,3 bis 7 in 100.000 Geburten [Mole et al., 2011] zu den seltenen Erkrankungen gehören, bilden sie die größte Gruppe erblich bedingter neurodegenera-

tiver Erkrankungen im Kindesalter. Bisher wurden krankheitsverursachende Mutationen in mehr als einem Dutzend unterschiedlicher Gene (CLN1-CLN8, CLN10-CLN14) nachgewiesen [Kollmann et al., 2013; Mole and Cotman, 2015] und weitere Kandidaten-Gene wurden kürzlich identifiziert [Di Fruscio et al., 2015]. Diese Gene kodieren für lysosomale Enzyme, lysosomale Membranproteine, Membranproteine des endoplasmatischen Retikulums, lösliche Proteine oder das cysteine string protein alpha (CSP α) auf synaptischen Vesikeln. Mit Ausnahme von CSP α und den lysosomalen Enzymen sind die Funktionen dieser Genprodukte noch weitgehend unbekannt. Zu den typischen Symptomen dieser fatalen neurodegenerativen Speichererkrankungen gehören kognitive und motorische Entwicklungsrückschritte, Epilepsie sowie ein vorzeitiger Tod [Haltia, 2003]. Eine retinale Degeneration mit fortschreitender Visusminderung bis hin zur Erblindung ist ein weiteres charakteristisches Symptom der meisten NCL Varianten [Schulz et al., 2013; Craiu et al., 2015; **Tabelle 1**]. Gegenwärtig existieren für diese Erkrankungen keine effektiven Behandlungsmöglichkeiten.

Für die meisten NCL Varianten existieren natürlich vorkommende oder transgene Mausmutanten, die aufgrund ihrer Phänotypen als geeignete Tiermodelle für diese Erkrankungen angesehen werden können [Shacka, 2012; Bond et al., 2013]. Ähnlich wie bei den NCL Patienten findet man in vielen dieser Mausmodelle eine fortschreitende retinale Degeneration [Shacka, 2012; Bond et al., 2013; **Abb. 1; Tabelle 1**]. Unsere Arbeitsgruppe beschäftigt sich mit der Charakterisierung des retinalen Phänotyps ausgewählter NCL Mausmodelle, um Einblicke in die Pathomechanismen der retinalen Dystrophien zu erhalten. Außerdem nutzen wir diese Tiermodelle, um Therapiestrategien für die Behandlung der retinalen Degenerationen bei NCL Erkrankungen zu entwickeln und zu evaluieren.

Die *nclf* Maus ist eine natürlich vorkommende Mutante mit einer Leserastermutation im *Cln6* Gen, das für ein polytopisches Membranprotein des endoplasmatischen Retikulums mit unbekannter Funktion kodiert. Dieses Tiermodell ist durch eine Akkumulation von Lipopigmenten, eine Neurodegeneration im Gehirn und einen vorzeitigen Tod charakterisiert. Die *nclf* Maus zeigt

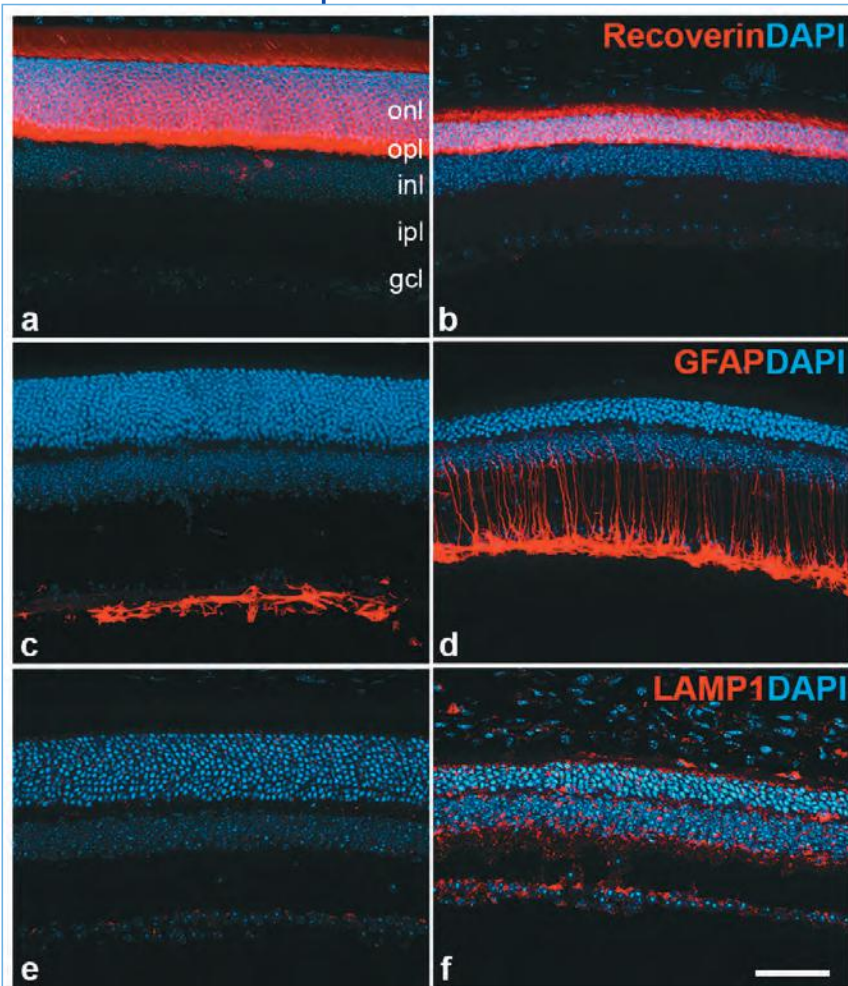


Abbildung 1

■ Verlust von Recoverin-positiven Photorezeptoren (**b**), erhöhte Expression von glial fibrillary acidic protein (GFAP, »reaktive Astrogliose«) in Müllerzellen und retinalen Astrozyten (**d**) und Dysregulation des lysosomalen Membranproteins LAMP1 (**f**) in Netzhäuten 4 Monate alter CLN7-defizienter Mäuse im Vergleich zu gleichaltrigen Wildtyp-Netzhäuten (**a, c, e**). gcl, Ganglienzellschicht; inl, innere nukleäre Schicht; ipl, innere plexiforme Schicht; onl, äußere nukleäre Schicht; opl, äußere plexiforme Schicht. Balken in (**f**): 50 µm.

zudem ähnlich wie CLN6 Patienten [Sharp et al., 2003] eine früh einsetzende und rasch fortschreitende retinale Degeneration, und kann damit als ein geeignetes Tiermodell für die CLN6 Erkrankung (variant late infantile NCL (vLINCL)) angesehen werden [Bronson et al., 1998; Bartsch et al., 2013; Mirza et al., 2013; Morgan et al., 2013]. Zusätzlich zu einer apoptotischen Degeneration der Photorezeptoren ist die Netzhaut der *nclf* Maus durch eine massive reaktive Astrogliose, eine Hochregulation des lysosomalen Enzyms Cathepsin D und des lysosomalen Transmembranproteins Lamp1, sowie eine Akkumulation von Speichermaterial mit der typischen Ultrastruktur von »fingerprint profiles« und »curvilinear bodies« charakterisiert [Bartsch et al., 2013].

Die CLN7 Erkrankung wird durch Mutationen im *CLN7/MFSD8* Gen verursacht, das für ein lysoso-

males Membranprotein mit einer vermuteten Transporter-Funktion kodiert [Wheeler et al., 1999; Siintola et al., 2007]. Betroffene Patienten zeigen die charakteristischen Symptome einer NCL Erkrankung, einschließlich einer retinalen Degeneration [Kousi et al., 2009]. Interessanterweise wurden in einigen Patienten außerdem compound-heterozygote Mutationen im *CLN7/MFSD8* Gen identifiziert, die isolierte retinale Pathologien ohne die weiteren typischen neurologischen Symptome einer NCL Erkrankung verursachen [Roosing et al., 2015; Khan et al., 2017]. In Untersuchungen einer hypomorphen [Damme et al., 2014] und einer CLN7-defizienten Mauslinie [Brandenstein et al., 2016; Jankowiak et al., 2016] konnten viele phänotypische Merkmale nachgewiesen werden, die auch für CLN7 Patienten charakteristisch sind – einschließlich einer früh einsetzenden und schnell fortschreitenden retina-

Erkrankung	Gen	Protein	Krankheitsbeginn bei Patienten	retinale Degeneration	
				Patienten	Mausmodell
CLN1	<i>PPT1</i>	Palmitoylprotein-Thioesterase 1	infantil, spät-infantil, juvenil, adult	+	+
CLN2	<i>TPP1</i>	Tripeptidyl-peptidase 1	spät-infantil, juvenil	+	-
CLN3	<i>CLN3</i>	CLN3	juvenil	+ [1]	+ [2]
CLN4	<i>DNAJC5</i>	Soluble cysteine string protein α (CSP α)	adult	-	+
CLN5	<i>CLN5</i>	CLN5	spät-infantil, juvenil, adult	+	+
CLN6	<i>CLN6</i>	CLN6	spät-infantil, adult	+	+
CLN7	<i>MFSD8</i>	Major facilitator superfamily domain containing 8	spät-infantil	+ [1]	+
CLN8	<i>CLN8</i>	CLN8	spät-infantil	+	+
CLN9	unbekannt	CLN9	juvenil	+	kein Mausmodell vorhanden
CLN10	<i>CTSD</i>	Cathepsin D	kongenital [3], infantil [3], spät-infantil, juvenil, adult [3]	+	+
CLN11	<i>GRN</i>	Progranulin	adult	+	+
CLN12	<i>ATP13A2</i>	P-Typ ATPase	juvenil	-	n.d.
CLN13	<i>CTSF</i>	Cathepsin F	adult	-	n.d.
CLN14	<i>KCTD7</i>	Potassium channel tetramerization domain-containing protein 7	infantil	+	kein Mausmodell vorhanden

Tabelle 1

■ +: retinale Degeneration beschrieben; -: keine retinale Degeneration beschrieben; n. d.: Retina nicht untersucht [1] auch nicht-syndromale retinale Degenerationen beschrieben; [2] retinaler Phänotyp in allen vier vorhandenen Mausmodellen nur sehr schwach ausgeprägt; [3] keine publizierten Daten zum okulären Phänotyp. Bei unterschiedlichem Krankheitsbeginn innerhalb einer genetisch definierten NCL Erkrankung ist die Variante fett markiert, bei der Patienten mit einer retinalen Degeneration beschrieben wurden.

len Degeneration, die zu einem Verlust von etwa 70% der Stäbchen-Photorezeptoren in 4 Monate alten Mutanten führt (**Abb. 1**). Die retinale Degeneration wird von einer ausgeprägten Astrogliose und Mikrogliose begleitet. Außerdem konnten wir in den Netzhäuten der CLN7-defizienten Mäuse eine Akkumulation von Speicher material mit der Untereinheit C der mitochondrialen ATP-Synthase und dem Sphingolipid Aktivator Protein D (Saposin D) sowie eine massive Dysregulation der lysosomalen Enzyme Cathepsin D und Cathepsin Z und des lysosomalen Proteins Lamp1 beobachten (**Abb. 1**) [Jankowiak et al., 2016].

Die verschiedenen charakteristischen zellulären und molekularen Veränderungen in den Netzhäuten der *nclf* Maus, der CLN7-defizienten Maus sowie weiteren NCL Mausmodellen mit dysfunktionalen lysosomalen Enzymen werden von uns genutzt, um die Effektivität experimenteller Therapieansätze an der Netzhaut zu evaluieren. Für NCL Varianten, die durch Dysfunktionen transmembraner Proteine verursacht werden (z.B. CLN6, CLN7), gehören beispielsweise eine korrektive Gentherapie oder neuroprotektive Therapieansätze zu den denkbaren Therapieoptionen. Da neuroprotektive Faktoren i.d.R. kurze Halbwertszeiten haben und die Blut-Hirn-Schranke nicht überqueren können, müssen für diesen Therapieansatz Methoden entwickelt werden, mit denen man neuroprotektive Proteine lokal, kontinuierlich und über lange Zeiträume in die dystrophen Netzhäute einschleusen kann. Um diese Ziele zu erreichen, haben wir mittels polycistronischer lentiviraler Vektoren eine sezernierbare Variante des »ciliary neurotrophic factor« (CNTF) in neuronalen Stammzellen stabil überexprimiert. Über intravitreale Injektionen dieser genetisch modifizierten Stammzelllinien in *nclf* Mäuse zu Beginn der retinalen Degeneration konnten wir das Fortschreiten der Photorezeptordegeneration signifikant verzögern [Jankowiak et al., 2015]. Neben den genannten neuroprotektiven Therapieansätzen haben wir zudem mit dem Aufbau einer korrekativen Gentherapie begonnen. Bei NCL Varianten, die durch Dysfunktionen lysosomaler Enzyme verursacht werden, ist die Applikation eines funktionalen Enzyms – beispielsweise durch Injektionen rekombinanter Proteine, einen Virusvermittelten Gentransfer oder eine zellbasierte Applikationsstrategie – eine zusätzliche vielversprechende Therapieoption [Neverman et al., 2015; Geraets et al., 2016]. Auch hier haben wir Projekte initiiert, um zu untersuchen, ob und in welchem Umfang mit diesen Therapiestrategien eine retinale Degeneration in entsprechenden NCL Mausmodellen verzögert oder eventuell aufgehalten werden kann.

Das klinische Erscheinungsbild von NCL Patienten – einschließlich des retinalen Phänotyps – ist sowohl zwischen verschiedenen genetisch definier-

ten NCL Formen als auch innerhalb einer genetisch definierten NCL Form zumeist hoch variabel. Die CLN3 Erkrankung ist aus ophthalmologischer Sicht eine besonders relevante NCL Form, da sie zu den häufigsten NCL Varianten gehört und zudem eine rasch voranschreitende Visusminderung meistens als erstes klinisches Symptom auftritt [Ouseph et al., 2016]. In der Literatur sind elektrophysiologisch reduzierte bis erloschene skotopische und photopische Elektroretinogramme und ähnliche morphologische Veränderungen wie bei einer Retinitis pigmentosa (Optikusatrophy, Gefäßrarefizierung, periphere Knochenkörperchen, Pigmentalationen in der Makula) beschrieben [Weleber, 1998; Eksandh et al., 2000; Krohne et al., 2010]. Auch wenn die Diagnosestellung aus ophthalmologischer Sicht weiterhin außerordentlich schwierig ist, konnte die Arbeitsgruppe von Dulz mittels optischer Kohärenztomographie (OCT) vertikal verlaufende makuläre Striae in der inneren Netzhautschicht von CLN3 Patienten detektieren [Dulz et al., 2016], und so entscheidend zur Phänotypisierung der Retina und damit zur verbesserten Diagnostik der CLN3 Erkrankung beitragen. Zugleich zeigen laufende Untersuchungen der Arbeitsgruppe, dass die OCT Bildgebung bei der CLN3 Erkrankung eine geeignete Methode darstellt, um das Ausmaß der retinalen Degeneration abzuschätzen. Diese Tatsache, sowie die robuste Korrelation zwischen der Ausprägung der retinalen und der zerebralen Neurodegeneration, machen die OCT Bildgebung zu einem attraktiven nicht-invasiven Instrument für künftige klinische Therapiestudien [Dulz et al., 2017].

LITERATUR

- Bartsch U., Galliciotti G., Jofre G.F., Jankowiak W., Hagel C., Braulke T. (2013) Apoptotic photoreceptor loss and altered expression of lysosomal proteins in the *nclf* mouse model of neuronal ceroid lipofuscinosis. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 54: 6952–6959.
- Bond M., Holthaus S.M., Tammen I., Tear G., Russell C. (2013) Use of model organisms for the study of neuronal ceroid lipofuscinosis. *Biochim Biophys Acta* 1832: 1842–1865.
- Brandenstein L., Schweizer M., Sedlacik J., Fiehler J., Storch S. (2016) Lysosomal dysfunction and impaired autophagy in a novel mouse model deficient for the lysosomal membrane protein Cln7. *Hum Mol Genet* 25: 777–791.
- Bronson R.T., Donahue L.R., Johnson K.R., Tanner A., Lane P.W., Faust J.R. (1998) Neuronal ceroid lipofuscinosis (*nclf*), a new disorder of the mouse linked to chromosome 9. *Am J Med Genet* 77: 289–297.
- Craiu D., Dragostin O., Dica A., Hoffman-Zacharska D., Gos M., Bastian A.E., Gherghiceanu M., Rolfs A., Nahavandi N., Craiu M., Iliescu C. (2015) Rett-like onset in late-infantile neuronal ceroid lipofuscinosis (CLN7) caused by compound heterozygous mutation in the MFSD8 gene and review of the literature data on clinical onset signs. *Eur J Paediatr Neurol* 19: 78–86.

- Damme M., Brandenstein L., Fehr S., Jankowiak W., Bartsch U., Schweizer M., Hermans-Borgmeyer I., Storch S. (2014) Gene disruption of *Mfsd8* in mice provides the first animal model for CLN7 disease. *Neurobiol Dis* 65: 12–24.
- Di Fruscio G., Schulz A., De Cegli R., Savarese M., Mutarelli M., Parenti G., Banfi S., Bralke T., Nigro V., Ballabio A. (2015) Lysoplex: An efficient toolkit to detect DNA sequence variations in the autophagy-lysosomal pathway. *Autophagy* 11: 928–938.
- Dulz S., Wagenfeld L., Nickel M., Richard G., Schwartz R., Bartsch U., Kohlschütter A., Schulz A. (2016) Novel morphological macular findings in juvenile CLN3 disease. *Br J Ophthalmol* 100: 824–828.
- Dulz S., Atiskova Y., J. H., Wagenfeld L., Nickel M., Sedlacik J., C. S., M.S. S., Kohlschütter A., Schulz A. (2017) SD-OCT imaging of retinal degeneration in juvenile CLN3 disease – a potential adjunctive tool for global neurodegenerative assessment. In: ARVO 2017. Baltimore.
- Eksandh L.B., Ponjavic V.B., Munroe P.B., Eiberg H.E., Uvebrant P.E., Ehinger B.E., Mole S.E., Andreasson S. (2000) Full-field ERG in patients with Batten/Spielmeyer-Vogt disease caused by mutations in the CLN3 gene. *Ophthalmic Genet* 21: 69–77.
- Geraets R.D., Koh S., Hastings M.L., Kielian T., Pearce D.A., Weimer J.M. (2016) Moving towards effective therapeutic strategies for Neuronal Ceroid Lipofuscinosis. *Orphanet J Rare Dis* 11: 40.
- Haltia M. (2003) The neuronal ceroid-lipofuscinoses. *J Neuropathol Exp Neurol* 62: 1–13.
- Jankowiak W., Brandenstein L., Dulz S., Hagel C., Storch S., Bartsch U. (2016) Retinal Degeneration in Mice Deficient in the Lysosomal Membrane Protein CLN7. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 57: 4989–4998.
- Jankowiak W., Kruszewski K., Flachsbarth K., Skevas C., Richard G., Ruther K., Bralke T., Bartsch U. (2015) Sustained Neural Stem Cell-Based Intraocular Delivery of CNTF Attenuates Photoreceptor Loss in the *ncl* Mouse Model of Neuronal Ceroid Lipofuscinosis. *PLoS One* 10:e0127204.
- Khan K. N. et al. (2017) Specific Alleles of CLN7/MFSD8, a Protein That Localizes to Photoreceptor Synaptic Terminals, Cause a Spectrum of Nonsyndromic Retinal Dystrophy. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 58: 2906–2914.
- Kollmann K., Uusi-Rauva K., Scifo E., Tynnela J., Jalanko A., Bralke T. (2013) Cell biology and function of neuronal ceroid lipofuscinosis-related proteins. *Biochim Biophys Acta* 1832: 1866–1881.
- Kousi M., Siintola E., Dvorakova L., Vlaskova H., Turnbull J., Topcu M., Yuksel D., Gokben S., Minassian B.A., Elleder M., Mole S.E., Lehesjoki A.E. (2009) Mutations in CLN7/MFSD8 are a common cause of variant late-infantile neuronal ceroid lipofuscinosis. *Brain* 132: 810–819.
- Krohne T.U., Herrmann P., Kopitz J., Ruther K., Holz F.G. (2010) [Juvenile neuronal ceroid lipofuscinosis. Ophthalmologic findings and differential diagnosis]. *Ophthalmologie* 107: 606–611.
- Mirza M., Volz C., Karlstetter M., Langiu M., Somogyi A., Ruonala M.O., Tamm E.R., Jagle H., Langmann T. (2013) Progressive retinal degeneration and glial activation in the CLN6 (*ncl*) mouse model of neuronal ceroid lipofuscinosis: a beneficial effect of DHA and curcumin supplementation. *PLoS One* 8:e75963.
- Mole S.E., Williams R.E. (1993) Neuronal Ceroid-Lipofuscinoses. In: GeneReviews(R) (Pagon R.A., Adam M.P., Ardinger H.H., Wallace S.E., Amemiya A., Bean L.J.H., Bird T.D., Ledbetter N., Mefford H.C., Smith R.J.H., Stephens K., eds). Seattle (WA).
- Mole S.E., Cotman S.L. (2015) Genetics of the neuronal ceroid lipofuscinoses (Batten disease). *Biochim Biophys Acta* 1852: 2237–2241.
- Morgan J.P., Magee H., Wong A., Nelson T., Koch B., Cooper J.D., Weimer J.M. (2013) A murine model of variant late infantile ceroid lipofuscinosis recapitulates behavioral and pathological phenotypes of human disease. *PLoS One* 8:e78694.
- Neverman N.J., Best H.L., Hofmann S.L., Hughes S.M. (2015) Experimental therapies in the neuronal ceroid lipofuscinoses. *Biochim Biophys Acta* 1852: 2292–2300.
- Ouseph M.M., Kleinman M.E., Wang Q.J. (2016) Vision loss in juvenile neuronal ceroid lipofuscinosis (CLN3 disease). *Ann N Y Acad Sci* 1371: 55–67.
- Roosing S., van den Born L.I., Sangermano R., Banfi S., Koenkoop R.K., Zonneveld-Vrieling M.N., Klaver C.C., van Lith-Verhoeven J.J., Cremers F.P., den Hollander A.I., Hoyng C.B. (2015) Mutations in MFSD8, encoding a lysosomal membrane protein, are associated with non-syndromic autosomal recessive macular dystrophy. *Ophthalmology* 122: 170–179.
- Schulz A., Kohlschütter A., Mink J., Simonati A., Williams R. (2013) NCL diseases – clinical perspectives. *Biochim Biophys Acta* 1832: 1801–1806.
- Shacka J.J. (2012) Mouse models of neuronal ceroid lipofuscinoses: useful pre-clinical tools to delineate disease pathophysiology and validate therapeutics. *Brain Res Bull* 88: 43–57.
- Sharp J.D., Wheeler R.B., Parker K.A., Gardiner R.M., Williams R.E., Mole S.E. (2003) Spectrum of CLN6 mutations in variant late infantile neuronal ceroid lipofuscinosis. *Hum Mutat* 22: 35–42.
- Siintola E., Topcu M., Aula N., Lohi H., Minassian B.-A., Paterson A.D., Liu XQ, Wilson C., Lahtinen U., Anttonen A.K., Lehesjoki A.E. (2007) The novel neuronal ceroid lipofuscinosis gene MFSD8 encodes a putative lysosomal transporter. *Am J Hum Genet* 81: 136–146.
- Weleber R.G. (1998) The dystrophic retina in multisystem disorders: the electroretinogram in neuronal ceroid lipofuscinoses. *Eye (Lond)* 12 (Pt 3b): 580–590.
- Wheeler R.B., Sharp J.D., Mitchell W.A., Bate S.L., Williams R.E., Lake B.D., Gardiner R.M. (1999) A new locus for variant late infantile neuronal ceroid lipofuscinosis-CLN7. *Mol Genet Metab* 66: 337–338.



Prof. Dr. Udo Bartsch

Klinik und Poliklinik für Augenheilkunde
Experimentelle Ophthalmologie
Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf
Martinistraße 52
20246 Hamburg
Telefon: 040 7410-55945
Telefax: 040 7410-55017
E-Mail: ubartsch@uke.uni-hamburg.de

KONTAKT



SÜDSUDAN © Isabel Corthier



Liebe Kollegin, Lieber Kollege:
Wir brauchen
Ihre Solidarität!

Unterstützen Sie unsere medizinische Nothilfe
weltweit - als Mitarbeiterin oder Mitarbeiter
im Projekt oder als Dauerspender.

Vielen Dank,
Volker Herzog

Ihr Dr. Volker Herzog
seit 15 Jahren im Einsatz für
Ärzte ohne Grenzen

JETZT PARTNERARZT WERDEN!

GEMEINSAM KÖNNEN WIR MEHR BEWIRKEN. Erfahren Sie bei uns, wie Sie Ihre Kollegen und Kolleginnen im Projekteinsatz unterstützen können: www.aerzte-ohne-grenzen.de/partnerarzt



Geprüft + Empfohlen!

SPENDENKONTO:

BANK FÜR SOZIALWIRTSCHAFT

IBAN: DE 72 3702 0500 0009 7097 00

BIC: BFSWDE33XXX



**MEDECINS SANS FRONTIERES
ÄRZTE OHNE GRENZEN e.V.**

Träger des Friedensnobelpreises

BIOMECHANIK TRIFFT TOMOGRAPHIE

HEY CORVIS

Ich habe mir gerade die Tomo angeschaut.
Die Cornea ist sehr dünn.
Also ich würde nicht operieren.

HI PENTACAM

Die Biomechanik sieht aber gut aus.
Die Cornea ist sehr stabil.
Ich sehe die OP unkritisch.

O.K. TOGETHER NOW

Tomographie und Biomechanik
zusammen betrachtet erleichtert die
Entscheidung: Wir könnten operieren!

Kombinierte Messergebnisse für eine sichere OP-Entscheidung

Profitieren Sie von tomographischen Daten der Pentacam®
kombiniert mit biomechanischen Daten des Corvis® ST.
Mehr Patienten sicher operativ versorgen!

Live auf der DOG, Stand C.09

Nicht-virale Gentherapie zur Behandlung degenerativer Netzhauterkrankungen

DR. RER. NAT. SANDRA JOHNNEN¹, DIPL.-BIOL. SABINE DIARRA¹,
UNIV.-PROF. DR. MED. GABRIELE THUMANN²,
UNIV.-PROF. DR. MED. PETER WALTER¹

1 **Klinik für Augenheilkunde,**
Uniklinik
RWTH Aachen

2 **Service d'Ophtalmologie,**
Hôpitaux
Universitaires de
Genève

Die zunehmende Inzidenz neurodegenerativer Erkrankungen ist auf den demographischen Wandel hin zu einer immer älter werdenden Gesellschaft zurückzuführen und stellt für das Gesundheitssystem ein großes Problem dar. Die Pathomechanismen sind größtenteils nur unzureichend verstanden, was die Etablierung definierter Behandlungskonzepte erschwert und zu einer verschlechterten Lebensqualität der Patienten führt. Die zu den degenerativen Erkrankungen der Netzhaut zählende altersbedingte Makuladegeneration (AMD) macht 8,7% der weltweiten Erblindungsfälle aus und gilt in den industrialisierten Ländern als häufigste Erblindungsursache [1]. In Europa sind in der Altersgruppe zwischen 55 bis 59 Jahren 3,5% der Bevölkerung von der frühen Form betroffen. Bei den über 85-Jährigen steigt die Anzahl der Betroffenen auf 17,6% an. Im Fall der späten AMD, die in die Subtypen geographische Atrophie und choroidale Neovaskularisation (CNV, neovaskuläre AMD) unterteilt wird, ist für den gleichen Zeitraum eine Zunahme von 0,1% auf 9,8% zu verzeichnen [2].

Die Behandlung der neovaskulären AMD mit den anti-angiogenen Wirkstoffen Bevacizumab, Ranibizumab und Aflibercept beruht auf der verstärkten Expression des *Vascular Endothelial Growth Factor* (VEGF) bei gleichzeitig konstanter bzw. verminderter Expression des *Pigment Epithelium-Derived Factor* (PEDF) [3]. Dieses Ungleichgewicht ist für das Einwachsen von Blutgefäßen durch die Bruchmembran und das retinale Pigmentepithel (RPE) in die Netzhaut verantwortlich und führt letztendlich zur Degeneration der RPE Zellen und zum Visusverlust. Die anti-VEGF Therapie bewirkt eine Stabilisierung der Sehschärfe, führt aber bei nur 30 bis 40% der Patienten zu einer Verbesserung des Visus. Zudem bringen die oftmals monatlich zu wiederholenden intravitrealen Injektionen eine hohe Belastung für die Patienten und deren Angehörigen mit sich.

Diese repetitiven Behandlungen könnten durch das Einbringen eines CNV-unterdrückenden Wirkstoffes, der kontinuierlich produziert und freigesetzt wird, umgangen werden. Eine derartige ununterbrochene Wirkstoffproduktion kann durch gentherapeutische Verfahren gewährleistet werden. Beispiele hierfür, die in klinischen Studien bei Patienten mit neovaskulärer AMD Anwendung finden, sind die Injektion adeno-assoziiierter viraler (AAV) oder lentiviraler Vektoren, die die geni-

sche Information für den anti-angiogenen VEGF-Rezeptor sFLT-1 bzw. die anti-angiogenen Faktoren Endostatin und Angiostatin kodieren. Eine von Campochiaro und Kollegen durchgeführte klinische Phase 1 Studie beschreibt die Verabreichung eines *PEDF*-kodierenden adenoviralen (Ad) Vektors. Hier konnte in Abhängigkeit von der injizierten Partikelzahl eine anti-angiogene Aktivität über mehrere Monate nachgewiesen werden [4].

Trotz der guten Effizienz und vielfach beschriebenen Anwendung in klinischen Studien ist die virale Gentherapie nicht frei von Schwierigkeiten. Die nicht-integrierenden Ad und AAV Vektoren benötigen möglicherweise Wiederholungsinjektionen, was Immunantworten auslösen kann. Aufgrund der bevorzugten Integration in aktive Genomabschnitte bergen lentivirale und retrovirale Vektoren das Risiko einer Insertionsmutagenese, die sowohl für die Wirtszelle als auch für den Patienten selbst schädlich sein kann.

Unter der Leitung von G. Thumann ist ein zellbasiertes Gentherapiekonzept zur Behandlung der neovaskulären AMD entwickelt worden, welches die Isolation, eine *ex vivo* Transfektion und anschließende subretinale Transplantation von patienteneignen Pigmentepithelzellen, die in der Folge verstärkt PEDF sezernieren, beschreibt. PEDF ist ein im RPE natürlich vorkommender Angiogenese-Inhibitor, der überdies neuroprotektive Eigenschaften besitzt. Die genetische Modifikation beruht auf dem Elektroporations-basierten Einbringen des Plasmid-kodierten PEDF in die Zellen und der nachfolgenden Integration des Gens ins Zellgenom, katalysiert durch das nicht-virale *Sleeping Beauty* (*SB100X*) Transposonsystem [5]. Transposons sind natürlich vorkommende DNA Fragmente, die ihre Lokalisation im Genom ändern können, was man sich für die Übertragung von Transgenen zunutze gemacht hat. Anders als bei lentiviralen und retroviralen Vektoren erfolgt die Genomintegration zufällig, so dass neben dem Ausbleiben möglicher virus-bedingter Immunantworten das Sicherheits- und Toxizitätsprofil des *SB100X* Systems erhöht ist. Wir konnten zeigen, dass die Elektroporation eine geeignete Methode zur Transfektion von primären Pigmentepithelzellen ist [6, 7] und haben mit Hilfe des *SB100X* Transposonsystems ein Protokoll zum effizienten und stabilen *PEDF* Gentransfer etabliert [8]. Die anti-angiogene Funktionalität der *PEDF*-

Förderung

EU, TargetAMD, Grant Agreement No: 305134

DFG, JO 1263/1-3

Exploratory Research

Space, Seed Fund, OPSF337

PRO RETINA-Stiftung

Freifrau-von-Nauendorf-Förderpreis

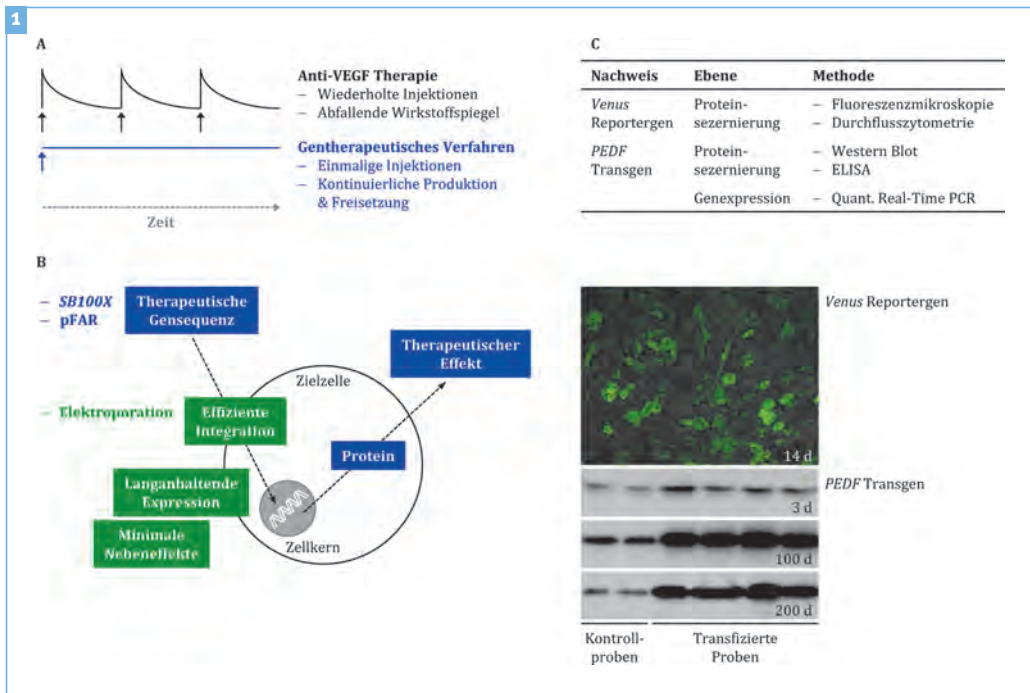


Abbildung 1:
■ **Gentherapie zur Behandlung degenerativer Netzhauterkrankungen.**

(A) Therapie-abhängige Wirkstoffspiegel.
(B) Zell-basiertes additives Gentherapiekonzept.
(C) Methoden zum Nachweis der Protein-sekretion und der Transgenexpression.

transfizierten Pigmentepithelzellen wurde mit Hilfe unterschiedlicher *in vitro* und *in vivo* Modelle veranschaulicht [9, 10].

Bei den bis dato verwendeten Plasmiden war deren Produktion an ein Plasmid-kodiertes Antibiotika-Resistenzgen gekoppelt, d.h. die Anzucht der Plasmid-tragenden Bakterien erfolgte in Anwesenheit eines Antibiotikums. Für Patienten mit einer Hypersensitivität gegenüber Antibiotika würde eine entsprechende Kontamination des finalen Produkts ein Gesundheitsrisiko darstellen. Aus diesem Grund wurden das PEDF Gen und die Komponenten des SB100X Transposonsystems in ein Plasmid ohne Antibiotika-Resistenzgen (pFAR, *plasmid free of antibiotic resistance markers*) kloniert. Unter Verwendung dieser Plasmide haben wir in wiederholten Experimenten zeigen können, dass geringe Zellzahlen von maximal 1×10^4 primären humanen Pigmentepithelzellen effizient transfiziert werden können. Sowohl auf Genexpressionsebene als auch auf Ebene der Proteinsekretion waren signifikant erhöhte PEDF Spiegel im Vergleich zu nicht-transfizierten Kontrollzellen nachweisbar; die genomische Integration des PEDF Transgens erfolgte annähernd zufällig [11]. Diese Arbeiten wurden im Rahmen des von der EU geförderten Projektes TargetAMD durchgeführt, das darüber hinaus weitere Fragestellungen zur Optimierung des *ex vivo* Elektroporationsprozesses für die klinische Anwendung beinhaltet [12].

Der Austausch des PEDF Gens gegen die Sequenzen anderer therapeutisch wirksamer Faktoren ermöglicht die Ausweitung der Transposon-basierten additiven Gentherapie auf weitere degenerative Augenerkrankungen, wie die frühe Form der AMD, das Glaukom oder Retinitis pigmentosa. Im Fall der frühen AMD konzentriert sich die bisherige

Behandlung auf Strategien zur Unterdrückung von Entzündungsreaktionen bzw. zur Vorbeugung von Zellverlust durch den neuroprotektiven *Ciliary Neurotrophic Factor* (CNTF). Auch beim Glaukom gilt der Einsatz von Neuroprotektiva als vielversprechende Behandlungsoption. Neben CNTF gelten der *Brain-Derived Neurotrophic Factor* (BDNF) und der *Glial-Derived Neurotrophic Factor* (GDNF) als aussichtsreiche Kandidaten. Ausgehend von den etablierten Plasmiden wurden entsprechende BDNF- und GDNF-Plasmide kloniert. Analysen zur Transfektionseffizienz und Funktionalität transfizierter Pigmentepithelzellen sind Bestandteil aktueller Forschungsarbeiten.

Bei der zu den diffusen Netzhautdystrophien zählenden Retinitis pigmentosa (RP), die durch eine progrediente Photorezeptordegeneration charakterisiert ist, ermöglichen Multielektrodenarrays (MEAs) die Wiederherstellung einer Restsehfunktion. Die Implantat Systeme beruhen darauf, dass epiretinal, subretinal oder suprachoroidal platzierte Elektroden Stimulationspulse abgeben, die retinale Ganglienzellen in der Umgebung aktivieren. Die Stimulation basiert auf dem Modell fehlender Photorezeptoren und einer ansonsten unveränderten Netzhaut. Mittlerweile ist bekannt, dass im Verlauf der retinalen Degeneration erhebliche Reorganisationen auftreten, die für eine inhomogene elektrische Spontanaktivität und das Auftreten langsamer Oszillationen verantwortlich sind [13]. Microarray-basierte Analysen helfen uns, ein umfassendes Bild der veränderten Genexpression in der degenerierenden Netzhaut der *rd10* Maus als RP Modellsystem zu erstellen und geeignete Kandidaten für ein Gentherapiekonzept zur erweiterten Behandlung diffuser Netzhautdystrophien zu identifizieren. Diese Forschungsarbeiten gehen einher mit der Etablierung einer

MEA-basierten Elektroporation. Hier wurden in Kooperation mit dem Institut für Werkstoffe der Elektrotechnik 1 (IWE1, RWTH Aachen) neue Strukturen entwickelt, die neben der elektrischen Stimulation zur schonenden Elektroporation retinaler Zellen verwendet werden sollen.

LITERATUR

1. Wong W.L., Su X., Li X., Cheung C.M., Klein R., Cheng C.Y., Wong T.Y. Global prevalence of age-related macular degeneration and disease burden projection for 2020 and 2040: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Glob Health* 2014; 2: e106–116.
2. Colijn J.M., Buitendijk G.H.S., Prokofyeva E., Alves D., Cachulo M.L., Khawaja A.P., Cougnard-Gregoire A., Merle B.M.J., Korb C., Erke M.G., Bron A., Anastasopoulos E., Meester-Smoor M.A., Segato T., Piermarocchi S., de Jong P., Vingerling J.R., consortium E-R, Topouzis F., Creuzot-Garcher C., Bertelsen G., Pfeiffer N., Fletcher A.E., Foster P.J., Silva R., Korobelnik J.F., Delcourt C., Klaver C.C.W. European Eye Epidemiology c. Prevalence of Age-Related Macular Degeneration in Europe: The Past and the Future. *Ophthalmology* 2017.
3. Kolomeyer A.M., Sugino I.K., Zarbin M.A. Characterization of conditioned media collected from aged versus young human eye cups. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2011; 52: 5963–5972.
4. 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.
5. Mates L., Chuah M.K., Belay E., Jerchow B., Manoj N., Acosta-Sanchez A., Grzela D.P., Schmitt A., Becker K., Matrai J., Ma L., Samara-Kuko E., Gysemans C., Pryputniewicz D., Miskey C., Fletcher B., VandenDriessche T., Ivics Z., Izsvak Z. Molecular evolution of a novel hyperactive Sleeping Beauty transposase enables robust stable gene transfer in vertebrates. *Nat Genet* 2009; 41:753–761.
6. Thumann G., Stöcker M., Maltusch C., Salz A.K., Barth S., Walter P., Johnen S. High efficiency non-viral transfection of retinal and iris pigment epithelial cells with pigment epithelium-derived factor. *Gene Ther* 2010; 17: 181–189.
7. Johnen S., Kazanskaya O., Armogan N., Stöckelmann C., Stöcker M., Walter P., Thumann G. Endogenous regulation of proliferation and zinc transporters by pigment epithelial cells nonvirally transfected with PEDF. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2011; 52: 5400–5407.
8. Johnen S., Izsvák Z., Stöcker M., Harmening N., Salz A.K., Walter P., Thumann G. Sleeping beauty transposon-mediated transfection of retinal and iris pigment epithelial cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2012; 53: 4787–4796.
9. Johnen S., Djalali-Talab Y., Kazanskaya O., Moller T., Harmening N., Kropp M., Izsvak Z., Walter P., Thumann G. Antiangiogenic and Neurogenic Activities of Sleeping Beauty-Mediated PEDF-Transfected RPE Cells In Vitro and In Vivo. *Biomed Res Int* 2015; 2015: 863845.
10. Kuerten D., Johnen S., Harmening N., Souteyrand G., Walter P., Thumann G. Transplantation of PEDF-transfected pigment epithelial cells inhibits corneal neovascularization in a rabbit model. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2015; 253: 1061–1069.
11. Thumann G., Harmening N., Prat-Souteyrand C., Marie C., Pastor M., Sebe A., Miskey C., Hurst L.D., Diarra S., Kropp M., Walter P., Scherman D., Ivics Z., Izsvak Z., Johnen S. Engineering of PEDF-Expressing Primary Pigment Epithelial Cells by the SB Transposon System Delivered by pFAR4 Plasmids. *Mol Ther Nucleic Acids* 2017; 6: 302–314.
12. Thumann G., Perdikomati-Dahmen M., Izsvák Z., Ivics Z., Garcia-Layana A., Ronchetti M., Petrovski G., Scherman D., Aranda P., Pouillot S., Binder S., Johnen S., van den Berg J.H. Transposon-Based, Targeted Ex Vivo Gene Therapy to Treat Age-Related Macular Degeneration (TargetAMD). *Hum Gene Ther Clin Dev* 2015; 26: 97–100.
13. Biswas S., Haselier C., Mataruga A., Thumann G., Walter P., Müller F. Pharmacological analysis of intrinsic neuronal oscillations in rd10 retina. *PLoS One* 2014; 9: e99075.



Dr. rer. nat. Sandra Johnen, Jahrgang 1975, ist Leiterin der Arbeitsgruppe Experimentelle Ophthalmologie an der Klinik für Augenheilkunde der Uniklinik RWTH 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 Klinik für Augenheilkunde. In der Arbeitsgruppe Experimentelle Ophthalmologie entwickelte sie schwerpunktmäßig, zusammen mit Prof. Dr. med. Gabriele Thumann, eine effiziente und sichere Methode zur genetischen Modifikation von primären Pigmentepithelzellen. Seit September 2012 hat Frau Dr. Johnen in der Nachfolge von Frau Prof. Thumann die Leitung der Arbeitsgruppe übernommen. Ziel ihrer Forschungsarbeit ist die Etablierung nicht-viraler Genterapiekonzepte zur Behandlung degenerativer Netzhauterkrankungen.

KONTAKT



Dr. rer. nat. Sandra Johnen
Experimentelle Ophthalmologie
Klinik für Augenheilkunde
Uniklinik RWTH Aachen
Pauwelsstraße 30
52074 Aachen
Telefon: 0241 8088227
Telefax: 0241 8082490
E-Mail: sjohnen@ukaachen.de

It's Time to make a Move

Noch nie war es so einfach, eine neue Technologie in Ihren täglichen Arbeitsablauf zu integrieren. Der vollmobile FEMTO LDV™ Z8 von Ziemer bietet Ihnen eine Femtolasertechnologie der neuesten Generation für Ihre Katarakt- und Hornhauteingriffe.

www.femtoldv.com



Augenzentrum Zytglogge,
Dr. Baumann, Bern, Switzerland

FEMTO LDV
Z8 Cornea
Cataract

The FEMTO LDV Z8 is CE marked and FDA cleared for the use in the United States. For other countries, availability may be restricted due to regulatory requirements; please contact Ziemer for details.

DOG Berlin, 28.09. – 01.10.2017

Nehmen Sie teil an:

- unserem Wetlab am Ziemer Stand D.05
- Meet the GALILEI-Expert:

Dr. Linke (Hamburg),
Do. 28.09., 12.00 – 13.00 Uhr

Dr. Steinberg (Hamburg),
Do. 28.09., 13.00 – 14.00 Uhr

Reservieren Sie bereits jetzt Ihren Platz:

lana.enderlin@ziemergroup.com

Algenextrakte als neue Therapieoption in der Ophthalmologie?

PROF. DR. ALEXA KLETTNER, PROF. DR. JOHANN ROIDER

Klinik für
Ophthalmologie,
UK S-H Campus Kiel,
Kiel

EINLEITUNG

Eine wichtige Herausforderung der modernen Medizin ist es, neue Medikamente zu entwickeln. Als Ausgangsmaterial bieten sich dafür die reichlich vorkommenden aber noch wenig genutzten Algen der Meere an, die mittlerweile intensiv erforscht werden. Ein Algenbestandteil, der verschiedene für die medizinische Verwendung interessante Eigenschaften hat, ist das Polysaccharid Fucoïdan. Fucoïdan ist dabei kein einheitliches Molekül, sondern bezeichnet eine Gruppe von sulfatierten Polysacchariden mit einem hohen Anteil an L-Fucose, die aus der Zellwand von Braunalgen gewonnen werden [1]. Fucoïdane gelten als anti-oxidant, anti-tumorös und anti-inflammatorisch, was sie als mögliche Grundlage für neue Medikamente sehr interessant macht [2, 3]. Allerdings ist hier immer zu beachten, dass Fucoïdane aus unterschiedlichen Spezies und auch aus unterschiedlichen geographischen Regionen unterschiedlichen Eigenschaften haben können. Diese Eigenschaften hängen mit der molekularen Größe, der genauen Zusammensetzung der Polysaccharidkette und dessen Sulfatierungsgrad zusammen [1]. Darüber hinaus zeigen Fucoïdane in unterschiedlichen biologischen Systemen verschiedene, z.T. sogar gegenteilige Wirkungen [4].

FUCOIDAN – NEUE BEHANDLUNGSOPTION BEIM UVEALEN MELANOM?

Fucoïdan hat in unterschiedlichen Krebsmodellen Eigenschaften gezeigt, die es als mögliches Krebsmedikament interessant machen. Es zeigt bei verschiedenen Krebszellen eine anti-proliferative bzw. pro-apoptotische Wirkung, wie z.B. Krebszellen aus dem Dickdarm [5], der Leber [6], der Blase [7], oder der Lunge [8], bewirkt im Tiermodell bei Tumoren eine Reduktion der Ausschüttung von *Vascular Endothelial Growth Factor* (VEGF) [9], und zeigt anti-angiogene Eigenschaften [10].

Der wichtigste primäre Tumor im Auge ist das uveale Melanom, das bei Metastasierung mit einer infausten Prognose einhergeht und bei der medikamentösen Therapien nur sehr eingeschränkt zu finden sind [11]. Wir haben daher die mögliche Anwendung von Fucoïdan aus der Braunalge *Fucus vesiculosus* in uvealen Melanomzellen untersucht [4]. Unsere Daten zeigten, dass Fucoïdan generell die Proliferation von uvealen Melanomzellen nicht hemmt und keine Apoptose in diesen Zellen aus-

löst. Darüber hinaus zeigt es kaum eine reduzierende Wirkung auf die VEGF Ausschüttung. In Gegenteil dazu mussten wir feststellen, dass Fucoïdan in Ko-Kulturen von Zellen aus primären Melanomen und Endothelzellen die Bildung von angiogenen Strukturen verstärkt [4]. Außerdem zeigte Fucoïdan eine schützende Wirkung auf uvealen Melanomzellen bei oxidativen Stress. Dieses ist besonders kritisch, da die Behandlung der Tumore durch Bestrahlung einen Zelltod über oxidativen Stress induziert [12, 13]. Unsere Daten zeigen daher, dass Fucoïdan als ein mögliches neues Therapeutikum beim uvealen Melanom nicht geeignet ist.

FUCOIDAN – NEUE BEHANDLUNGSOPTION BEI ALTERSABHÄNGIGER MAKULADEGENERATION?

Die altersabhängige Makulardegeneration (AMD) ist die häufigste Ursache für Erblindung in der westlichen Welt [14]. Die Pathogenese ist multifaktoriell und komplex, dabei sind wichtige Faktoren der oxidative Stress, Entzündungsgeschehen und bei der exudativen Form der Wachstumsfaktor VEGF [15, 16]. Als wichtige Quelle von VEGF aber auch als Protektor gegen oxidativen Stress und Regulator des retinalen Immunsystems kommt dem retinalen Pigmentepithel (RPE) bei der Entwicklung einer AMD eine wichtige Rolle zu [17–20].

Wir konnten in unseren Arbeiten an Zellen des retinalen Pigmentepithels und an RPE/Aderhaut Kulturen zeigen, dass Fucoïdan (aus *Fucus vesiculosus*) sowohl die Expression als auch die Sekretion von VEGF in diesem System reduziert. Dabei konnten wir feststellen, dass auch unter Bevacizumabgabe die Expression von VEGF intrazellulär von Fucoïdan reduziert wurde, es also eine additive Wirkung entfaltet. Im Weiteren vermindert Fucoïdan die Ausbildung von angiogenen Strukturen in Endothelzellen sowohl bei Applikation von RPE Überständen als auch bei externer Gabe von VEGF [21]. Dabei zeigt Fucoïdan bei den RPE-Zellen keine Toxizität und keinen Einfluss auf das Proliferationsverhalten der Zellen, allerdings ist das Migrationsverhalten reduziert. Die wichtige Funktion der Phagozytose der Zellen wurde dagegen nicht beeinträchtigt. Diese Daten zeigen, dass Fucoïdan ein vielsprechender Kandidat für eine Anwendung bei der AMD sein könnte [21].

Aber auch über die VEGF-Inhibition hinaus ist Fucoïdan interessant [3]. Fucoïdan hat, wie oben beschreiben, eine anti-oxidative Wirkung [4, 22, 23] und kann den Transkriptionsfaktor Nrf2, der die zelluläre Protektion gegen oxidativen Stress reguliert [24], induzieren [25]. Oxidativer Stress ist ein wichtiger Faktor für die Entwicklung einer altersabhängigen Makuladegeneration und auch in der Entstehung und den Frühphasen der Erkrankung als pathologischer Mechanismus von Bedeutung [17, 26, 27]. Im Weiteren hat Fucoïdan komplement-inhibierende Eigenschaften [28, 29] und wirkt entzündungshemmend auf Mikroglia und Makrophagen [30, 31], was ebenfalls bei den Frühphasen und bei der Behandlung der geographischen Atrophie von Bedeutung sein kann [32–34] (**Abbildung 1**).

Bei allen Wirkungen des Fucoïdane ist aber zu beachten, dass Fucoïdanfraktionen aus unterschiedlichen Quellen verschiedene Wirkungen haben können. Daher ist eine genaue Analyse von unterschiedlichen Fucoïdanfraktionen in verschiedenen chemischen und biologischen Testsystemen notwendig, um ein für eine bestimmte Anwendung optimal geeignetes Fucoïdan zu finden. Eine solche Charakterisierung von unterschiedlichen Fucoïdanen und die Erstellung einer Datenbank über die chemischen und biologischen Eigenschaften dieser Fucoïdane wird zurzeit von uns (UK S-H, Campus Kiel) und unseren Partnern (Christian-Abrechts-Universität zu Kiel, Southern University of Denmark, Odense University Hospital, GEOMAR Helmholtz Center Kiel, Technical University of Denmark, ocean BASIS, Coastal Research & Management) in dem von den Europäischen Fonds für Regionale Entwicklung geförderten Interreg Deutschland-Danmark Projekt »FucoSan – Gesundheit aus dem Meer« durchgeführt und auf eine mögliche Anwendung in der Augenheilkunde, der Regenerationsmedizin und der Kosmetik überprüft (**Abbildung 2**).

LITERATUR

- Li B., Lu F., Wei X., Zhao R. Fucoïdan: structure and bioactivity. *Molecules*. 2008; 13 (8): 1671–95.
- Atashrazm F., Lowenthal R.M., Woods G.M., Holloway A.F., Dickinson J.L. Fucoïdan and cancer: a multifunctional molecule with anti-tumor potential. *Mar Drugs*. 2015; 13 (4): 2327–46.
- Klettner A. Fucoïdan as a Potential Therapeutic for Major Blinding Diseases – A Hypothesis. *Mar Drugs*. 2016; 14 (2). pii: E31.
- Dithmer M., Kirsch A.M., Richert E., Fuchs S., Wang F., Schmidt H., Coupland S.E., Roeder J., Klettner A. Fucoïdan Does Not Exert Anti-Tumorigenic Effects on Uveal Melanoma Cell Lines. *Mar Drugs*. 2017; 15 (7). pii: E193.
- Han Y.S., Lee J.H., Lee S.H. Antitumor Effects of Fucoïdan on Human Colon Cancer Cells via Activation of Akt Signaling. *Biomol Ther (Seoul)*. 2015; 23 (3): 225–32.
- Kawaguchi T., Hayakawa M., Koga H., Torimura T. Effects of fucoïdan on proliferation, AMP-activated protein kinase, and downstream metabolism- and cell cycle-associated molecules in poorly differentiated human hepatoma HLF cells. *Int J Oncol*. 2015; 46 (5): 2216–22.
- Park H.Y., Kim G.Y., Moon S.K., Kim W.J., Yoo Y.H., Choi Y.H. Fucoïdan inhibits the proliferation of human urinary bladder cancer T24 cells by blocking cell cycle progression and inducing apoptosis. *Molecules*. 2014; 19 (5): 5981–98.
- Ale M.T., Maruyama H., Tamauchi H., Mikkelsen J.D., Meyer A.S. Fucoïdan from *Sargassum* sp. and *Fucus vesiculosus* reduces cell viability of lung carcinoma and melanoma cells in vitro and activates natural killer cells in mice in vivo. *Int J Biol Macromol*. 2011; 49 (3): 331–6.
- Huang T.H., Chiu Y.H., Chan Y.L., Chiu Y.H., Wang H., Huang K.C., Li T.L., Hsu K.H., Wu C.J. Prophylactic administration of fucoïdan represses cancer metastasis by inhibiting vascular endothelial growth factor (VEGF) and matrix metalloproteinases (MMPs) in Lewis tumor-bearing mice. *Mar Drugs*. 2015; 13 (4): 1882–900.
- Koyanagi S., Tanigawa N., Nakagawa H., Soeda S., Shimeno H. Oversulfation of fucoïdan enhances its anti-angiogenic and antitumor activities. *Biochem Pharmacol*. 2003; 65 (2): 173–9.
- Shields J.A., Shields C.L. Management of posterior uveal melanoma: past, present, and future: the 2014 Charles L. Schepens lecture. *Ophthalmology*. 2015; 122 (2): 414–28.
- Leach J.K., Van Tuyle G., Lin P.S. et al. Ionizing radiation-induced, mitochondria-dependent generation of reactive oxygen/nitrogen. *Cancer Res* 2001; 61: 3894–3901
- Dithmer M., Kirsch A.M., Gräfenstein L., Wang F., Schmidt H., Coupland S.E., Fuchs S., Roeder J., Klettner A.K. Uveale Melanomzellen unter oxidativen Stress – Einfluss von VEGF und VEGF-Inhibitoren. *Klin Monbl Augenheilkd*. 2017. doi: 10.1055/s-0043–103002.
- Bourne R.R., Stevens G.A., White R.A., Smith J.L., Flaxman S.R., Price H., Jonas J.B., Keeffe J., Leasher J., Naidoo K., Pesudovs K., Resnikoff S., Taylor H.R.; Vision Loss Expert Group. Causes of vision loss worldwide, 1990–2010: a systematic analysis. *Lancet Glob Health*. 2013; 1 (6): e339–49.



Abbildung 1

Fucoïdan zeigt verschiedene Eigenschaften, die es für eine Anwendung in der AMD-Therapie interessant macht.

Abbildung 2

Das Team des InterReg5 Projekts FucoSan zur Untersuchung der Eigenschaften und Anwendungspotentiale von Fucoïdanen.

15. Miller J.W. Age-related macular degeneration revisited-piecing the puzzle: the LXIX Edward Jackson memorial lecture. *Am J Ophthalmol.* 2013; 155 (1): 1–35.e13.
16. Klettner A. Altersabhängige Makuladegeneration – Biologie und Behandlung. *Med Monatsschr Pharm.* 2015; 38: 258–64.
17. Datta S., Cano M., Ebrahimi K., Wang L., Handa J.T. The impact of oxidative stress and inflammation on RPE degeneration in non-neovascular AMD. *Prog Retin Eye Res.* 2017. pii: S1350–9462(17)30012–5. doi: 10.1016/j.preteyeres.2017.03.002.
18. Klettner A. Oxidative stress induced cellular signaling in RPE cells. *Front Biosci (Schol Ed).* 2012; 4: 392–411.
19. Klettner A. The retinal pigment epithelium in the immune regulation of the retina. In: Hogarth A (Herausgeber). *Recent Advances in Eye Research.* New York: Nova Science Publishers, 2015: 31–52.
20. Klettner A. Physiological Functions of VEGF in the Retina and its possible Implications of prolonged anti-VEGF Therapy. In: Parker M.L. (Herausgeber). *Vascular Endothelial Growth Factor – Biology, Regulation and Clinical Significance.* New York: Nova Science Publishers, 2013: 117–136.
21. Dithmer M., Fuchs S., Shi Y., Schmidt H., Richert E., Roeder J., Klettner A. Fucoidan reduces secretion and expression of vascular endothelial growth factor in the retinal pigment epithelium and reduces angiogenesis in vitro. *PLoS One.* 2014; 9 (2): e89150.
22. Marudhupandi T., Kumar T.T., Senthil S.L., Devi K.N. In vitro antioxidant properties of fucoidan fractions from *Sargassum tenerrimum*. *Pak J Biol Sci.* 2014; 17 (3): 402–7.
23. Li X., Zhao H., Wang Q., Liang H., Jiang X. Fucoidan protects ARPE-19 cells from oxidative stress via normalization of reactive oxygen species generation through the Ca²⁺-dependent ERK signaling pathway. *Mol Med Rep.* 2015; 11 (5): 3746–52.
24. Hybertson B.M., Gao B., Bose S.K., McCord J.M. Oxidative stress in health and disease: the therapeutic potential of Nrf2 activation. *Mol Aspects Med.* 2011; 32 (4-6): 234–46.
25. Ryu M.J., Chung H.S. Fucoidan reduces oxidative stress by regulating the gene expression of HO-1 and SOD-1 through the Nrf2/ERK signaling pathway in HaCaT cells. *Mol Med Rep.* 2016; 14(4): 3255–60.
26. Zhao Z., Chen Y., Wang J., Sternberg P., Freeman M.L., Grossniklaus H.E., Cai J. Age-related retinopathy in NRF2-deficient mice. *PLoS One.* 2011; 6 (4): e19456.
27. Zarbin M.A. Current concepts in the pathogenesis of age-related macular degeneration. *Arch Ophthalmol.* 2004; 122 (4): 598–614.
28. Tissot B., Montdargent B., Chevolut L., Varenne A., Descroix S., Gareil P., Daniel R. Interaction of fucoidan with the proteins of the complement classical pathway. *Biochim Biophys Acta.* 2003; 1651 (1–2): 5–16.
29. Blondin C., Fischer E., Boisson-Vidal C., Kazatchkine M.D., Jozefonvicz J. Inhibition of complement activation by natural sulfated polysaccharides (fucans) from brown seaweed. *Mol Immunol.* 1994; 31 (4): 247–K53.
30. Park H.Y., Han M.H., Park C., Jin C.Y., Kim G.Y., Choi I.W., Kim N.D., Nam T.J., Kwon T.K., Choi Y.H. Anti-inflammatory effects of fucoidan through inhibition of NF- κ B, MAPK and Akt activation in lipopolysaccharide-induced BV2 microglia cells. *Food Chem Toxicol.* 2011; 49 (8): 1745–52.
31. Lee S.H., Ko C.I., Ahn G., You S., Kim J.S., Heu M.S., Kim J., Jee Y., Jeon Y.J. Molecular characteristics and anti-inflammatory activity of the fucoidan extracted from *Ecklonia cava*. *Carbohydr Polym.* 2012; 89 (2): 599–606.
32. McHarg S., Clark S.J., Day A.J., Bishop P.N. Age-related macular degeneration and the role of the complement system. *Mol Immunol.* 2015; 67 (1): 43–50.
33. Karlstetter M., Scholz R., Rutar M., Wong W.T., Provis J.M., Langmann T. Retinal microglia: just bystander or target for therapy? *Prog Retin Eye Res.* 2015; 45: 30–57.
34. Cherepanoff S., McMenamin P., Gillies M.C., Kettle E., Sarks S.H. Bruch's membrane and choroidal macrophages in early and advanced age-related macular degeneration. *Br J Ophthalmol.* 2010; 94 (7): 918–25.



Prof. Dr. rer. nat. Alexa Klettner, Jahrgang 1973, ist Professorin für Experimentelle Retinologie an der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel in der Augenklinik 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 an neurodegenerativen Mechanismen arbeitete. Nach einer Familienzeit übernahm sie 2006 die Leitung des Labors der Augenklinik am Universitätsklinikum in Kiel. Sie habilitierte 2011 über

den Vergleich verschiedener Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF)-Antagonisten und wurde 2013 auf die Forschungsprofessur für Experimentelle Retinologie (gefördert von der Herrmann-Wacker-Stiftung) an die Christian-Albrechts-Universität berufen. Ihr Forschungsinteresse gilt vor allem den zellulären Aspekten der Pathogenese und Therapie der altersabhängigen Makuladegeneration (AMD), insbesondere in Bezug auf das retinale Pigmentepithel (RPE). Schwerpunkte ihrer Forschung sind die Regulation von VEGF, die Wirkungen von VEGF-Inhibitoren, die Interaktion des RPE mit dem angeborenen Immunsystem und die Entwicklung neuer Therapieansätze. Ihre Arbeiten wurden mit verschiedenen Preisen der Deutschen Ophthalmologischen Gesellschaft sowie der Retinologischen Gesellschaft ausgezeichnet. Sie ist Mitglied der Baltic Blue Biotechnology Alliance und Koordinatorin des durch die Europäische Union geförderten InterReg5a Projekts »FucoSan – Gesundheit aus dem Meer«.

KONTAKT



Prof. Dr. Alexa Klettner
 Augenklinik
 UK S-H, Campus Kiel
 Arnold-Heller-Straße 3 (Haus 25)
 24105 Kiel
 Telefon: 0431 500-24283
 E-Mail: AlexaKarina.Klettner@uksh.de

Navilas® – Multimodale Planung zur optimalen Laserbehandlung der Retinopathia Centralis Serosa

In den vergangenen Jahren konnte die bildgebende Diagnostik erheblich weiterentwickelt werden – mit neuen Modalitäten wie SD-OCT, FAF und OCT-A, und damit einer Fülle neuer oder besserer Bilder. Am Beispiel der Retinopathia centralis serosa (RCS) lässt sich erläutern, wie moderne Diagnostik in Verbindung mit weiterer digitaler Technologie nun auch ganz unmittelbar und direkt zur Verbesserung einer Therapie genutzt werden kann.

An der Charité setzen wir seit 2013 die bildgesteuerte, navigierte Lasertherapie (Navilas®) ein, deren Genauigkeit und Planbarkeit wir auch und insbesondere bei der Therapie der RCS sehr schätzen.

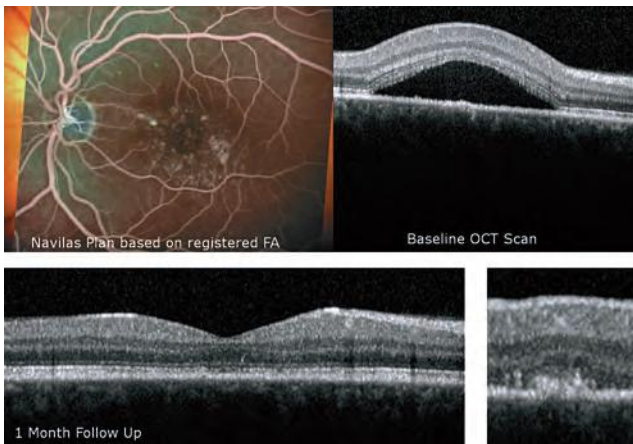


Abb.: Fallbeispiel eines mit Navilas therapierten RCS-Patienten.

Die Koagulation des Leckagepunktes bei RCS ist eine Therapieoption, wenn die Patienten nach medikamentöser Therapie keine Besserung bemerken. Nicht selten sind mit dem Spaltlampenbasierten Laser jedoch die exakte Lokalisierung, sowie die zielgenaue Koagulation der Leckage eine Herausforderung, so dass diese effektive Methode nicht immer zum Einsatz kommen kann.

Mit der Einführung des Navilas ist es erstmals möglich anhand der gleichzeitigen und zueinander registrierten Diagnoseinformation (FA, ggf. ICG-A) diese Herausforderung erfolgreich zu bewältigen. Dies zeigt unsere retrospektive Untersuchung von mit Navilas therapierten RCS-Patienten bei der 75% der Patienten innerhalb von 4 Wochen eine vollständige Resorption der subretinalen Schwellung zeigen (Klonner, 2016). Sollten sich in Zukunft weitere Diagnosemethoden wie ICG-A und OCT-A im Bereich der RCS weiter etablieren, lassen sich diese problemlos für die Planung der navigierten Laserbehandlung nutzen – ebenso unterschwellige Lasereffekte, für die erste Erkenntnisse bei der Behandlung subfovealer Läsionen vorliegen (Chhablani, 2016).

■ Autor:

Dr. Bert Müller, Charité Universitätsmedizin, Berlin

NAVILAS® 577s
Make every spot count



+ Multimodale Planung

Der navigierte Netzhautlaser

- Vollständig digital
- Wirksamer
- Komfortabler

Planen Sie Ihre Demo

OD-OS GmbH
E-Mail: sales@od-os.com
Telefon: +49 (3328) 31 282-100

www.navilas.com

Regulation entzündlicher Vorgänge bei Uveitis, retinaler Neovaskularisation und retinalen Degenerationen

DR. NORBERT KOCIOK, DR. SERGIO CRESPO-GARCIA, DR. CATHARINA BUSCH, DR. NADINE REICHHART, PRIV.-DOZ. DR. CATHARINA MEYER-WENZEL, DR. CLAUDIA BROCKMANN, CHRISTINA NÜRNBERG, DR. DOMINIKA POHLMANN, DR. SIBYLLE WINTERHALTER, PROF. UWE PLEYER, PROF. OLAF STRAUSS, PROF. ANTONIA JOUSSEN

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

EINLEITUNG

»Erworbene« Formen der retinalen Degenerationen basieren auf lokalen Pathomechanismen, die systemisch, zum Beispiel durch erhöhten Blutzucker, oder durch die Umwelt, zum Beispiel Rauchen, bedingt werden. Häufig führt dann die Kontrolle der systemischen Ursachen nicht zur Verbesserung oder Abschwächung des Verlaufs der lokalen degenerativen Mechanismen, was von erheblicher therapeutischer Relevanz ist. Zum Beispiel wirkt sich eine Kontrolle des Blutzuckers noch positiv bei den frühen Stadien der diabetischen Retinopathie aus, hat aber in den späten Phasen einen wesentlichen geringeren Effekt, sodass dann hier die therapeutischen Ansätze, die in der Netzhaut direkt wirken, eine erheblichere Rolle spielen. Häufig sind es die lokalen Immunreaktionen, die schon früh einsetzen, aber zu dieser Verselbstständigung der systemisch ausgelösten retinalen Degeneration in der Spätphase führen. Daher werden an der Augenheilkunde der Charité Universitätsmedizin Berlin in der Grundlagenforschung und klinischer Forschung eine größere Zahl an Projekten zur Regulation entzündlicher Vorgänge bei retinalen Neovaskularisationen und Degenerationen durchgeführt. Diese Studien betreffen die Gebiete Uveitis, diabetische Retinopathie, hypertensive Retinopathie, AMD, pathologische Angiogenese sowie Strahlenretinopathie. Ziel ist es auch gemeinsame pathologische Konzepte zu erarbeiten und anwendbar zu machen.

UVEITIS

Intraokulare Entzündungen stellen eine wesentliche Ursache schwerwiegender Sehschädigung dar. In der Altersgruppe der 20–40-jährigen stehen sie als Erblindungsursache zusammen mit der diabetischen Retinopathie an erster Stelle. Für den Augenarzt sind intraokulare Entzündungen häufig eine diagnostische und therapeutische Herausforderung. Es gilt ein breites Spektrum infektiöser Ursachen und Systemerkrankungen differenzialdiagnostisch zu berücksichtigen. Gleichzeitig sind die Therapiemöglichkeiten deutlich vielfältiger geworden.

In einem Netzwerk untersuchen wir zusammen mit Veterinärmedizinern, Mikrobiologen und Mitarbeitern des Robert-Koch-Instituts die Immunmechanismen der Erreger – Wirt – Interaktion bei Infektionen der Retina. Als häufigstem Erreger der posterioren Uveitis kommt dabei dem Parasit *Toxoplasma (T.) gondii* ein besonderer Stellenwert zu [1]. Die Interaktion zwischen unterschiedlichen Erregerstämmen und der Immunantwort des Patienten weisen auf ein komplexes Muster hin. Wir konnten erste Hinweise dafür finden, dass intraokular protektive Zytokine (Interleukin-9, Interleukin-7) bei Patienten mit häufigen Reaktivierungen der Infektion vermindert sind [2]. Dies könnte neue Aspekte für die Rezidivprävention, Prognose und den Verlauf der betroffenen Patienten bieten. In Zusammenarbeit mit der Arbeitsgruppe von M. Grigg am NIH, konnten zudem Hinweise dafür gefunden werden, dass auch in Deutschland genotypisch veränderte Erregerstämme von *T. gondii* mit abweichender Virulenz auftreten [3, 4]. In diesem Zusammenhang ist klar erkennbar, dass die Differentialdiagnostik aus intraokular gewonnenem Material profitiert [5, 6].

Nichtinfektiöse intraokulare Entzündungen nehmen den größten Anteil der posterioren Uveitis ein. Aktuelle Untersuchungen zu Biomarkern und bildgebenden Verfahren, lassen eine bessere Charakterisierung, prognostische Einschätzung und therapeutische Intervention erwarten. So konnte z. B. die sichere und effiziente Anwendung von unterschiedlichen Biologika [7, 8], u. a. eines Antikörpers gegen Interleukin-17, bei der nichtinfektiösen Uveitis gezeigt werden. Eine weitere Behandlungsoption sind intravitreal applizierte Wirkstoffe. Während hierfür momentan überwiegend Dexamethason-Inserts angewendet werden [9–11], sind weitere immunmodulativ wirksame Präparate in Phase I, II und III Studien in Erprobung [12]. Bei deutlich erweitertem Therapiespektrum wird künftig der Differenzierung, dem Staging und Monitoring der unterschiedlichen Krankheitsbilder große Bedeutung zukommen.

DIABETISCHE RETINOPATHIE

In der diabetischen Retinopathie ist die Beteiligung von Immunzellen schon länger bekannt [3–5]. Hierzu wurde zum Beispiel Leukozytose im Tiermodell für Typ I Diabetes beschrieben, die von den endothelialen Oberflächenproteinen Icam1 und Vcam1 sowie verschiedenen Zytokinen abhängt. Wir konnten dieses Jahr die Daten aus einem Tiermodell mit Typ II Diabetes vorstellen, das wir in Zusammenarbeit mit der Gruppe von Prof. Bader und PD Dr. Dechend vom Max-Delbrück Centrum untersuchen. Es handelt sich um ein Rattenmodell, bei dem durch ein Transgen die Insulinresistenz im Diabetes Typ II simuliert wird. Somit entstehen in diesem Rattenmodell hohe Blutzuckerspiegel und gleichzeitig ein pathologisch hoher Plasma-Insulinspiegel. Das Tiermodell zeigt verschiedene diabetische Endorganschäden, darunter auch eine retinale Degeneration mit vielen Eigenschaften der diabetischen Retinopathie beim Menschen [6]. Neben einer retinalen Degeneration, die strukturell in der histologischen Analyse und funktionell im ERG nachweisbar ist, zeigen diese Ratten atrophische Blutgefäße sowie eine Verminderung der Perizytenzahlen. Diese vaskulär/neuronale Degeneration ist von der lokalen Aktivierung des Immunsystems begleitet. Hierzu finden wir eine Hochregulation der Expression von TNF α , CD18, Icam1, Vcam1 und CCL2. Auf zellulärer Ebene kommt es zur signifikanten Erhöhung der Zahlen aktivierter Mikroglia Zellen. Die Hochregulation der Icam1 und Vcam1 Expression deutet auf ähnliche Mechanismen im Typ II Modell wie die, die im Typ I Modell gefunden wurde [5]. Durch den Vorteil, dass dieses Diabetes Typ II Rattenmodell induzierbar ist, und damit der Zeitpunkt des Diabetes sogar in der Schwangerschaft frei bestimmbar ist, werden wir in weiteren Studien nach neuen Mechanismen der Koordination dieser lokalen zellulären Immunreaktion forschen. Ziel ist es neue bildgebende Verfahren zur Prognose zu validieren als auch neue Targets für die späten Formen der diabetischen Retinopathie zu ermitteln.

HYPERTENSIVE RETINOPATHIE

Bluthochdruck führt selbst zur retinalen Degeneration oder ist ein systemischer Faktor, der den Verlauf retinaler Degenerationen, wie die diabetische Retinopathie beschleunigt, oder einen Risikofaktor für retinale Degenerationen wie AMD darstellt. Im Rahmen der Untersuchungen zu den möglichen Ursachen dieser systemisch bedingten Netzhauterkrankungen haben wir uns schon länger mit der Rolle des Renin-Angiotensin-Systems (RAS) beschäftigt und gefunden, dass die Netzhaut ein eigenes lokales RAS exprimiert, das wiederum über basolaterale AT₁ Rezeptoren am retinalen Pigmentepithel mit dem systemischen RAS in der Interaktion steht [7]. Dies war die Basis für weitergehende Untersuchungen am Tiermo-

dell. Bislang hat es an einem Tiermodell für die systematische Analyse der Mechanismen, die retinale Degenerationen fördern, gefehlt. Zusammen mit den Arbeitsgruppen PD Dechend und Prof. Müller untersuchen wir ein transgenes Rattenmodell, das zusätzlich zum RAS der Ratte, auch das humane Renin und Angiotensinogen exprimiert. Das Ergebnis ist ein pathologischer Bluthochdruck, an dem die Tiere nach 8 Wochen durch hypertensiven Endorganschaden versterben. Wir haben die Netzhäute dieser Ratten strukturell und funktionell untersucht [8]. Neben einem Verlust an Ganglienzellen und Veränderungen in den Gefäßen finden wir auch Zeichen einer lokalen Immunreaktion, die in einer Erhöhung der Expression von Komplementprotein C₃ in der inneren Netzhaut als auch im RPE sowie eine erhöhte Expression der mRNA vom MCP₁, einem Faktor, der systemische Makrophagen anlocken sollte, besteht. Viel überraschender war die Rolle des lokalen RAS. In der Ganglienzellschicht konnten wir mittels eines neuen Antikörpers aktivierte AngII Rezeptoren des Typs AT₁ feststellen. Eine umfassende Messung der retinalen RAS Aktivität ergab stark erhöhte Konzentrationen von AngII. Interessanterweise sind die anderen Proteine des lokalen RAS nicht erhöht, was bedeutet, dass die erhöhte AngII Konzentration nicht durch die lokale RAS Aktivität zu Stande kommt. Wir gehen von der Hypothese aus, dass die lokale AngII Erhöhung durch einen aktiven Aufnahmeprozess von AngII aus dem Plasma kommt. Die fortführenden Projekte werden ermitteln, in welchem Maß der Hochdruck oder das hochaktive systemische RAS eine Rolle für den systemischen Einfluss spielt und welche lokalen, darunter auch immunrelevanten Faktoren zum Schaden der Netzhaut führen. Diese Erkenntnisse wollen wir auf die Situation anderer Erkrankungen, wie in Tiermodellen mit AMD Charakter übertragen. Hierzu besteht eine Kollaboration mit dem Institut de la Vision in Paris.

AMD

Ebenso hat die altersbedingte Makuladegeneration eine starke immunologische Komponente, die sich in der Risiko-Assoziation mit Polymorphismen in Genen des Komplementsystems anzeigt. Die Polymorphismen führen zu einer schlechteren Kontrolle des lokalen Komplementsystems, das über den alternativen Aktivierungsweg stimuliert wird. In vitro Analysen als auch histologische Untersuchungen an Augen von AMD Patienten belegen eine erhöhte Produktion und Akkumulation des terminalen Komplementkomplexes (TCC) in der äußeren Netzhaut, direkt am RPE. Die daraus resultierende Hypothese, dass der TCC zum vermehrten Untergang des RPE führt. Wir gehen allerdings eher von der Hypothese aus, dass alle aktiven Komponenten des Komplementsystems einen physiologischen Einfluss auf das RPE haben [9] und dass dieser Einfluss das RPE in den

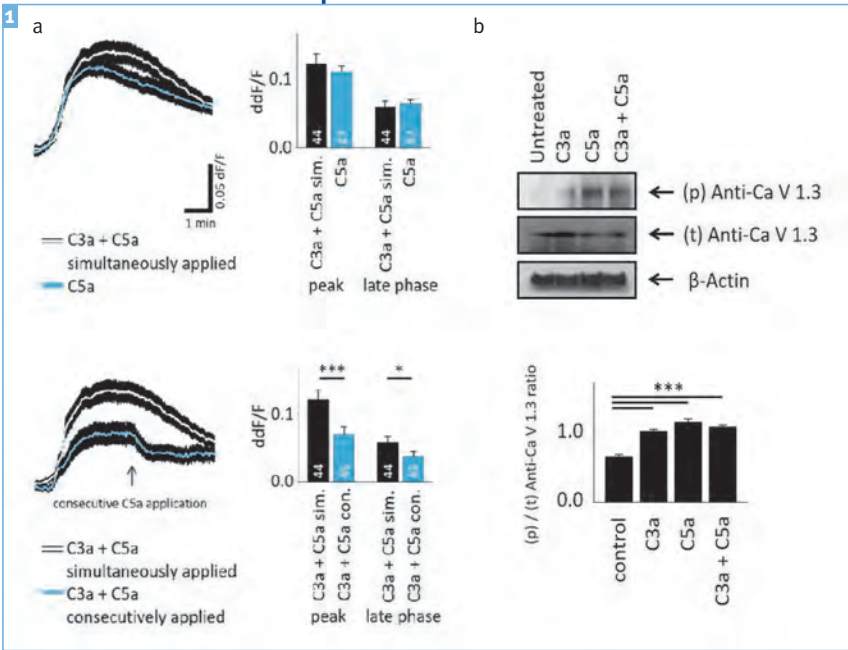
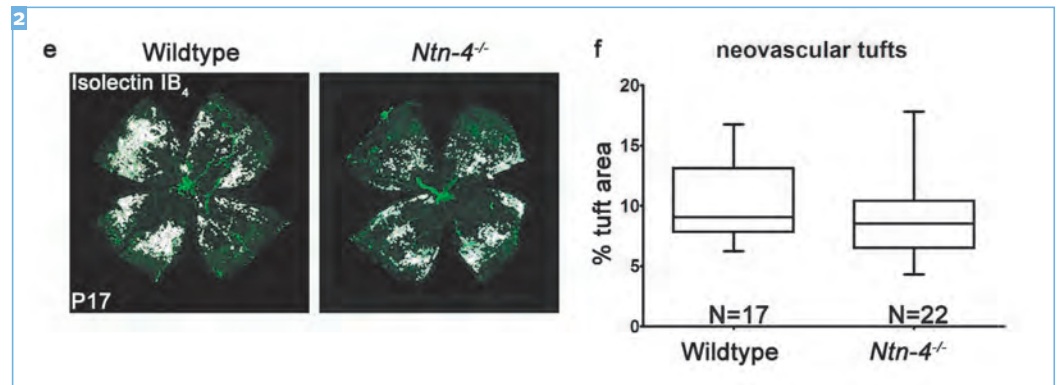


Abbildung 1
Anaphylatoxin-Signaling am RPE: A. Interaktion von C3a und C5a Signaling: **Oben:** C5a erhöht das freie zytosolische Ca²⁺; diese Amplitude kann nicht durch zeitgleiche Applikation von C5a und C3a gesteigert werden. **Unten:** Ca²⁺ Anstiege die durch C3a erreicht werden, können durch C5a Applikation im Steady-State der C3a Antwort gehemmt werden. **B.** Phosphorylierung des L-Typ Ca²⁺ Kanals Ca_v1.3: Die Tyrosinphosphorylierung kann durch die Anaphylatoxine C3a und C5a gesteigert werden. Aus: Busch et al. 2017 *Frontiers Immunol*

Pathologie-fördernden Phänotyp mit vermehrter Sekretion VEGF-A oder pro-inflammatorischer Zytokine führt. In unseren letzten Studien haben wir daher den Einfluss der Anaphylatoxine auf das RPE untersucht. In einer internationalen Zusammenarbeit, sowie in Kollaboration mit der Gruppe Prof. Skerka in Jena und Prof. Wildner in München haben wir zeigen können, dass RPE Zellen nicht nur Anaphylatoxin-Rezeptoren exprimieren, sondern dass auch die Anaphylatoxine C3a und C5a das freie intrazelluläre Ca²⁺ als Second-Messenger erhöhen (**Abb. 1**) [10]. In den Akt- und PI3-Kinase abhängigen Downstream-Signalwegen kommt es schließlich zur Aktivierung von Transkriptionsfaktoren, darunter des FoxP3, das bislang als Marker für regulatorische T-Zellen galt. Somit zeigen diese Daten, dass die Anaphylatoxine weitreichend den Phänotyp des RPE ändern. Dies manifestiert sich in einer veränderten Genexpression, wie zum Beispiel von Genen des Komplementsystems oder in einer veränderten sekretorischen Aktivität von zum Beispiel inflammatorischen Zytokinen. In unseren weitergehenden Studien werden wir nun in Tiermodellen mit AMD Charakter die Rolle der Anaphylatoxine sowie der Transkriptionsfaktoren, die unter der Regulation der Anaphylatoxine ste-

Abbildung 2
Blutgefäßneubildung im ROP Modell bei Netrin-4 Knock-Out Mäusen:
Links: Flatmountpräparate nach ROP, die gegen Isolectin 1B gefärbt wurden, um die Blutgefäße der Retina darzustellen in Wildtyp und Netrin-4 Knock-Out Mäusen; weiße Flächen zeigen neovaskuläre Tufts.
Rechts: Vergleich der Flächen mit neovaskulären Tufts in den zwei Mauslinien. Aus: Kociok et al. 2016 *Sci Rep*.



hen, im RPE genauer untersuchen. Zusammen mit der Gruppe Prof. Skerka konnten wir ebenfalls zur Aufklärung der Rolle des Produkts des AMRS2 Gens beitragen [11]. Definierte Seren von AMD Patienten waren wesentlicher Bestandteil zu einer Studie, die zeigen konnte, dass ARMS2 Genprodukt an der Komplement-abhängigen Beseitigung von zellulärem Debris beteiligt ist.

PATHOLOGISCHE NEOVASKULARISATION

Die Grundlagenforschung der Augenheilkunde an der Charite beschäftigt sich seit längerem mit den molekularen Mechanismen, die einer pathologischen Neovaskularisation zu Grunde liegen. Als Tiermodelle werden im Wesentlichen die Sauerstoff-induzierte Retinopathie und die Laser-induzierte chorioidale Neovaskularisation untersucht. Solche Gefäßerkrankungen führen zum Untergang der neuronalen Strukturen, was mit dem Konzept der neurovaskulären Einheit untersucht wird. Proteine der Basalmembran haben konkrete physiologische Funktionen. So dienen diese zum Beispiel der Wegfindung der Axone sich entwickelnder Neurone. Im Konzept der neurovaskulären Einheit wurde die angiogene Wirkung des Netrin-4 untersucht, das einer Familie solcher »Axon-Guidance« Molekülen angehört [12]. In der Netrin-4 Knock-Out Maus konnte bei der Induktion der Laser-induzierten chorioidalen Neovaskularisation gegenüber den wild-typischen Kontrollen kein Unterschied beobachtet werden. Im Gegensatz hat das Fehlen von Netrin-4 einen profunden Effekt auf die Entwicklung der Sauerstoff-induzierten Retinopathie. In den Knock-Out Tieren zeigten sich zu Beginn größere avaskuläre Areale, die sich jedoch schneller schlossen, sowie weniger neovaskuläre Tufts (**Abb. 2**) und auch funktionell im ERG messbaren schnelleren Erholung der Neurone. Da die mutmaßlichen Netrin-4 Rezeptoren sich in den Müller Zellen und Astrozyten nachweisen ließen, gehen wir von einem hauptsächlichen Effekt auf die VEGF-A Produktion in diesen Zellen aus. Da die Laser-induzierte Neovaskularisation, die eine erheblich stärkere entzündliche Komponente aufweist durch die Abwesenheit von Netrin-4 nicht beeinflusst wird, kann man schließen, dass Basalmembran vermittelte

Regulation der Angiogenese sich im nichtentzündlichen Anteil der pathologischen Ereigniskette abspielt. Dabei würde Netrin-4 als anti-angiogener Faktor in der Basalmembran wirken. Auch in der Kornea konnten wir anhand des Netrin-4 Knock-Out Modells diese anti-angiogene Funktion nachweisen [13]. Unter der Hypothese der entzündlichen Vorgänge in der Laser-induzierten Neovaskularisation haben wir einen weiteren wichtigen Mediator identifizieren können [14]. Durch intraokuläre Injektionen von Aptameren, die das Anaphylatoxin C5a neutralisieren, konnte die Größe als auch das Ausmaß der Leckage in der Laser-induzierten Neovaskularisationsherden vermindert werden. In weiteren Studien wird die Rolle des C5a und des zellulären unspezifischen Immunsystems an der Sauerstoff-induzierten Retinopathie sowie Laser-induzierten Neovaskularisation im Zentrum stehen.

STRAHLENRETINOPATHIE

Die Bestrahlung okulärer Tumore hat als Nebenwirkung die Entstehung einer Strahlenretinopathie zur Folge. Neben der Aufklärung grundlegender pathologischer Mechanismen im Tiermodell werden an der Charité Augenheilkunde die Möglichkeiten der Protonbestrahlung in der Klinik zur Tumorbekämpfung erforscht. Im Tiermodell zeigte sich schon eine starke Beteiligung von Lymphozyten und Mikroglia Zellen als ein Zeichen einer zellulären Entzündung [15]. Um diese Nebeneffekte durch eine wesentlich besser fokussierte und dosierbare Bestrahlung in der Klinik zu unterbinden, werden die Möglichkeiten der Protonenbestrahlung an der Charité Augenheilkunde in klinischen Studien untersucht. Hier ging es vor allem um die Vermeidung von Nebenwirkungen durch Medikamenteneinsatz oder durch adjuvante chirurgische Eingriffe [16–19]. Dabei wurden ein breites Spektrum an Tumoren wie Hämangiome, uveale Melanome oder chorioidale Melanome sowie Ziliarkörpermelanome untersucht. In der Kombination aus grundlagenorientierter Forschung am Mausmodell sowie klinischer Forschung erhoffen wir uns neue Targets und Verbesserungen zur bestehenden Therapie.

LITERATUR

- Maenz M., Schlüter D., Liesenfeld O., Schares G., Gross U., Pleyer U. (2014). Ocular toxoplasmosis past, present and new aspects of an old disease. *Prog Retin Eye Res.* 39: 77–106.
- Thieme C., Schlickeiser Stephan, Metzner Sylvia, Pleyer U. (2017) Intraocular profile of immune mediators differs in primary and recurrent human ocular Toxoplasmosis. *Clin. Infect. Dis.*; in press.
- Shobab L., Pleyer U., Johnsen J., Metzner S., James E. R., Torun N., Fay M.P., Liesenfeld O., Grigg M.E. (2013). Toxoplasma serotype is associated with development of ocular toxoplasmosis. *J Infect Dis.*; 208: 1520–8.
- Ouyang Y., Li F., Shao Q., Heussen F.M., Keane P.A., Stübiger N., Satta S.R., Pleyer U. (2015). Subretinal fluid in eyes with active ocular toxoplasmosis observed using spectral domain optical coherence tomography. *PLoS One.* 26; 10: e0127683.
- Blessin U.B., Fischer A., Schneider T., Moos V., Müller T., Weylandt K.H., Pleyer U. (2016). More than meets the eye. *Gut*
- Kallinich T., von Bernuth H., Kuhns M., Elias J., Bertelmann E., Pleyer U. (2016). Fulminant Endophthalmitis in a Child Caused by Neisseria meningitidis Serogroup C Detected by Specific DNA. *J Pediatric Infect Dis Soc.* 5: e13-6.
- Letko E., Yeh S., Foster C.S., Pleyer U., Brigell M., Grosskreutz C.L., Group AAS (2015) Efficacy and safety of intravenous secukinumab in noninfectious uveitis requiring steroid-sparing immunosuppressive therapy. *Ophthalmology* 122: 939–948 DOI 10.1016/j.ophtha.2014.12.033
- Ocwieja M., Meiser K., David O.J., Valencia J., Wagner F., Schreiber S.J., Pleyer U., Ziemer S., Schmouder R. (2014). Effect of fingolimod (FTY720) on cerebral blood flow, platelet function and macular thickness in healthy volunteers. *Br J Clin Pharmacol.* 78: 1354–65.
- Pleyer U., Klamann M., Laurent T.J., Manz M., Hazirolan D., Winterhalter S., Thurau S.R. (2014) Fast and Successful Management of Intraocular Inflammation with a Single Intravitreal Dexamethasone Implant. *Ophthalmologica* DOI 10.1159/000368987.
- Pohlmann D., Winterhalter S., Pleyer U. (2016). Intravitreal Dexamethasone for the Treatment of CMO Associated with Refractory Sclerouveitis. *Ocul Immunol Inflamm.* 20: 1–6.
- Pohlmann D.; vom Brocke G., Winterhalter S., Steuerer T., Thees S., Pleyer U. (2017). Long-Term Therapy with DEXAMETHASONE inserts in Noninfectious Uveitis: A single center experience. *Ophthalmology*; accepted.
- Pleyer U., Thurau S.R. Sirolimus for the treatment of noninfectious uveitis (2016). *Expert Opin Pharmacother.* 2016; 17 (1): 127–35.
- Joussen A.M., Murata T., Tsujikawa A., Kirchhof B., Bursell S.E., Adamis AP (2001) Leukocyte-mediated endothelial cell injury and death in the diabetic retina. *The American journal of pathology* 158: 147-152 DOI 10.1016/S0002-9440(10)63952-1.
- Joussen A.M., Poulaki V., Le M.L., Koizumi K., Esser C., Janicki H., Schraermeyer U., Kociok N., Fauser S., Kirchhof B., Kern T.S., Adamis A.P. (2004) A central role for inflammation in the pathogenesis of diabetic retinopathy. *FASEB journal : official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology* 18: 1450–1452 DOI 10.1096/fj.03-1476fje.
- Joussen A.M., Poulaki V., Qin W., Kirchhof B., Mitsiades N., Wiegand S.J., Rudge J., Yancopoulos G.D., Adamis A.P. (2002) Retinal vascular endothelial growth factor induces intercellular adhesion molecule-1 and endothelial nitric oxide synthase expression and initiates early diabetic retinal leukocyte adhesion in vivo. *The American journal of pathology* 160: 501–509 DOI 10.1016/S0002-9440(10)64869-9.
- Reichhart N., Crespo-Garcia S., Haase N., Golic M., Sko-syrski S., Rubsam A., Herrspeigel C., Kociok N., Alenina N., Bader M., Dechend R., Strauss O., Joussen A.M. (2017) The TetO rat as a new translational model for type 2 diabetic retinopathy by inducible insulin receptor

- knockdown. *Diabetologia* 60: 202–211 DOI 10.1007/s00125-016-4115-0.
17. 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. *American journal of physiology Renal physiology* 299: F396–403 DOI 10.1152/ajprenal.00576.2009.
 18. Reichhart N., Haase N., Crespo-Garcia S., Skosyrski S., Herrspiegel C., Kociok N., Fuchshofer R., Dillinger A., Poglitsch M., Muller D.N., Jousen A.M., Luft F.C., Dechend R., Strauss O. (2016) Hypertensive retinopathy in a transgenic angiotensin-based model. *Clinical science* 130: 1075–1088 DOI 10.1042/CS20160092.
 19. Genewsky A., Jost I., Busch C., Huber C., Stindl J., Skerka C., Zipfel P.F., Rohrer B., Strauss O. (2015) Activation of endogenously expressed ion channels by active complement in the retinal pigment epithelium. *Pflugers Archiv: European journal of physiology* 467: 2179–2191 DOI 10.1007/s00424-014-1656-2.
 20. Busch C., Annamalai B., Abdusalamova K., Reichhart N., Huber C., Lin Y., Jo E.A.H., Zipfel P.F., Skerka C., Wildner G., Diedrichs-Mohring M., Rohrer B., Strauss O. (2017) Anaphylatoxins Activate Ca²⁺, Akt/PI3-Kinase, and FOXO1/FoxP3 in the Retinal Pigment Epithelium. *Frontiers in immunology* 8: 703 DOI 10.3389/fimmu.2017.00703.
 21. Micklisch S., Lin Y., Jacob S., Karlstetter M., Dannhausen K., Dasari P., von der Heide M., Dahse H.M., Schmolz L., Grassmann F., Alene M., Fauser S., Neumann H., Lorkowski S., Pauly D., Weber B.H., Jousen A.M., Langmann T., Zipfel P.F., Skerka C. (2017) Age-related macular degeneration associated polymorphism rs10490924 in ARMS2 results in deficiency of a complement activator. *Journal of neuroinflammation* 14: 4 DOI 10.1186/s12974-016-0776-3.
 22. Kociok N., Crespo-Garcia S., Liang Y., Klein S.V., Nurnberg C., Reichhart N., Skosyrski S., Moritz E., Maier A.K., Brunken W.J., Strauss O., Koch M., Jousen A.M. (2016) Lack of netrin-4 modulates pathologic neovascularization in the eye. *Scientific reports* 6: 18828 DOI 10.1038/srep18828.
 23. Maier A.B., Klein S., Kociok N., Riechardt A.I., Gundlach E., Reichhart N., Strauss O., Jousen A.M. (2017) Netrin-4 Mediates Corneal Hemangiogenesis but Not Lymphangiogenesis in the Mouse-Model of Suture-Induced Neovascularization. *Investigative ophthalmology & visual science* 58: 1387–1396 DOI 10.1167/iovs.16-19249.
 24. Brockmann C., Brockmann T., Dege S., Busch C., Kociok N., Vater A., Klussmann S., Strauss O., Jousen A.M. (2015) Intravitreal inhibition of complement C5a reduces choroidal neovascularization in mice. *Graefes' archive for clinical and experimental ophthalmology = Albrecht von Graefes Archiv für klinische und experimentelle Ophthalmologie* 253: 1695–1704 DOI 10.1007/s00417-015-3041-z.
 25. Muther P.S., Semkova I., Schmidt K., Abari E., Kuebbeler M., Beyer M., Abken H., Meyer K.L., Kociok N., Jousen A.M. (2010) Conditions of retinal glial and inflammatory cell activation after irradiation in a GFP-chimeric mouse model. *Investigative ophthalmology & visual science* 51: 4831–4839 DOI 10.1167/iovs.09-4923.
 26. Riechardt A.I., Cordini D., Willerding G.D., Georgieva I., Weber A., Seibel I., Lakotka N., Bechrakis N.E., Foerster M.H., Moser L., Jousen A.M. (2014) Proton beam therapy of parapapillary choroidal melanoma. *American journal of ophthalmology* 157: 1258–1265 DOI 10.1016/j.ajo.2014.02.032.
 27. Seibel I., Cordini D., Hager A., Tillner J., Riechardt A.I., Heufelder J., Davids A.M., Rehak M., Jousen A.M. (2016) Predictive risk factors for radiation retinopathy and optic neuropathy after proton beam therapy for uveal melanoma. *Graefes' archive for clinical and experimental ophthalmology = Albrecht von Graefes Archiv für klinische und experimentelle Ophthalmologie* 254: 1787-1792 DOI 10.1007/s00417-016-3429-4.
 28. Seibel I., Hager A., Riechardt A.I., Davids A.M., Boker A., Jousen A.M. (2016) Antiangiogenic or Corticosteroid Treatment in Patients With Radiation Maculopathy After Proton Beam Therapy for Uveal Melanoma. *American journal of ophthalmology* 168: 31–39 DOI 10.1016/j.ajo.2016.04.024.
 29. Seibel I., Riechardt A.I., Heufelder J., Cordini D., Jousen A.M. (2017) Adjuvant Ab Interno Tumor Treatment After Proton Beam Irradiation. *American journal of ophthalmology* 178: 94–100 DOI 10.1016/j.ajo.2017.03.027.

KONTAKT



Univ.-Prof. Dr. Antonia Jousen

Direktorin Klinik für Augenheilkunde
Charité Universitätsmedizin Berlin

Virchowklinikum (CVK)
Augustenburger Platz 1
13353 Berlin

Klinikum Steglitz (CBF)
Hindenburgdamm 30
12200 Berlin

EvoTears® – Die neue Therapiekategorie zur Behandlung evaporativ trockener Augen

Das trockene Auge (Keratokonjunktivitis sicca) gehört zu den häufigsten ophthalmologischen Erkrankungen. Augenbefeuchtungsmittel werden als Basistherapeutika eingesetzt [1] und hierzu hat sich mittlerweile ein großer Markt etabliert, der von wässrigen Augentropfen dominiert wird. Obwohl in mehr als 80% der Fälle von trockenen Augen eine hyperevaporative Störung zugrunde liegt [2], haben sich öl- bzw. lipidhaltige Augentropfen beim Patienten nicht durchgesetzt. Dies ist unter anderem bedingt durch die in Öl/Lipid-Wasser-Mischungen häufig enthaltenen Emulgatoren und Konservierungsmittel, die nicht selten zu Verträglichkeitsproblemen bzw. zu mangelhaftem Erfolg der Therapie führen.

URSAPHARM hat, in Kooperation mit dem Entwicklungsunternehmen Novaliq, mit EvoTears® und dem Inhaltsstoff Perfluorhexyloctan eine Lücke geschlossen. Perfluorhexyloctan wird bereits seit vielen Jahren in der vitreoretinalen Chirurgie eingesetzt [3, 4] und liegt nun erstmals als Augentropfen vor. Zudem ist es biokompatibel, inert und stabil und kann aufgrund seiner chemischen Struktur weder resorbiert noch metabolisiert werden. EvoTears® ist lipophil, besitzt denselben Brechungsindex wie die Träne und verteilt sich rasch auf dem Tränenfilm. So kann es der hyperevaporativen Störung beim trockenen Auge, auch evaporativ trockenes Auge genannt, vorbeugen, die Symptome lindern und das Auge dauerhaft vor Reizungen schützen.

Ein entscheidender und innovativer Vorteil von EvoTears® ist seine wasserfreie Zubereitung, da einzig die Substanz Perfluorhexyloctan appliziert wird. Im Gegensatz zu wässrigen Augentropfen bedarf es daher keiner Hilfsstoffe, wie etwa Konservierungsmittel, Emulgatoren oder Phosphate, die ein allergenes Potenzial besitzen bzw. bei längerem oder unsachgemäßem Gebrauch die Augenoberfläche schädigen können. EvoTears® besitzt eine wesentlich geringere Oberflächenspannung als Wasser und deshalb entsteht pro Applikation ein Tropfen von nur ca. 10 µl Volumen, was dem Fassungsvermögen des Bindehautsackes entspricht und zudem für eine einfache und angenehme Anwendung sorgt. Die Wasserfreiheit bedingt weitere, bislang in der Therapie des trockenen Auges unbekannt vorteilhafte Eigenschaften. EvoTears® verteilt sich dadurch schnell auf der Träne und hat weder einen pH-Wert noch eine Osmolarität. Letztere können, wenn sie nicht im physiologischen Bereich liegen, bei wasserbasierten Augentropfen zu Unverträglichkeitsreaktionen führen.

Zwei Studien wurden mit EvoTears® durchgeführt; an 30 Patienten mit leichten bis mittelschweren evaporativ trockenen Augen [5] sowie an 72 Patienten mit leichter bis mittelschwerer Meibomdrüsendysfunktion [6]. In beiden zeigte EvoTears®

eine hochsignifikante Verbesserung der Tränenfilmstabilität, der Hornhautfärbung und der subjektiven Symptome. Bei Patienten mit Meibomdrüsendysfunktion wurde zudem der Schweregrad der Blepharitis verringert [6]. EvoTears® wurde sehr gut vertragen und kein nachteiliger Effekt wurde auf Visus und intraokularen Druck ermittelt [5, 6].

Mit EvoTears® stehen erstmals wasserfreie Augentropfen zur Behandlung des trockenen Auges zur Verfügung. Damit wurde eine neue Therapiekategorie für Patienten, die an der evaporativen Form der Keratokonjunktivitis sicca leiden, geschaffen.

■ Literatur

1. International Dry Eye Workshop: Ocul Surf 2007; 5: 69-202.
2. Lemp MA et al.: Cornea 2012; 31: 472-478.
3. Langefeld S. K. et al.: Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol 1999; 237: 201-206.
4. Meinert H. et al.: Eur J Ophthalmol 2000; 10: 189-197.
5. Steven P. et al.: J Ocul Pharmacol Ther 2015; 31: 498-503.
6. Messmer E. M. et al.: DOG 2016; Poster: PSa03-02.



KONTAKT

URSAPHARM
Arzneimittel GmbH
 Industriestraße 35
 66129 Saarbrücken
 Tel.: 06805 9292-0
 Fax: 06805 9292-88
 info@ursapharm.de
 www.ursapharm.de

Vergleich der Eigenschaften und visuellen Ergebnisse einer panfokalen mit einer trifokalen Intraokularlinse nach Linsen chirurgie

UNIV.-PROF. DR. MED. THOMAS KOHNEN¹, EVA HEMKEPLER¹, M.SC.,
DR. RER. MEDIC. MYRIAM BÖHM, M.SC.¹

¹ Klinik für
Augenheilkunde,
Goethe-Universität
Frankfurt

Zunehmend mehr Menschen entscheiden sich bei Diagnose des grauen Stars oder bei hoher Fehlsichtigkeit und Alterssichtigkeit für die Implantation von Sonderlinsen. Diese Kunstlinsen mit Zusatznutzen können Patienten ein hohes Maß an Individualität und Lebensqualität ermöglichen [20].

Derzeit stehen dem modernen Kataraktchirurgen asphärische, torische, multifokale sowie Intraokularlinsen mit erweiterter Tiefenschärfe und Kombinationen aus den vorhergenannten Intraokularlinsen zur Verfügung, um die individuellen Bedürfnisse der Patienten zu adressieren. Im folgenden Übersichtsartikel werden zwei moderne Multifokallinsen (AT LISA Tri 839MP versus AcrySof IQ PanOptix) und ihre Eigenschaften für den Patienten diskutiert.

MULTIFOKALLINSEN

Die ersten multifokalen Intraokularlinsen (MIOL) wurden in den späten 80er Jahren eingeführt [7, 13, 18]. Die meisten dieser auf dem Markt befindlichen MIOLs verfügen über zwei Brennpunkte, so dass sie Patienten sowohl Brillenfreiheit in der Nähe als auch der Ferne ermöglichen [5, 9]. Jedoch sind die Intermediärarbeitsabstände zwischen diesen sogenannten »sweet spots« mit suboptimaler Sehschärfe verbunden [1, 14, 15, 21]. Mittlerweile hat sich die Bedeutung der intermediären visuellen Leistung erhöht, da sich die

Prioritäten der Patienten häufig auf tägliche Aufgaben im Intermediärbereich (Laptop, Tablet, Armaturenbrett) verlagert haben. Die neuartige Entwicklung von multifokalen IOLs wie der AT LISA tri 839MP (Zeiss) oder der AcrySof IQ PanOptix (Alcon) IOL mit multiplen Brennpunkten bietet den Patienten ein erweitertes Spektrum an Brillenunabhängigkeit auch im Intermediärbereich gegenüber den Vorgänger bifokaler Intraokularlinsen [2–3, 6, 10–11, 19, 23–24, 26–27, 29–31].

LINSENDISIGN – AT LISA tri 839MP VERSUS ACRYSOF IQ PANOPTIX

Sowohl die AT LISA tri 839MP (Zeiss) als auch die AcrySof IQ PanOptix (Alcon) IOL bieten Patienten Brillenunabhängigkeit neben Ferne und Nähe auch im Intermediärbereich, wobei die AT LISA tri 839MP ihren präferierten Fokuspunkt bei 80 cm und die PanOptix IOL hingegen bei 60 cm hat. Die Idee der Verlagerung des intermediären Brennpunktes der PanOptix IOL von 80 cm auf 60 cm hat zum Ziel, den Zwischenbereich für die Patienten komfortabler nutzbar zu machen, da viele Arbeiten derzeit in Armlänge (60–70 cm) ausgeführt werden.

Die AT LISA tri 839MP (siehe **Abbildung 1a**) ist eine einstückige, asphärische, hydrophile Acryllinse mit einer hydrophoben Oberfläche. Diese Hinterkammerlinse besteht aus einer Plattenhaptik mit einer 6 mm großen optischen Zone. Es handelt sich um eine asphärische, diffraktive Trifokallinse mit einer +3,33 Dioptrie (dpt.) Addition im Nahbereich bei 40 cm und einer +1,66 dpt Zwischenaddition im Intermediärbereich bei 80 cm. Das Licht wird durch das optische Design asymmetrisch mit 50 % für die Ferne, 20 % für den Intermediärbereich und 30 % für die Nähe aufgeteilt. Die AT LISA tri hat eine Lichttransmission von 85,7 % [23].

Die AcrySof IQ PanOptix (**Abbildung 1b**) ist eine einstückige, asphärische, hydrophobe Hinterkammerlinse mit Blaufilter. Die Linse besteht aus einer 6 mm großen optischen Zone, welche sich aus einem zentralen 4,5 mm großen diffraktiven

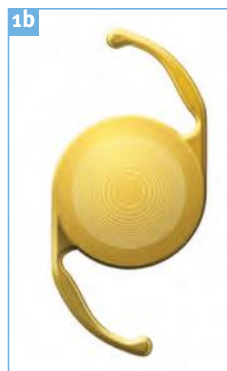
Abbildung 1a

■ Schematische Darstellung der AT LISA tri 839MP trifokalen Intraokularlinse (Nahaddition +3,33 dpt. (40 cm), Zwischenaddition 1,66 dpt. (80 cm))



Abbildung 1b

■ Schematische Darstellung der AcrySof IQ PanOptix panfokalen Intraokularlinse (Nahaddition +3,25 dpt. (40 cm), Zwischenaddition 2,17 dpt. (60 cm))



Bereich mit 15 Stufen und einem äußeren refraktiven Teil zusammensetzt. Die Größe der diffraktiven optischen Zone soll auch bei weiter Pupille einen guten Nah- und Intermediärvisus ermöglichen und wirkt somit weitestgehend pupillenunabhängig. Es handelt sich um eine panfokale Intraokularlinse mit einem einzigartigen quadrifokalen Design. Die quadrifokale Technologie der PanOptix IOL besteht in der Schaffung eines vierten Brennpunktes bei 1,20 m, wobei dieser direkt in die Ferne umgeleitet wird und so dem Patienten nicht als neuer Schärfbereich zur Verfügung steht. Somit entspricht die PanOptix IOL wie die AT LISA tri IOL in ihrer Funktion einer trifokalen Linse mit einem Brennpunkt bei 40 cm in der Nähe (Nahaddition: 3,25 Dioptrien) und einem bei 60 cm im Intermediärbereich (Zwischenaddition: +2,17 Dioptrien) sowie in der Ferne bei 4 m. Das Licht des vierten Brennpunktes bei 1,20 m, welches durch Beugung in die Ferne umgelenkt wird, führt zu einer hohen Lichttransmission von 88 % [19, 28].

SEHSCHÄRFE IN UNTERSCHIEDLICHEN DISTANZEN

In vorangegangenen Studien zeigten beide Intraokularlinsen gute Ergebnisse im Nahbereich (40 cm), Intermediärbereich (60 cm versus 80 cm) und in der Ferne.

In einer Studie von Kohnen et al. (2016) konnte eine monokulare unkorrigierte Sehschärfe von 0,09 LogMAR in der Nähe (40 cm), 0,06 LogMAR im Intermediärbereich (80 cm) und 0,01 LogMAR in der Ferne (4 m) 3 Monate nach Implantation der AT LISA tri IOL gemessen werden (n=54 Augen). Die monokulare bestkorrigierte Sehschärfe zeigte sich mit 0,06 LogMAR in der Nähe, 0,04 LogMAR im Intermediärbereich und -0,04 LogMAR in der Ferne geringfügig besser mit einem sphärischen Äquivalent von 0,05 Dioptrien [23]. Eine Studie von Monaco et al. (2017) beschreibt die monokulare unkorrigierte Sehschärfe der PanOptix IOL in der Nähe (40 cm) mit 0,02 LogMAR, im Intermediärbereich (67 cm) mit 0,23 LogMAR und in der Ferne (3 m) mit 0,03 LogMAR (n= 40 Augen). Die monokulare bestkorrigierte Sehschärfe zeigte sich auch bei der PanOptix IOL nur geringfügig besser mit 0,01 LogMAR in der Nähe, 0,13 LogMAR im Intermediärbereich und -0,1 in der Ferne, wobei ein sphärisches Äquivalent von -0,19 Dioptrien vorlag. Auch weitere Studien wie von Gundersen et al. (2017), Garcia-Perez et al. (2017) und Kohnen et al. (2015) zeigen ähnliche oder bessere Visusergebnisse der PanOptix IOL [8, 12, 19, 16, 23–24].

DEFOKUSKURVEN

Die Sehschärfenmessung der theoretischen Defokuskurven [19, 23] zeigen für beide multifokale

Intraokularlinsen gute Ergebnisse, sowohl in der Ferne bei 0 Dioptrien (4 m), in der Nähe bei -2,5 Dioptrien (40 cm) aber auch in im Intermediärbereich bei -1,0 Dioptrien (1 m) bis -2,0 Dioptrien (50 cm). Im Nahbereich bei 40 cm zeigte die AT LISA tri eine binokulare bestkorrigierte Sehschärfe von 0,06 LogMAR und die PanOptix IOL von -0,03 LogMAR in der Defokuskurve. In der Ferne (4 m) wies die PanOptix IOL eine binokulare bestkorrigierte Sehschärfe von -0,03 LogMAR und die AT LISA tri von -0,05 LogMAR auf. Die Vermessung des Zwischenbereiches beider Linsen zeigte durchgängig eine gute Sehschärfe von > 0,2 LogMAR. Im Intermediärbereich von 50 cm bis 67 cm (-2,0 bis -1,5 Dioptrien) zeigte die PanOptix IOL eine geringfügig bessere binokulare bestkorrigierte intermediäre Sehschärfe von 0,00 LogMAR im Vergleich zur AT LISA tri mit 0,18 bis 0,14 LogMAR, jedoch ist bei der Bewertung der Defokuskurven sicher die geringere Fallzahl in der PanOptix IOL Gruppe zu berücksichtigen ist.

BRILLENFREIHEIT

Die AT LISA tri IOL konnte in der Studie von Kohnen et al. (2016) 100 % (25/25 Patienten) den Patienten zu einer Brillenfreiheit in der Ferne als auch im Intermediärbereich verhelfen, wobei lediglich 12 % (3/25 Patienten) gelegentlich eine Lesebrille verwendeten [23].

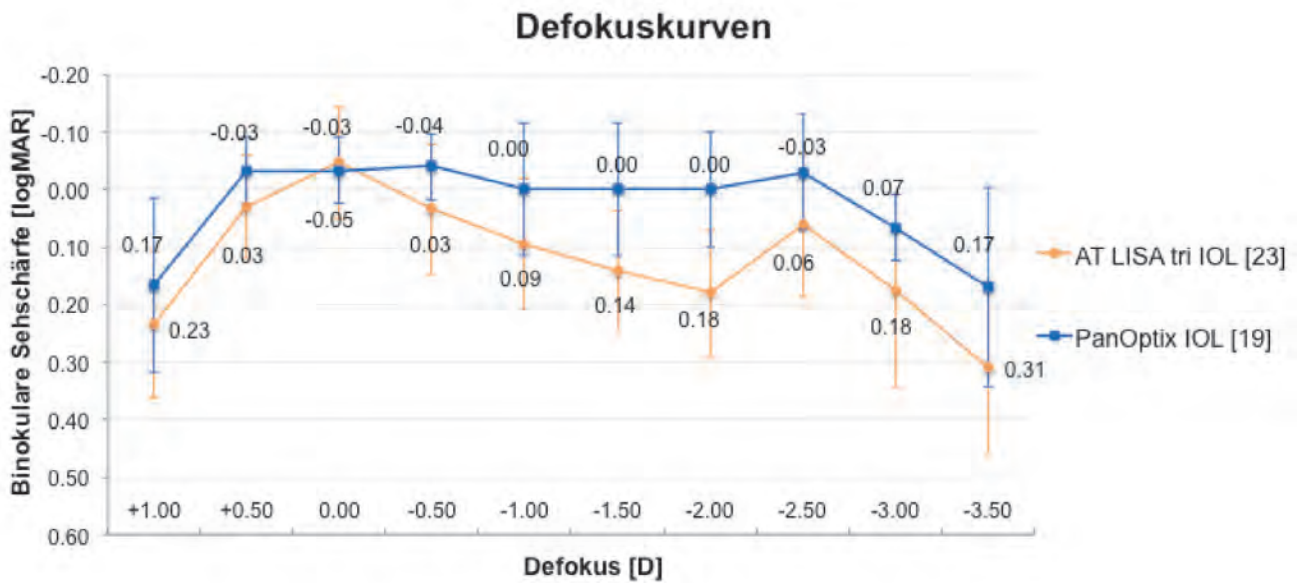
Ebenso zeigte die PanOptix IOL in der Studie von Monaco et al. (2017) eine hohe Brillenfreiheit mit 90 % (18/20 Patienten) im Fernbereich, 100 % (20/20 Patienten) im Intermediärbereich und 90 % im Nahbereich (18/20 Patienten). Lediglich 10 % (2/20 Patienten) der Patienten berichtete, gelegentlich eine Fernbrille oder Lesebrille zu verwenden.

Somit ermöglichen die beiden funktionellen Trifokallinsen den Patienten eine gute Sehschärfe im Nah-, Intermediär- und Fernbereich, sowie eine weitestgehende Brillenfreiheit im Nah-, Intermediär- und Fernbereich [32].

OPTISCHE QUALITÄT

Durch das Vorliegen mehrerer Brennpunkte bei multifokalen Intraokularlinsen ist ein Sehen in der Nähe, im Zwischenbereich und in der Ferne ohne eine zusätzliche optische Korrektur möglich. Die Patienten nehmen lediglich das fokussierte Bild wahr, während die durch den anderen Fokus erzeugte Abbildung undeutlich erscheint. Jedoch treten durch das Vorhandensein von mehreren Brennpunkten bei MIOLs im Vergleich zu Monofokallinsen deutlich häufiger störende optische Phänomene wie Blendung, Halos und eine verminderte Kontrastempfindlichkeit auf [22].

2

**Abbildung 2**

■ Defokuskurven der PanOptix IOL ($n=6$, Kohnen et al. (2015) [19]) und der AT LISA tri ($n=27$, Kohnen et al. (2016) [23])

Vorangegangene Studienergebnisse zeigen, dass viele Patienten nach Implantation einer MIOL postoperativ optische Phänomene wahrnehmen. So berichteten in der Studie von Kohnen et al. (2016) 3 Monate nach der Implantation der AT LISA Tri 839MPIOL 60% der Patienten über Halos, 28% über Blendung, 12% über Doppelbilder, 8% über Starbursts und 12% über die Wahrnehmung von keinen optischen Phänomenen [23].

Auch in der Studie von Monaco et al. (2017) berichteten die Patienten 4 Monate nach Implantation der AcrySof IQ PanOptix über das gelegentliche Auftreten von optischen Phänomenen wie Halos in circa 61% der Patienten, Blendung bei 58%, Starbursts bei 75% und Verschwommensehen bei 12% der Patienten. Insgesamt äußerten nach der PanOptix IOL Implantation 10% der Patienten, sogar häufig unter Halos zu leiden, wobei 12% häufig unter Blendung, 10% unter Starbursts und 5% unter häufigem Verschwommensehen leiden [32].

Die optischen Nebenwirkungen wie Halos und erhöhte Blendempfindlichkeit treten insbesondere unter mesopischen und skotopischen Lichtbedingungen auf. Daher ist es besonders wichtig, eine ausführliche Anamnese vor der Linsenauswahl mit dem Patienten durchzuführen. Unter anderem sollte hier der Beruf des Patienten erfragt werden. Bei Berufsgruppen, welche auf ein sehr gutes Sehen in der Ferne angewiesen sind, wie beispielsweise einem LKW-Fahrer, sollten MIOLs zurückhaltend implantiert werden. Wohingegen Berufsgruppen mit Überkopfarbeiten wie Mechaniker und Handwerker geeignete Kandidaten für eine MIOL sind [22].

KONTRASTEMPFLINDLICHKEIT

Hinsichtlich des Kontrastsehens haben Studien zeigen können [12, 22, 23, 28, 32], dass für multifokale Intraokularlinsen geringfügige Abstriche gegenüber einer asphärischen Monofokallinse gemacht werden müssen, so dass sowohl bei der AcrySof IQ PanOptix als auch bei der AT LISA tri 839MP Patienten eine verminderte Kontrastempfindlichkeit im Vergleich zu einer Monofokallinse zu erwarten haben.

PATIENTENZUFRIEDENHEIT

Trifokale Intraokularlinsen führen im Vergleich zu bifokalen Intraokularlinsen meist zu einer höheren Patientenzufriedenheit, vor allem da sie neben einem guten Sehen in der Ferne und Nähe den Patienten auch eine gute Sehleistung im Zwischenbereich ermöglichen [4]. So zeigen Patienten nach Implantation von multifokalen Intraokularlinsen, trotz der Wahrnehmung von Halos und Blendung, im Vergleich zu Patienten mit monofokalen Intraokularlinsen eine höhere Lebensqualität sowie Zufriedenheit einhergehend mit einer höheren Brillenunabhängigkeit [15–17].

In einer Studie von Kretz et al. (2016) nach Implantation der AT LISA tri Intraokularlinse berichteten 80% der Patienten, vollständig zufrieden zu sein und 86% der Patienten würden diese Linse weiterempfehlen [25]. In der Studie von Kohnen et al. (2016) würden 92% der Patienten die Linse wiederauswählen und bewerteten ihre Lebensqualität bei der Durchführung von täglichen Aktivitäten mit einer Durchschnittsnote von 2 [23].

Auch in der Studie von Mendicutte et al. (2016) berichten circa 90% der Patienten über eine hohe oder sehr hohe Patientenzufriedenheit bezüglich des Sehens in der Ferne und im Zwischenbereich nach Implantation der AT LISA tri [30].

In der Studie von Garcia-Perez et al. (2017) waren 96,6% der Patienten sehr zufrieden oder zufrieden nach der Implantation der PanOptix IOL, wobei lediglich 3,4% (2 Patienten) unzufrieden waren. Bei genauerem Nachfragen litt einer dieser Patienten unter Juckreiz und Tränen der Augen und der zweite hatte Schwierigkeiten mit dem Sehen bei Vorliegen eines Nachstars, welcher mittels YAG Kapsulotomie behandelt werden konnte [8].

Es gilt festzuhalten, dass eine gute Sehschärfe in der Nähe, Ferne sowie im Zwischenbereich in Kombination mit einer hohen Brillenunabhängigkeit und niedriger Inzidenz von störenden photischen Phänomenen zu einer hohen Patientenzufriedenheit nach der Implantation von trifokalen Intraokularlinsen führt [8, 19, 23, 25, 30, 33].

ZUSAMMENFASSUNG

Die bilaterale Implantation moderner multifokaler Linsen wie der AcrySof IQ PanOptix oder der AT LISA tri 839MP ermöglicht den Patienten ein gutes postoperatives Sehen sowohl in der Ferne, Nähe, aber auch im Intermediärbereich. Somit ist es dem Operateur heutzutage möglich, die Prioritäten der Patienten mit dem Wunsch eines guten Sehens auch in Zwischenbereichen (Laptop, Tablet, Amaturenbrett) erfolgreich zu bedienen. Dennoch benötigt es vor der Operation eine umfassende präoperative Anamnese, Untersuchung und Patientenaufklärung, welche sich aus der klinischen Erfahrung und der Einschätzung der individuellen Bedürfnisse und Gewohnheiten des Patienten zusammensetzt. Eine Berücksichtigung dieser individuellen Bedürfnisse und der Untersuchungsergebnisse führt in den meisten Fällen zu einem gutem visuellen Ergebnis und somit auch zu einer hohen Patientenzufriedenheit.

LITERATUR

- Alfonso J.F., Fernández-Vega L., Señaris A., Montés-Micó R. Prospective study of the Acri. LISA bifocal intraocular lens. *Journal of Cataract & Refractive Surgery*. 2007 11//; 33 (11): 1930–5.
- Alio J.L., Montalban R., Pena-Garcia P., Soria F.A., Vega-Estrada A. Visual outcomes of a trifocal aspheric diffractive intraocular lens with microincision cataract surgery. *Journal of refractive surgery (Thorofare, NJ: 1995)*. 2013 Nov; 29 (11): 756–61.
- Attia M.S., Auffarth G.U., Khoramnia R., Linz K., Kretz F.T. Near and intermediate reading performance of a diffractive trifocal intraocular lens using a reading desk. *Journal of cataract and refractive surgery*. 2015 Dec; 41 (12): 2707–14.
- Bilbao-Calabuig R., Gonzalez-Lopez F., Amparo F., Alvarez G., Patel S.R., Llovet-Osuna F. Comparison Between Mix-and-Match Implantation of Bifocal Intraocular Lenses and Bilateral Implantation of Trifocal Intraocular Lenses. *Journal of refractive surgery (Thorofare, NJ: 1995)*. 2016 Oct 01; 32 (10): 659–63.
- Calladine D., Evans J.R., Shah S., Leyland M. Multifocal versus monofocal intraocular lenses after cataract extraction. *The Cochrane database of systematic reviews*. 2012 (9): Cd003169.
- Carballo-Alvarez J., Vazquez-Molini J.M., Sanz-Fernandez J.C., Garcia-Bella J., Polo V., Garcia-Feijoo J., et al. Visual outcomes after bilateral trifocal diffractive intraocular lens implantation. *BMC ophthalmology*. 2015; 15: 26.
- de Silva S.R., Evans J.R., Kirthi V., Ziaei M., Leyland M. Multifocal versus monofocal intraocular lenses after cataract extraction. *The Cochrane database of systematic reviews*. 2016 Dec 12; 12: Cd003169.
- Garcia-Perez J.L., Gros-Otero J., Sanchez-Ramos C., Blazquez V., Contreras I. Short term visual outcomes of a new trifocal intraocular lens. *BMC ophthalmology*. 2017 May 17; 17 (1): 72.
- Gatinel D., Pagnoulle C., Houbrechts Y., Gobin L. Design and qualification of a diffractive trifocal optical profile for intraocular lenses. *Journal of cataract and refractive surgery*. 2011 Nov; 37 (11): 2060–7.
- Gundersen K.G., Potvin R. Comparison of visual outcomes after implantation of diffractive trifocal toric intraocular lens and a diffractive apodized bifocal toric intraocular lens. *Clinical ophthalmology (Auckland, NZ)*. 2016; 10: 455–61.
- Gundersen K.G., Potvin R. Comparison of visual outcomes and subjective visual quality after bilateral implantation of a diffractive trifocal intraocular lens and blended implantation of apodized diffractive bifocal intraocular lenses. *Clinical ophthalmology (Auckland, NZ)*. 2016; 10: 805–11.
- Gundersen K.G., Potvin R. Trifocal intraocular lenses: a comparison of the visual performance and quality of vision provided by two different lens designs. *Clinical ophthalmology (Auckland, NZ)*. 2017; 11: 1081–7.
- Hansen T.E., Corydon L., Krag S., Thim K. New multifocal intraocular lens design. *Journal of cataract and refractive surgery*. 1990 Jan; 16 (1): 38–41.
- Hutz W.W., Eckhardt H.B., Rohrig B., Grolmus R. Intermediate vision and reading speed with array, Tecnis, and ReSTOR intraocular lenses. *Journal of refractive surgery (Thorofare, NJ: 1995)*. 2008 Mar; 24 (3): 251–6.
- Javitt J., Brauweiler H.P., Jacobi K.W., Klemen U., Kohlen S., Quentin C.D., et al. Cataract extraction with multifocal intraocular lens implantation: clinical, functional, and quality-of-life outcomes. Multicenter clinical trial in Germany and Austria. *Journal of cataract and refractive surgery*. 2000 Sep; 26 (9): 1356–66.
- Javitt J.C., Steinert R.F. Cataract extraction with multifocal intraocular lens implantation: a multinational clinical trial evaluating clinical, functional, and quality-of-life outcomes. *Ophthalmology*. 2000 Nov; 107 (11): 2040–8.

17. Javitt J.C., Wang F., Trentacost D.J., Rowe M., Tarantino N. Outcomes of cataract extraction with multifocal intraocular lens implantation: functional status and quality of life. *Ophthalmology*. 1997; 104 (4): 589–99.
18. Keates R.H., Pearce J.L., Schneider R.T. Clinical results of the multifocal lens. *Journal of cataract and refractive surgery*. 1987 Sep; 13 (5): 557–60.
19. Kohnen T. First implantation of a diffractive quadrafocal (trifocal) intraocular lens. *Journal of Cataract & Refractive Surgery*. 2015 10//; 41 (10): 2330–2.
20. Kohnen T. [Intraocular Lenses with Special Properties]. *Klinische Monatsblätter für Augenheilkunde*. 2016 Aug; 233 (8): 908–9.
21. Kohnen T., Allen D., Boureau C., Dublineau P., Hartmann C., Mehdorn E., et al. European multicenter study of the AcrySof ReSTOR apodized diffractive intraocular lens. *Ophthalmology*. 2006 Apr; 113 (4): 584.e1.
22. Kohnen T., Kook D., Auffarth G.U., Derhartunian V. Use of multifocal intraocular lenses and criteria for patient selection. *Der Ophthalmologe*. [journal article]. 2008; 105 (6): 527–32.
23. Kohnen T., Titke C., Bohm M. Trifocal Intraocular Lens Implantation to Treat Visual Demands in Various Distances Following Lens Removal. *American journal of ophthalmology*. 2016 Jan; 161: 71-7.e1.
24. Kretz F.T., Breyer D., Klabe K., Hagen P., Kaymak H., Koss M.J., et al. Clinical Outcomes After Implantation of a Trifocal Toric Intraocular Lens. *Journal of refractive surgery (Thorofare, NJ: 1995)*. 2015 Aug; 31 (8): 504–10.
25. Kretz F.T., Choi C.Y., Muller M., Gerl M., Gerl R.H., Auffarth G.U. Visual Outcomes, Patient Satisfaction and Spectacle Independence with a Trifocal Diffractive Intraocular Lens. *Korean journal of ophthalmology: KJO*. 2016 Jun; 30 (3): 180–91.
26. Kretz F.T., Muller M., Gerl M., Gerl R.H., Auffarth G.U. Binocular function to increase visual outcome in patients implanted with a diffractive trifocal intraocular lens. *BMC ophthalmology*. 2015; 15: 110.
27. Law E.M., Aggarwal R.K., Kasaby H. Clinical outcomes with a new trifocal intraocular lens. *European journal of ophthalmology*. 2014 Jul-Aug; 24 (4): 501–8.
28. Lee S., Choi M., Xu Z., Zhao Z., Alexander E., Liu Y. Optical bench performance of a novel trifocal intraocular lens compared with a multifocal intraocular lens. *Clinical ophthalmology (Auckland, NZ)*. 2016; 10: 1031–8.
29. Marques E.F., Ferreira T.B. Comparison of visual outcomes of 2 diffractive trifocal intraocular lenses. *Journal of cataract and refractive surgery*. 2015 Feb; 41 (2): 354–63.
30. Mendicute J., Kapp A., Levy P., Krommes G., Arias-Puente A., Tomalla M., et al. Evaluation of visual outcomes and patient satisfaction after implantation of a diffractive trifocal intraocular lens. *Journal of cataract and refractive surgery*. 2016 Feb; 42 (2): 203–10.
31. Mojzis P., Pena-Garcia P., Liehneova I., Ziak P., Alio J.L. Outcomes of a new diffractive trifocal intraocular lens. *Journal of cataract and refractive surgery*. 2014 Jan; 40 (1): 60–9.
32. Monaco G., Gari M., Di Censo F., Poscia A., Ruggi G., Scialdone A. Visual performance after bilateral implantation of 2 new presbyopia-correcting intraocular lenses: Trifocal versus extended range of vision. *Journal of cataract and refractive surgery*. 2017 Jun; 43 (6): 737–47.
33. Ramon M.L., Pinero D.P., Perez-Cambrodi R.J. Correlation of visual performance with quality of life and intraocular aberrometric profile in patients implanted with rotationally asymmetric multifocal IOLs. *Journal of refractive surgery (Thorofare, NJ: 1995)*. 2012 Feb; 28 (2): 93–9.

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 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. aktuell Präsi-

dent der Deutschen Ophthalmologischen Gesellschaft (DOG), der DGII (Präsident von 2008–2012, Vizepräsident von 2012–2016 und des ESCRS board member seit 2013. 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 ca. 40.000 Operationen im gesamten Spektrum der Augenheilkunde durch und hat mehr als 350 wissenschaftliche Publikationen veröffentlicht. Zudem ist er seit über 15 Jahren Gastprofessor am Baylor College of Medicine in Houston, TX und führt gutachterliche Tätigkeiten für mehr als 20 national und international anerkannte peer-review Journale durch. Selber ist er seit 2015 Editor des **Journal of Cataract & Refractive Surgery**, seit 2006 Rubrikherausgeber von **Der Ophthalmologe** und seit 2009 Herausgeber des Schwerpunktthemas »Linse und Katarakt« in den **Klinische Monatsblätter für Augenheilkunde**. Außerdem ist er seit 2000 Editorial Board Member von **Graefe's Archive of Clinical and Experimental Ophthalmology**, 2007–2014 Editorial Board Member von **Ophthalmologica** und seit 2014 Editorial Board Member des **American Journal of Ophthalmology**.

Univ.-Prof. Dr. Thomas Kohnen

Direktor der Klinik für Augenheilkunde
Goethe-Universität, Frankfurt am Main
Theodor-Stern-Kai 7
60590 Frankfurt am Main
Telefon: 069 6301-5187 oder -5056
Telefax: 069 6301-6586
E-Mail: kohnen@em.uni-frankfurt.de



KONTAKT



Wie gut ist die Funktion der Blutgefäße?

Autor:
Prof. Dr. Josef Flammer,
Schweiz

Das Interesse an der Augendurchblutung ist mit der Einführung neuer Messmethoden deutlich gestiegen und brachte die Erkenntnis, dass sich Durchblutungsstörungen häufiger und an mehr Augenerkrankungen beteiligen als früher angenommen. Dazu kommt, dass die okulare Durchblutung repräsentativ ist für den gesamten Kreislauf des Patienten und gewisse Parameter gute Risiko-Indikatoren sind. Es gibt verschiedene Aspekte, die wir beobachten müssen. Neben dem Messort (retrobulbär, Sehnervenkopf, Chorioidea und Retina) ist v.a. der Messparameter wichtig. Für Klinik und Forschung haben sich folgende Untersuchungen bewährt:

där zur Erweiterung der größeren retinalen Arterien und Venen, weil die Blutsäule stärker an den vaskulären Endothelzellen reibt und diese veranlasst, vermehrt gefäßerweiternde Moleküle freizusetzen. Eine fehlende oder verminderte Erweiterung ist damit ein klares Indiz für eine Endotheliopathie. Diese zu erkennen ist wichtig, weil arteriosklerotische Prozesse als erstes die Endothelzellen befallen und weil auch bei der primären vaskulären Dysregulation (z.B. im Rahmen eines Flammer Syndroms) die Funktion dieser Endothelzellen gestört ist. Damit bekommt die Untersuchung mit dem DVA eine breite Anwendung, insbesondere bei der Glaukom-Diagnostik.

KONTAKT

IMEDOS Systems UG
(haftungsbeschränkt)
Am Nasstal 4
07751 Jena
Tel.: 03641 6396-0
Fax: 03641 6396-12
info@imedos.de
www.imedos.de

Der **Static Vessel Analyzer (SVA)** misst die Durchmesser der retinalen Gefäße. Das Verhältnis der Durchmesser der Arterien zu Venen zeigt das Risiko für ein zukünftiges zerebrovaskuläres Ereignis. Der prophylaktische Effekt einer Behandlung, z.B. einer Blutdrucksenkung oder Blutzuckereinstellung, lässt sich ebenfalls beobachten und ist damit motivierend für den Patienten.

Mit dem **Dynamic Vessel Analyzer (DVA)** wird die Gefäßreaktion geprüft. Stimulieren wir die Netzhaut mit Flickerlicht, so erweitern sich die kleinsten Blutgefäße und der Blutfluss nimmt zu. Das führt sekun-

Mit Hilfe der **Ophthalmodynamometrie** lässt sich der retinale Venendruck messen. Ist dieser erhöht, so sinkt der Perfusionsdruck und dies wiederum erhöht das Hypoxie-Risiko. Auch der transmurale Druck steigt und erhöht damit das Risiko für Ödeme. Das ist relevant für retinale Erkrankungen, wie z.B. diabetische Retinopathie. Der retinale Venendruck beeinflusst aber auch den Sehnervenkopf. Dieser wird zwar arteriell vom ziliaren Kreislauf her versorgt, wird aber venös über den retinalen Kreislauf entsorgt. Damit wird die Venendruckmessung auch zu einem wichtigen Bestandteil der Glaukom-Diagnostik.

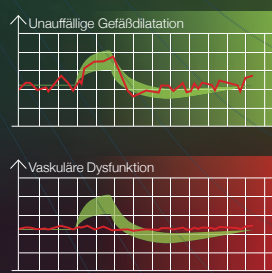
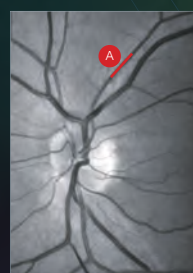
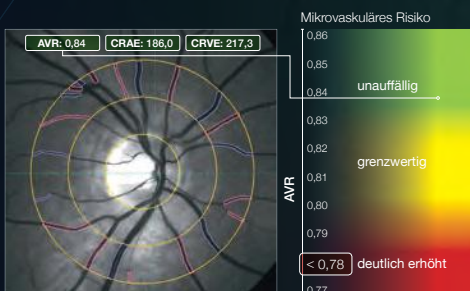


Das Auge als Fenster zur Mikrozirkulation
– moderne vaskuläre Biomarker für den Augenarzt –
Risikostratifizierung mit Fokus auf **Glaukom** und
Kardiovaskuläre Prävention.

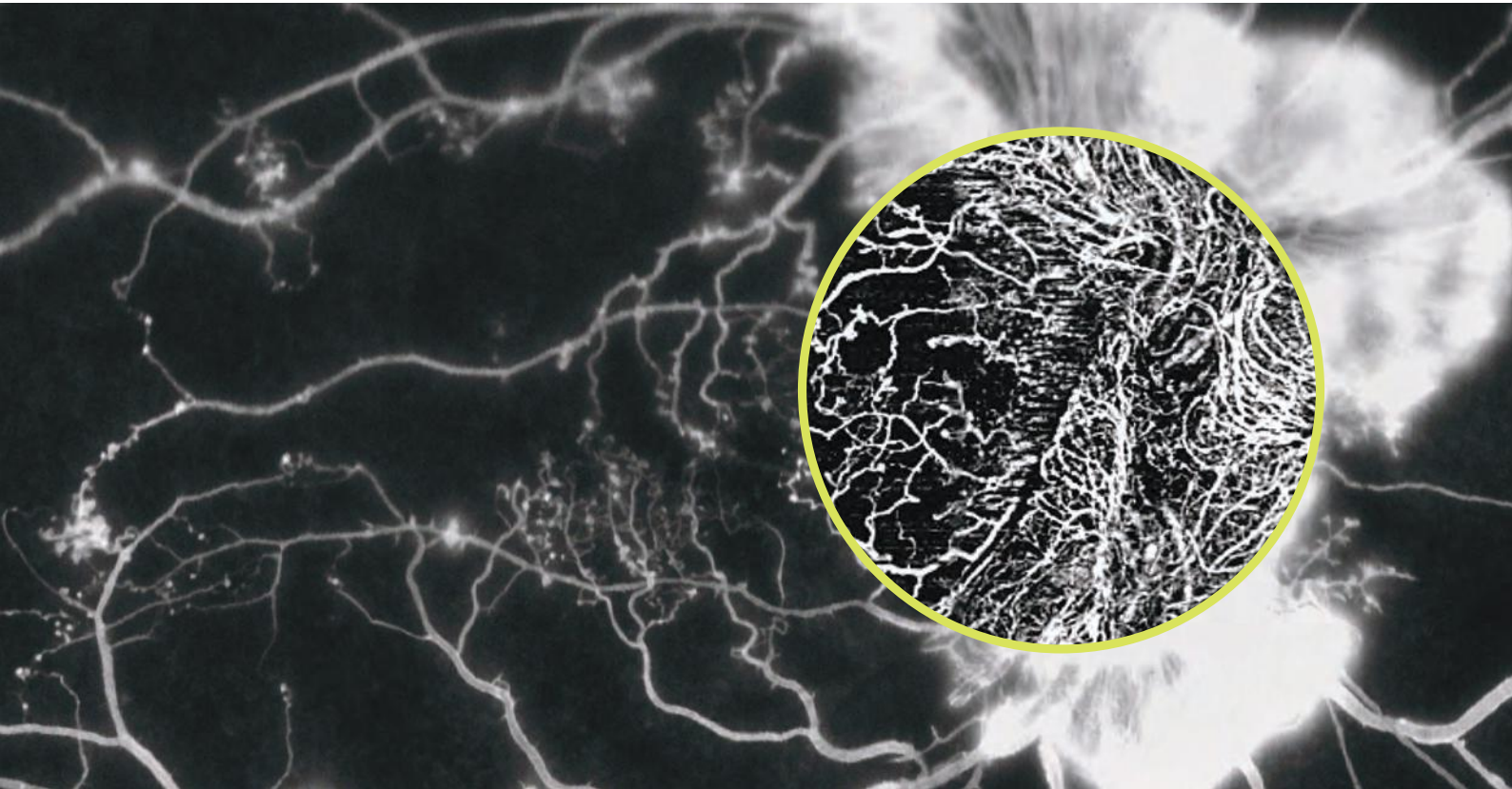
STATIC Vessel Analysis

DYNAMIC Vessel Analysis

OPHTHALMODYNAMOMETRIE



Der Moment, in dem revolutionäre Einsichten zur täglichen Routine in der Behandlung werden.
Die neue ZEISS AngioPlex OCT-Angiografie.



ZEISS CIRRUS HD-OCT mit AngioPlex™

Revolutionäre Technik für den Routineeinsatz



- Glasklare Darstellung der mikrovaskulären Durchblutung
- Nicht invasive Angiografie ohne Kontrastmittel
- Einfachheit durch Single-Scan: Durchführung einer OCT-Angiografie mit nur einer Aufnahme
- Artefaktfreie Scans und exakte Lokalisierung bei Folgeuntersuchungen dank Echtzeit-Tracking mit FastTrac™

Neue Entzündungsmechanismen als Therapietargets bei altersabhängiger Makuladegeneration (AMD)

PROF. DR. MED. TIM U. KROHNE, DR. RER. NAT. CAROLINA BRANDSTETTER, DR. MED. LENA K. M. MOHR, ANDREA V. HOFFMANN, JOSHUA PATT, LUPING WANG, DR. MED. PETRA P. FANG, PROF. DR. MED. FRANK G. HOLZ

Universitäts-Augenklinik
Bonn

ZUSAMMENFASSUNG

Oxidative Schädigung und Aktivierung des angeborenen Immunsystems in der äußeren Netzhaut sind zentrale Faktoren der Pathogenese der altersabhängigen Makuladegeneration (AMD), der häufigsten Ursache für einen Verlust der zentralen Sehschärfe in den Industrienationen. Eine zunehmende Anzahl experimenteller und klinischer Studien deutet auf eine Beteiligung des NLRP3-Inflammasoms an diesen Prozessen hin. Das NLRP3-Inflammasom als intrazellulärer Sensor des angeborenen Immunsystems wird durch eine Vielzahl verschiedener Gefahrensignale einschließlich Viren, Bakterientoxine und phagozytierte Kristalle wie Cholesterole und Harnsäure aktiviert.

Ein gemeinsamer Mechanismus der Inflammasomaktivierung durch so unterschiedliche Stimuli ist die Permeabilisierung der lysosomalen Membran mit Freisetzung lysosomaler Enzyme ins Zytosol. In Zellen des retinalen Pigmentepithels (RPE) kann eine photooxidative Schädigung infolge zunehmender Lipofuszinakkumulation ebenfalls eine lysosomale Membranpermeabilisierung verursachen. Wir untersuchen deshalb das Zusammenspiel von oxidativer Schädigung und Inflammasomaktivierung in RPE-Zellen. Dabei konnten wir in bisherigen Arbeiten nachweisen, dass eine lysosomale Membranpermeabilisierung

durch Lipofuszin-vermittelten photooxidativen Schaden in RPE-Zellen eine ausgeprägte Inflammasomaktivierung mit apikaler Freisetzung proinflammatorischer Zytokine wie IL-1 β und IL-18 induziert [Brandstetter et al., *J Mol Med* 2015; Mohr et al., *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2015]. In vitro führt diese Zytokinfreisetzung der RPE-Zellen zur Aktivierung und chemotaktischen Rekrutierung von Mikrogliazellen [Mohr et al., *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2015].

Die Inflammasomaktivierung in RPE-Zellen wird dabei u.a. durch aktiviertes Komplement verstärkt, insbesondere infolge Priming des Inflammasoms durch den Komplementfaktor C5a [Brandstetter et al., *J Biol Chem* 2015]. Durch diesen Mechanismus wird zudem die Anfälligkeit der RPE-Zellen für photooxidative Schädigung und Degeneration erhöht [Brandstetter et al., *J Photochem Photobiol B* 2016].

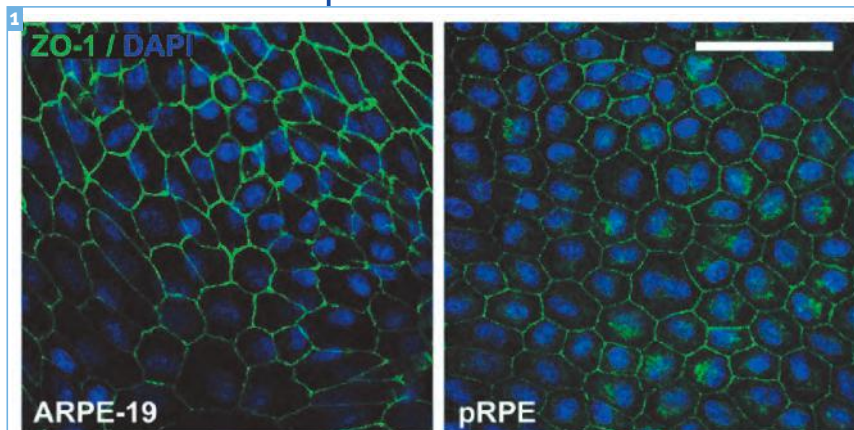
Innerhalb der bisher dreijährigen Förderperiode des Projekts durch die Deutsche Forschungsgemeinschaft (DFG) sind mehrere wissenschaftliche Publikationen, zahlreiche nationale und internationale Kongressbeiträge, sowie eine naturwissenschaftliche und drei medizinische Doktorarbeiten daraus hervorgegangen. Die naturwissenschaftliche Doktorarbeit wurde mit dem Retina-Forschungspreis 2016 der Deutschen Ophthalmologischen Gesellschaft (DOG) ausgezeichnet. In mehreren auf diesen Ergebnissen aufbauenden Anschlussprojekten werden nun die beschriebenen Mechanismen der Inflammasomaktivierung im RPE in geeigneten in-vivo-Modellen weiter charakterisiert und Strategien zur pharmakologischen Intervention u.a. mit spezifischen NLRP3-Inhibitoren evaluiert.

LIPOFUSZIN-PHOTOTOXIZITÄT UND INFLAMMASOMAKTIVIERUNG IM RPE

Die Versuche wurden in humanen RPE-Zellen durchgeführt (**Abbildung 1**). Wir konnten hierbei erstmals nachweisen, dass eine Lipofuszin-vermittelte pho-

Abbildung 1

■ Humane RPE-Zelllinie ARPE-19 und primäre humane RPE Zellen (pRPE). [Abbildung aus: Brandstetter C. et al. © *Journal of Biological Chemistry* 2015 Dec 25; 290 (52): 31189–98.]



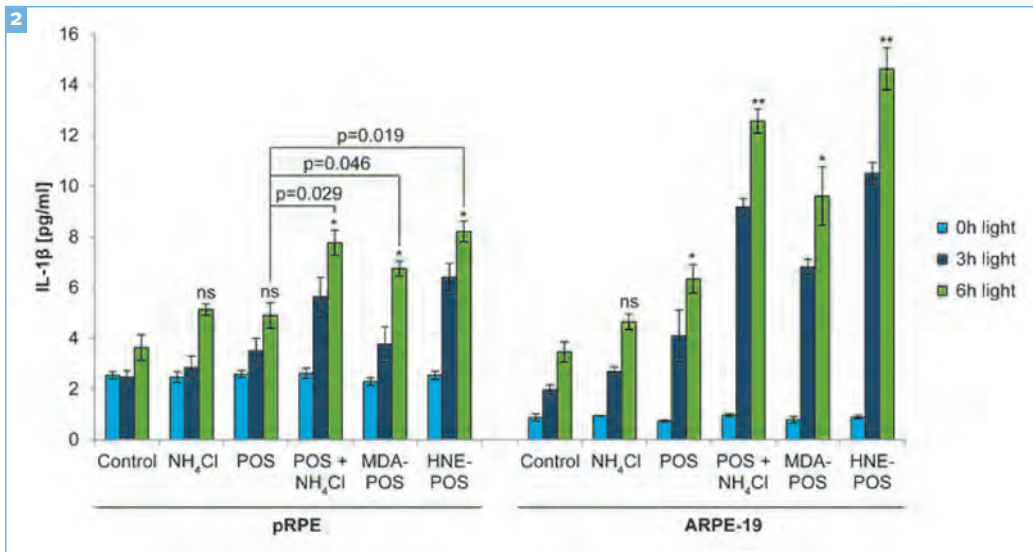


Abbildung 2

■ Infammasomaktivierung durch Lipofuszin-Phototoxizität in RPE-Zellen. Primäre humane RPE-Zellen (pRPE) und Zellen der humanen RPE-Zelllinie ARPE-19 wurden mit Lipofuszin beladen und anschließend mit Blaulicht bestrahlt. Die Behandlung führte zu einer signifikanten Aktivierung des NLRP3-Inflammasoms mit Aktivierung von Caspase-1 und Freisetzung der inflammatorischen Zytokine IL-1β (dargestellt) und IL-18. [Abbildung aus: Brandstetter C. et al. © Journal of Molecular Medicine 2015 Aug; 93 (8): 905–16.]

tooxidative Schädigung zu einer Aktivierung des NLRP3-Inflammasoms mit Aktivierung von Caspase-1 und Freisetzung der inflammatorischen Zytokine IL-1β und IL-18 führt (**Abbildung 2**). Als Mechanismus der Inflammasomaktivierung identifizierten wir eine oxidative Permeabilisierung der lysosomalen Membran mit zytosolischer Leckage lysosomaler Enzyme with Cathepsin B. Dieser Mechanismus stellt eine Verbindung zwischen oxidativer Schädigung und chronischer Immunaktivierung im Bereich des RPE als zwei Schlüsselfaktoren der AMD-Pathogenese her.

Zellen freigesetzte IL-1β ausgemacht, dass somit über einen parakrine Verstärkungsschleife die Inflammasomaktivierung amplifizieren kann. Als weiteres Priming-Signal identifizierten wir die aktivierte Komplementkomponente C5a (**Abbildung 3**), die bei der AMD im subretinalen Raum nachweisbar ist. Eine Hemmung dieser beiden Signalwege konnte die Inflammasomaktivierung unterdrücken und stellt somit einen Ansatzpunkt für therapeutische Interventionen in vivo dar.

ZUSAMMENSPIEL MIT KOMPLEMENT-SYSTEM UND MIKROGLIA

Als Priming-Signal der Inflammasomaktivierung in RPE-Zellen haben wir u. a. das von den RPE-

Die neovaskuläre Form der AMD beruht auf einer VEGF-vermittelten choroidale Neovaskularisation (CNV). Wir haben mögliche Auswirkungen der Inflammasomaktivierung auf die VEGF-Sekretion des RPE untersucht. Durch die Aktivierung des Inflammasoms kam es in RPE-Zellen zu einer signifikanten Runterregulation

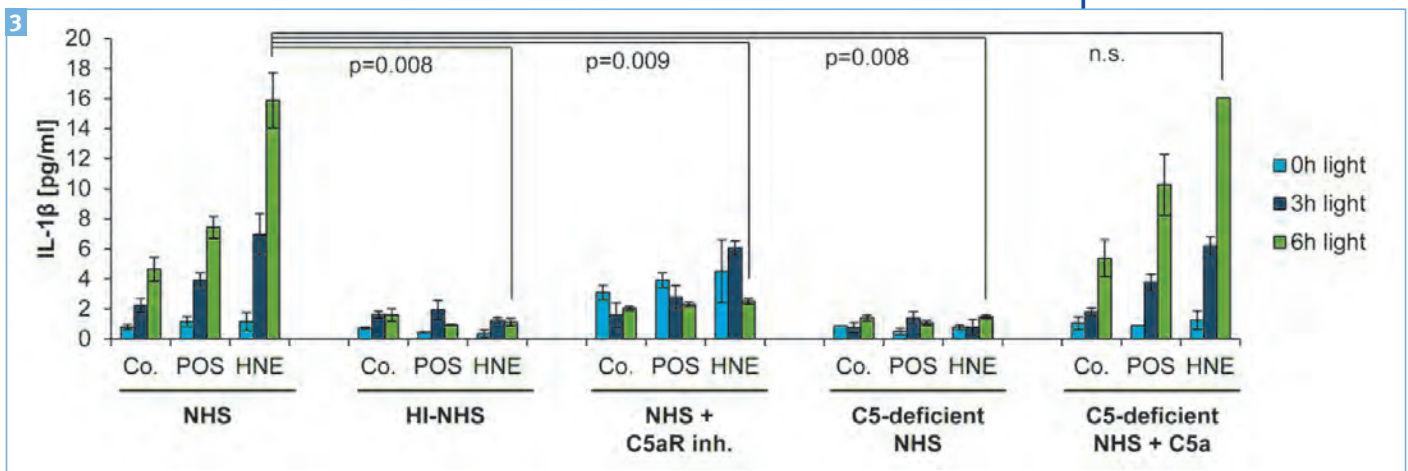


Abbildung 3

■ Complement-Komponente C5a als Priming-Signal des Inflammasoms in RPE-Zellen. Inkubation von primären humanen RPE-Zellen und ARPE-19-Zellen mit Komplement-aktiviertem normalen humanen Serum (NHS) führt zu einem Priming des NLRP3-Inflammasoms und ermöglicht seine Aktivierung durch Lipofuszin-Phototoxizität. Versuche mit Hitze-Inaktivierung des Komplementsystems (HI-NHS), Hemmung des C5a-Rezeptors (C5aR) und C5-Depletion des Serums identifizierten die Complement-Komponente C5a als das aktive Primingsignal. [Abbildung aus: Brandstetter C. et al. © Journal of Biological Chemistry 2015 Dec 25; 290 (52): 31189–98.]

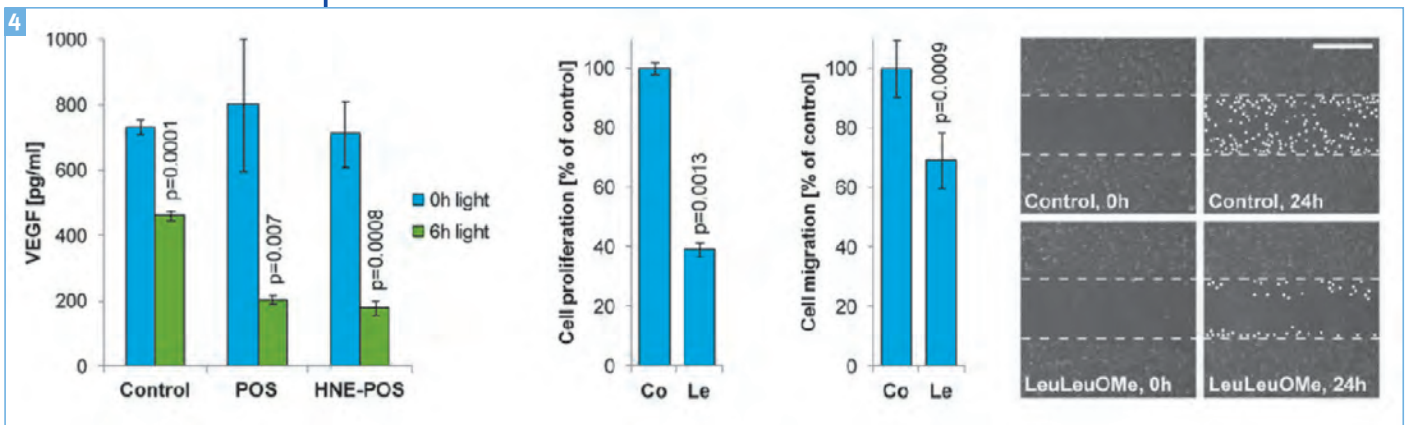


Abbildung 4

■ **Anti-angiogener Effekt der Inflammasomaktivierung in RPE-Zellen.** Inflammasomaktivierung durch Lipofuszin-Phototoxizität resultiert in einer signifikanten Runterregulation der konstitutiven VEGF-Sekretion der Zellen. Konditioniertes Medium von RPE-Zellen nach Inflammasomaktivierung (Le) reduziert die Proliferation und Migration von vaskulären Endothelzellen. [Abbildung aus: Mohr L. K. M. et al. © Investigate Ophthalmology and Visual Sciences 2015 Oct 1; 56 (11): 6404–13.]

der konstitutiven Sekretion von VEGF (**Abbildung 4**). Durch diese Zellen konditioniertes Medium bewirkte zudem eine reduzierte Aktivierung der Proliferation und Migration vaskulärer Endothelzellen. Diese Effekte in vitro deuten nicht auf eine direkte Beteiligung der Inflammasomaktivierung im RPE an der CNV-Entstehung hin.

Im Rahmen der AMD kommt es zur Rekrutierung retinalen Mikrogliazellen in den subretinalen Raum, für die eine Beteiligung an der Krankheitspathogenese vermutet wird. In unseren polarisierten RPE-Zellkulturen erfolgte die Inflammasom-gesteuerte Freisetzung der Zytokine IL-1 β

und IL-18 fast ausschließlich zur apikalen Zellseite (**Abbildung 5**), entsprechend der Seite der neurosensorischen Netzhaut in vivo. In Kokultur-Experimenten war zudem ein signifikanter chemotaktischer Effekt der von den RPE-Zellen freigesetzten Zytokine auf Mikrogliazellen zu beobachten. Diese Prozesse liefern einen möglichen Mechanismus der subretinalen Mikrogliaakkumulation in vivo.

INFLAMMASOM ALS THERAPIETARGET

Der siRNA-vermittelte Knockdown der Inflammasom-Komponente NLRP3 führte in humanen RPE-Zellen zu einer signifikanten Suppression der

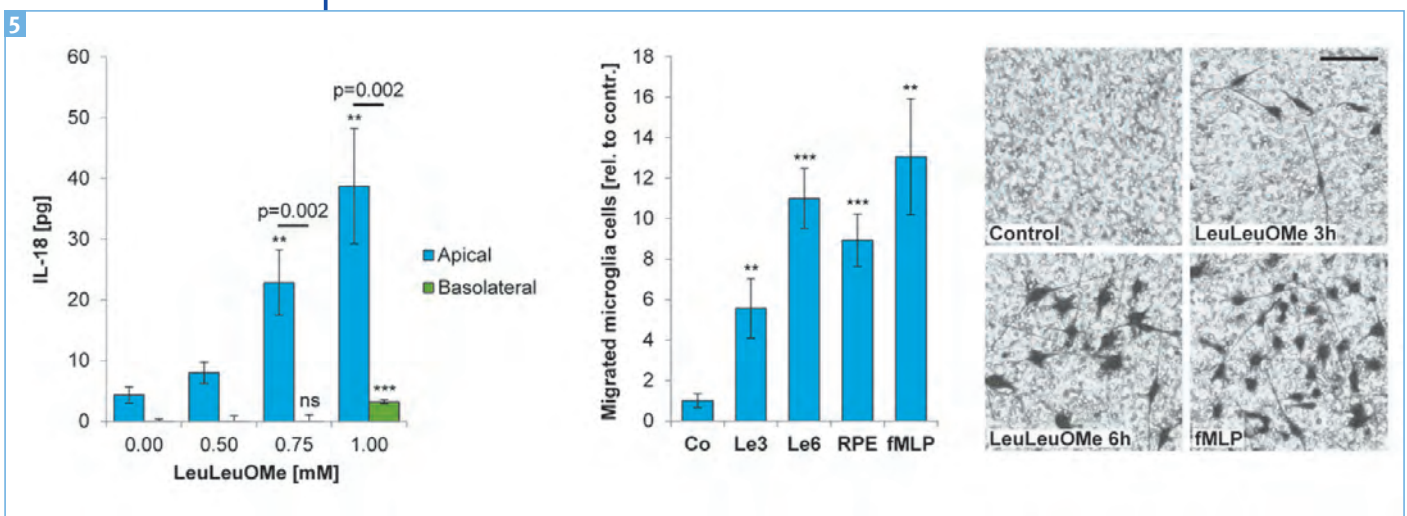


Abbildung 5

■ **Apikale Zytokinsekretion und chemotaktischer Effekt auf Mikrogliazellen.** In polarisierten RPE-Zellkulturen erfolgte die Freisetzung von IL-1 β und IL-18 (dargestellt) fast ausschließlich in apikaler Richtung. In Chemotaxis-Assays bewirkten die von den RPE-Zellen sezernierten Zytokine einen signifikanten Anstieg der gerichteten Migration von Mikrogliazellen. [Abbildung aus: Mohr L. K. M. et al. © Investigate Ophthalmology and Visual Sciences 2015 Oct 1; 56 (11): 6404–13.]

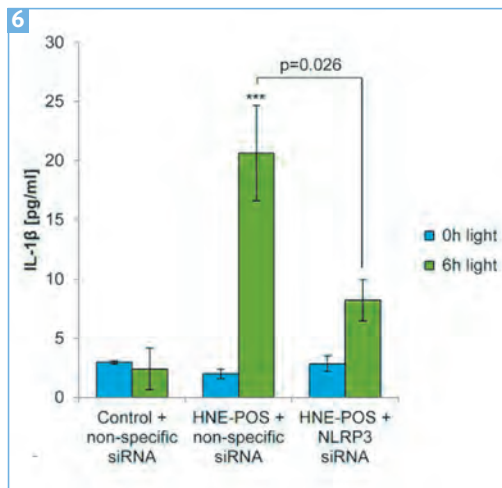


Abbildung 6

■ *SiRNA-Knockdown von NLRP3 in RPE-Zellen. Die Inflammasomaktivierung durch Lipofuscin-Phototoxizität war nach siRNA-Knockdown von NLRP3 signifikant reduziert. [Abbildung aus: Brandstetter C. et al. © Journal of Molecular Medicine 2015 Aug; 93 (8): 905–16.]*

durch Lipofuscin-Phototoxizität induzierten Inflammasomaktivierung (**Abbildung 6**) und bestätigte somit die zentrale Rolle des NLRP3-Subtyps für die Inflammasomaktivierung in RPE-Zellen. Auch in RPE-Organokulturen aus NLRP3-Wildtyp-Mäusen kam es nach Blaulicht-Bestrahlung analog zu unseren Ergebnissen in humanen RPE-Zellen zu einer signifikanten Inflammasom-Aktivierung mit Freisetzung von IL-1 β , die in RPE-Kulturen NLRP3-defizienter Knockout-Mäuse nicht nachweisbar war.

In mehreren auf den dargestellten Ergebnissen aufbauenden Anschlussprojekten sollen die be-

schriebenen Mechanismen der Inflammasomaktivierung in geeigneten in-vivo-Modellen bestätigt und weiter charakterisiert werden. Dafür werden wir u.a. genetische veränderte Mäuse mit verstärkter Lipofuszin-Akkumulation im RPE (*Abca4*^{-/-}) in Kombination mit dem Mausmodell der Licht-induzierten retinalen Degeneration (LIRD) verwenden. Zudem werden wir mehrere Strategien zur pharmakologischen Intervention u.a. mit spezifischen **NLRP3-Inhibitoren** evaluiert. Dafür wurde eine Kollaboration mit verschiedenen Firmen wie der IFM Therapeutics GmbH, Bonn, etabliert, die uns geeignete Substanzen zur präklinischen Testung zur Verfügung stellt. Mittelfristiges Ziel ist die Initiierung einer klinischen Studie bei Patienten mit atrophischer AMD.

LITERATUR

- Brandstetter C., Mohr L.K.M., Latz E., Holz F.G., Krohne T.U. Light induces NLRP3 inflammasome activation in retinal pigment epithelial cells via lipofuscin-mediated photooxidative damage. *J Mol Med* 2015 Aug; 93 (8): 905–16.
- Mohr L.K.M., Hoffmann A.V., Brandstetter C., Holz F.G., Krohne T.U. Effects of inflammasome activation on secretion of inflammatory cytokines and vascular endothelial growth factor by retinal pigment epithelial cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2015 Oct 1; 56 (11): 6404–13.
- Brandstetter C., Holz F.G., Krohne T.U. Complement component C5a primes retinal pigment epithelial cells for inflammasome activation by lipofuscin-mediated photooxidative damage. *J Biol Chem* 2015 Dec 25; 290 (52): 31189–98.
- Brandstetter C., Patt J., Holz F.G., Krohne T.U. Inflammasome priming increases retinal pigment epithelial cell susceptibility to lipofuscin phototoxicity by changing the cell death mechanism from apoptosis to pyroptosis. *J Photochem Photobiol B* 2016 May 21; 161: 177–183.



Prof. Dr. med. Tim U. Krohne ist geschäftsführender Oberarzt und Leiter des molekularbiologischen Forschungslabors der Universitäts-Augenklinik Bonn. Nach seinem Studium an den Universitäten Freiburg, London und Heidelberg absolvierte er seine Weiterbildung an der Universitäts-Augenklinik Bonn und eine zellbiologische Postdoc-Tätigkeit am Scripps Research Institute, La Jolla/Kalifornien. Seine klinischen Schwerpunkte liegen auf Netzhauterkrankungen, vitreoretinaler Chirurgie und Kataraktchirurgie. Seine Forschungstätigkeiten umfassen Pathogenese und Therapie der

altersabhängigen Makuladegeneration, retinale Zellbiologie und Stammzellbiologie.

Prof. Dr. med. Tim U. Krohne
 Universitäts-Augenklinik Bonn
 Ernst-Abbe-Str. 2
 53127 Bonn
 Telefon: 0228/287-19839
 Telefax: 0228/287-11518
 E-Mail: krohne@uni-bonn.de

KONTAKT



Diagnostik und Therapie des Keratokonus – State of the Art

DR. STEFAN J. LANG, PRIV.-DOZ. DR. PHILIP MAIER,
PROF. DR. THOMAS REINHARD

Universitätsklinikum
Freiburg

EINLEITUNG

Der Keratokonus ist mit einer Inzidenz von 1:2000 eine seltene Erkrankung und führt bei betroffenen Patienten zu einer zunehmenden Verdünnung und kegelförmigen Vorwölbung der Hornhaut. Durch die resultierenden Brechkraftveränderungen und Vernarbungen kann im Verlauf der Erkrankung eine Visusminderung auftreten [1]. Der Beginn der Erkrankung liegt typischerweise im zweiten Lebensjahrzehnt und schreitet meist bis zum vierten Lebensjahrzehnt fort [2]. Beim Keratokonus handelt es sich stets um eine beidseitige Erkrankung, wobei die Manifestation zunächst an einem Auge auftreten und die bilaterale Ausprägung stark asymmetrisch sein kann [3]. Die Ursachen des Keratokonus sind multifaktoriell und beinhalten sowohl genetische Faktoren als auch Umwelteinflüsse [4]. Familiäre Häufungen können vorkommen [5, 6]. Bekannte Risikofaktoren für die Entwicklung eines Keratokonus sind eine Trisomie 21, eine atopische Dermatitis und Augenreiben [7–9]. Die atopische Dermatitis hat ebenfalls einen Einfluss auf das Überleben eines Transplantates nach Keratoplastik [10]. In den letzten Jahren gab es auf dem Gebiet des Keratokonus sowohl für die Diagnostik als auch für die Therapie zahlreiche wissenschaftliche Fortschritte. Neue tomographische, bildgebende Verfahren haben einen Einfluss auf die Definition und Diagnosestellung der Erkrankung. Daneben wird die Beurteilung und Vorhersage der Progression des Keratokonus für Therapieentscheidungen im Verlauf der Erkrankung immer wichtiger. Mit dem kornealen Crosslinking steht erstmals eine Therapieoption zum Aufhalten der Progression der Erkrankung zur Verfügung, welche Gegenstand von zahlreichen Studien ist. Dabei gibt es bereits Vorschläge zur Modifikation der ursprünglichen Crosslinking-Methode. Weiterhin werden zur Visus-Rehabilitation bei weit fortgeschrittener Erkrankung die Vorteile lamellärer Techniken der Keratoplastik diskutiert.

DEFINITION

Durch Fortschritte in der computergesteuerten Tomographie der Hornhaut wird der Keratokonus nicht mehr alleine über klinische Zeichen definiert. Die Früherkennung des Keratokonus wird durch neue Untersuchungsverfahren weiter verbessert. Messungen mittels der Scheimpflugmethode und optischer Kohärenztomographie können, im Gegensatz zur Placido-Scheiben-Keratometrie, nicht nur die Vorderfläche der Hornhaut vermessen, sondern auch die Parameter der Hornhautrückfläche und der Hornhautdicke bestimmen. Gerade die Rückflächenbeschaffenheit, wie die »posterior elevation« haben eine hohe Sensitivität bei der Diagnose eines subklinischen Keratokonus [11]. Andere Parameter umfassen die Hornhaut- und Epitheldicke und deren Abweichungen [12].

Die Implementierung von »machine learning« Ansätzen auf die maschinell erfassbaren Parameter soll in Zukunft die Früherkennung des Keratokonus weiter vereinfachen [13].

Die Klassifikation nach Amsler und Krumeich gehört zu den ältesten Klassifikationen, die sich bis heute im klinischen Alltag gehalten hat [1, 3, 14]. Eine mögliche neue Klassifikation stellt das ABCD Grading System dar. Anders als bisherige Klassifikationen berücksichtigt dieses sowohl die Krümmung der Hornhautvorder- und Rückfläche, die dünnste Stelle und den Fernvisus [15].

Nicht nur die Implementierung neuer Parameter und Klassifikationen, auch die fortlaufende Überprüfung und Validierung von klinischen Daten wird zukünftig wichtig sein. Hierzu bietet sich besonders die Nutzung von Routinedaten in Form von Registern an [16, 17].

Im Sinne einer »smart data« Datenbank wurde an der Klinik für Augenheilkunde des Universitätsklinikums Freiburg ein Keratokonusregister etabliert [16, 17], in das bereits 1841 Patienten eingeschlossen werden konnten. Eine erste Auswertung dieses Keratokonusregisters ergab, dass das Patientenalter mit der Schwere der Erkrankung

korreliert. Außerdem zeigte sich ein niedrigerer Anteil weiblicher Patienten in den Gruppen mit manifester Erkrankung im Vergleich zu den Verdachtsfällen [17]. Ziel ist es, die Datenbank kontinuierlich auszubauen und durch die weitere Auswertung der Routinedaten neue Erkenntnisse über den Nutzen und Vorhersagewert von maschineller Diagnostik und neuen Klassifikationen zu gewinnen.

PROGRESSION

Durch die Verfügbarkeit des kornealen Crosslinking ist die frühzeitige Erkennung oder Vorhersage einer Progression des Keratokonus wichtig für die Therapieentscheidung.

Die Beurteilung der Progression ist mittels computergesteuerter Tomographie der Hornhaut möglich und umfasst sowohl die Hornhautvorder- als auch Rückfläche sowie die Hornhautdicke [18]. Aktuell ist jedoch unklar, ab welchen Messwerten tatsächlich eine Veränderung der Hornhautform, also eine Progression, vorliegt. Zumindest bei der Scheimpflug-Tomographie scheint bei Patienten mit einem beginnenden Keratokonus ab einer Veränderung von 1 Dioptrie in K1, K2 oder Kmax tatsächlich eine Progression vorzuliegen [19, 20]. Die Progression einzelner Pentacam Parameter ist abhängig von deren Ausgangsbefund [16].

Wie wichtig eine gute Vorhersage der Progression ist, zeigen die Ergebnisse einer multizentrischen prospektiven Studie zur Effektivität des Crosslinking. In der Placebo Gruppe erfüllten nach 3 Jahren Nachbeobachtung nur 2 von 14 Patienten die Kriterien für eine Progression [21]. Entsprechend sollte die Indikation für ein Crosslinking genau gestellt werden, um in Anbetracht der möglichen Risiken, wie zum Beispiel einem Endothelzellverlust oder einer Keratitis mit Hornhauteinschmelzung, bleibende Schäden für die Patienten zu vermeiden [22, 23].

THERAPIE

Das korneale Crosslinking soll die Progression eines Keratokonus verhindern. Das ursprünglich entwickelte Dresdner Protokoll wurde in mehreren prospektiven Studien untersucht und seine Wirksamkeit nachgewiesen [19, 22–24]. Dieser Effekt

ist in den einzelnen Studien mehr oder weniger stark ausgeprägt.

Ein Cochrane Review von über 670 Studien aus dem Jahr 2015 kam zu dem Schluss, dass die Evidenz für das Crosslinking limitiert ist, aufgrund der wenigen prospektiv untersuchten Patienten und der Art, in welcher die Studien durchgeführt wurden [27].

Unsere Ergebnisse zeigen, dass nach 3 Jahren in der Behandlungsgruppe die maximale Brechkraft um 0,35 (+/-0,58) Dioptrien abnahm, während in der Placebogruppe ein Zunahme um 0,11 (+/-0,61) Dioptrien zu verzeichnen war [21].

Inzwischen stehen mehrere Modifikationen dieses Verfahrens zur Verfügung. Das transepitheliale Crosslinking soll eine Abrasio der Kornea überflüssig machen. Die Ergebnisse der wenigen vergleichenden Studien zeigen zum Teil eine geringere Wirksamkeit im Vergleich zum Dresdner Protokoll [28, 29], andere Studien sehen keinen Unterschied [30]. Eine zweite Modifikation ist das »accelerated« Crosslinking, bei dem durch eine höhere Bestrahlungsintensität eine kürzere Bestrahlungsdauer realisiert werden kann. Auch hier gibt es wenig vergleichende Studien, welche keinen signifikanten Unterschied zwischen dem klassischen und »accelerated« Crosslinking sehen [31, 32].

Wir haben in einer bizenrischen Registerstudie einen relativen Rückgang des Keratokonus als Indikation für eine perforierende Keratoplastik gesehen [33], was auch von anderen Gruppen beobachtet wurde [34, 35]. Ob dies tatsächlich mit der Einführung des Crosslinking zusammenhängt, muss jedoch noch weiter prospektiv untersucht werden.

Die perforierende Keratoplastik (PKP) war viele Jahre die dominierende Transplantationstechnik für Patienten mit Keratokonus. Varianten der Trepanationstechnik umfassen sowohl die Excimerlaser-Trepanation als auch die Femtosekundenlaser-Trepanation [36, 37], wobei die Trepanation mittels Excimer Laser im Gegensatz zum Femtosekundenlaser Vorteile bezüglich des Astigmatismus zu haben scheint [36]. Die refraktiven und visuellen Ergebnisse der Femtosekundenlaser-Trepanation zeigten gegenüber geführten Trepanationssystemen keine deutlichen Vorteile

[38]. Mit Hilfe der DALK (deep anterior lamellar keratoplasty) kann bei der Transplantation die Wirtsdescemetmembran erhalten und somit die Gefahr einer endothelialen Abstoßung vermieden werden [39]. Der Endothelzellverlust ist bei PKP bei Keratokonus im Vergleich zu anderen Indikationen jedoch günstig [40], was diesen Vorteil der DALK relativiert. Ebenso hat auch eine erneute Keratoplastik nach einem Transplantatversagen bei Keratokonus weiterhin eine gute Prognose [41]. Die Ergebnisse einer Meta Analyse von Liu et al. zeigen beim Vergleich von DALK und PKP zwar eine geringere Komplikationsrate nach DALK, die visuellen Ergebnisse jedoch scheinen nach PKP besser zu sein [42].

ZUSAMMENFASSUNG

Die Forschung im Bereich des Keratokonus hat in den letzten Jahren viele spannende Ergebnisse hervorgebracht. Dies beinhaltet neue diagnostische Möglichkeiten wie die Scheimpflug- und optische Kohärenztomographie. Wichtig werden diese zukünftig besonders bei der Beurteilung von subklinischen Fällen und der Vorhersage der Progredienz der Erkrankung sein. Therapiemöglichkeiten wie das korneale Crosslinking sowie Fortschritte bei der Transplantationstechnik haben einen bedeutenden Einfluss auf den langfristigen Erhalt des Sehvermögens der betroffenen Patienten.

LITERATUR

- Krachmer J.H., Feder R.S., Belin M.W. Keratoconus and related noninflammatory corneal thinning disorders. *Surv Ophthalmol.* 1984; 28: 293–322.
- Ertan A., Muftuoglu O. Keratoconus clinical findings according to different age and gender groups. *Cornea.* 2008; 27: 1109–13.
- Rabinowitz Y.S. Keratoconus. *Surv Ophthalmol.* 1998; 42: 297–319.
- Gordon-Shaag A., Millodot M., Shneur E., Liu Y. The Genetic and Environmental Factors for Keratoconus. *Biomed Res Int [Internet].* 2015 [cited 2017 Jul 5]; 2015. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4449900/>
- Shneur E., Millodot M., Blumberg S., Ortenberg I., Behrman S., Gordon-Shaag A. Characteristics of 244 patients with keratoconus seen in an optometric contact lens practice. *Clin Exp Optom.* 2013; 96: 219–24.
- Edwards M., McGhee C.N., Dean S. The genetics of keratoconus. *Clin. Experiment. Ophthalmol.* 2001; 29: 345–51.
- Shapiro M.B., France T.D. The ocular features of Down's syndrome. *Am. J. Ophthalmol.* 1985; 99: 659–63.
- Bawazeer A., Hodge W., Lorimer B. Atopy and keratoconus: a multivariate analysis. *Br J Ophthalmol.* 2000; 84: 834–6.
- Maier P., Lapp T., Reinhard T. [Ocular involvement in atopic dermatitis: Clinical aspects and therapy]. *Ophthalmologe.* 2017; 114: 514–24.
- Reinhard T., Möller M., Sundmacher R. Penetrating keratoplasty in patients with atopic dermatitis with and without systemic cyclosporin A. *Cornea.* 1999; 18: 645–51.
- Fukuda S., Beheregaray S., Hoshi S., Yamanari M., Lim Y., Hiraoka T., et al. Comparison of three-dimensional optical coherence tomography and combining a rotating Scheimpflug camera with a Placido topography system for forme fruste keratoconus diagnosis. *Br J Ophthalmol.* 2013; 97: 1554–9.
- Li Y., Chamberlain W., Tan O., Brass R., Weiss J.L., Huang D. Subclinical keratoconus detection by pattern analysis of corneal and epithelial thickness maps with optical coherence tomography. *J Cataract Refract Surg.* 2016; 42: 284–95.
- Ruiz Hidalgo I., Rozema J.J., Saad A., Gatinel D., Rodriguez P., Zakaria N., et al. Validation of an Objective Keratoconus Detection System Implemented in a Scheimpflug Tomographer and Comparison With Other Methods. *Cornea.* 2017; 36: 689–95.
- Amsler M. Keratocone classique et keratocone fruste; arguments unitaires. *Ophthalmologica.* 1946; 111: 96–101.
- Belin M.W., Duncan J.K. Keratoconus: The ABCD Grading System. *Klin Monbl Augenheilkd.* 2016; 233: 701–7.
- Goebels S., Eppig T., Seitz B., Langenbacher A. [Intra-individual Keratoconus Progression]. *Klin Monbl Augenheilkd.* 2017.
- Lang S.J., Böhringer D., Reinhard T. [Freiburg keratoconus registry : Example of application of smart data for clinical research and initial results]. *Ophthalmologe.* 2016; 113: 457–62.
- Fujimoto H., Maeda N., Shintani A., Nakagawa T., Fuchihata M., Higashiura R., et al. Quantitative Evaluation of the Natural Progression of Keratoconus Using Three-Dimensional Optical Coherence Tomography. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 2016; 57: OCT169-175.
- Flynn T.H., Sharma D.P., Bunce C., Wilkins M.R. Differential precision of corneal Pentacam HR measurements in early and advanced keratoconus. *British Journal of Ophthalmology.* 2016; 100: 1183–7.
- Prakash G., Philip R., Srivastava D., Bacero R. Evaluation of the Robustness of Current Quantitative Criteria for Keratoconus Progression and Corneal Cross-linking. *J Refract Surg.* 2016; 32: 465–72.
- Lang S.J., Messmer E.M., Geerling G., Mackert M.J., Brunner T., Dollak S., et al. Prospective, randomized, double-blind trial to investigate the efficacy and safety of corneal cross-linking to halt the progression of keratoconus. *BMC Ophthalmol.* 2015; 15: 78.
- Lange C., Böhringer D., Reinhard T. Corneal endothelial loss after crosslinking with riboflavin and ultraviolet-A. *Graefes Arch. Clin. Exp. Ophthalmol.* 2012; 250: 1689–91.
- Eberwein P., Auw-Hädrich C., Birnbaum F., Maier P.C., Reinhard T. [Corneal melting after cross-linking and deep lamellar keratoplasty in a keratoconus patient]. *Klin Monbl Augenheilkd.* 2008; 225: 96–8.

24. O'Brart D.P.S., Chan E., Samaras K., Patel P., Shah S.P. A randomised, prospective study to investigate the efficacy of riboflavin/ultraviolet A (370 nm) corneal collagen cross-linkage to halt the progression of keratoconus. *Br J Ophthalmol.* 2011; 95: 1519–24.
25. Wittig-Silva C., Chan E., Islam F.M.A., Wu T., Whiting M., Snibson G.R. A Randomized, Controlled Trial of Corneal Collagen Cross-Linking in Progressive Keratoconus: Three-Year Results. *Ophthalmology.* 2014.
26. Hersh P.S., Greenstein S.A., Fry K.L. Corneal collagen crosslinking for keratoconus and corneal ectasia: One-year results. *J Cataract Refract Surg.* 2011; 37: 149–60.
27. Sykakis E., Karim R., Evans J.R., Bunce C., Amissh-Arthur K.N., Patwary S., et al. Corneal collagen cross-linking for treating keratoconus. *Cochrane Database Syst Rev.* 2015; 3: CD010621.
28. Rush S.W., Rush R.B. Epithelium-off versus transepithelial corneal collagen crosslinking for progressive corneal ectasia: a randomised and controlled trial. *Br J Ophthalmol.* 2017; 101: 503–8.
29. Çerman E., Tokar E., Ozarslan Ozcan D. Transepithelial versus epithelium-off crosslinking in adults with progressive keratoconus. *J Cataract Refract Surg.* 2015; 41: 1416–25.
30. Nawaz S., Gupta S., Gogia V., Sasikala N.K., Panda A. Transepithelial versus conventional corneal collagen crosslinking: A randomized trial in keratoconus. *Oman J Ophthalmol.* 2015; 8: 9–13.
31. Hagem A.M., Thorsrud A., Sandvik G.F., Råen M., Drolsum L. Collagen crosslinking with conventional and accelerated ultraviolet-A irradiation using riboflavin with hydroxypropyl methylcellulose. *J Cataract Refract Surg.* 2017; 43: 511–7.
32. Hashemi H., Fotouhi A., Mirafzab M., Bahramdy H., Seyedian M.A., Amanzadeh K., et al. Short-term comparison of accelerated and standard methods of corneal collagen crosslinking. *J Cataract Refract Surg.* 2015; 41: 533–40.
33. Lang S.J., Bischoff M., Böhlinger D., Seitz B., Reinhard T. Analysis of the changes in keratoplasty indications and preferred techniques. *PLoS ONE.* 2014; 9: e112696.
34. Sandvik G.F., Thorsrud A., Råen M., Østern A.E., Sæthre M., Drolsum L. Does Corneal Collagen Cross-linking Reduce the Need for Keratoplasties in Patients With Keratoconus? *Cornea.* 2015; 34: 991–5.
35. Godefrooij D.A., Gans R., Imhof S.M., Wisse R.P.L. Nationwide reduction in the number of corneal transplants for keratoconus following the implementation of cross-linking. *Acta Ophthalmol.* 2016; 94: 675–8.
36. Seitz B., Szentmáry N., Langenbacher A., Hager T., Viesenz A., Janunts E., et al. [PKP for Keratoconus – From Hand/Motor Trephine to Excimer Laser and Back to Femtosecond Laser]. *Klin Monbl Augenheilkd.* 2016; 233: 727–36.
37. Maier P., Reinhard T. [Keratoplasty: laminate or penetrate? Part 1: penetrating keratoplasty]. *Ophthalmologe.* 2009; 106: 563–569; quiz 570.
38. Daniel M.C., Böhlinger D., Maier P., Eberwein P., Birnbaum F., Reinhard T. Comparison of Long-Term Outcomes of Femtosecond Laser-Assisted Keratoplasty with Conventional Keratoplasty. *Cornea.* 2016; 35: 293–8.
39. Anwar M., Teichmann K.D. Big-bubble technique to bare Descemet's membrane in anterior lamellar keratoplasty. *J Cataract Refract Surg.* 2002; 28: 398–403.
40. Böhlinger D., Böhlinger S., Poxleitner K., Birnbaum F., Schwartzkopf J., Maier P., et al. Long-term graft survival in penetrating keratoplasty: the biexponential model of chronic endothelial cell loss revisited. *Cornea.* 2010; 29: 1113–7.
41. Böhlinger D., Reinhard T. [Prognosis in repeat keratoplasty: per indication analysis in a large monocentric cohort]. *Klin Monbl Augenheilkd.* 2008; 225: 50–6.
42. Liu H., Chen Y., Wang P., Li B., Wang W., Su Y., et al. Efficacy and safety of deep anterior lamellar keratoplasty vs. penetrating keratoplasty for keratoconus: a meta-analysis. *PLoS ONE.* 2015; 10: e0113332.

Dr. Stefan Lang ist Facharzt für Augenheilkunde an der Klinik für Augenheilkunde der Universitätsklinik Freiburg. Er studierte von 2003 bis 2009 Humanmedizin an der Universität Ulm. Danach begann er die Facharztausbildung an der Universitätsklinik Freiburg welche im März 2015 abgeschlossen wurde. Er ist Fellow of the European Board of Ophthalmology. 2011 promovierte Herr Lang zum Thema »Die Wirkung von Ranibizumab (Lucentis) auf die durch Vascular Endothelial Growth Factor induzierte Proliferation und Migration von mikrovaskulären, retinalen Endothelzellen«. Sein aktueller klinischer Forschungsschwerpunkt liegt im Bereich des vorderen Augenabschnittes, der Register- und Versorgungs-

forschung. Neben seiner ärztlichen und wissenschaftlichen Tätigkeit beschäftigt sich Herr Lang seit 2011 insbesondere auch mit Qualitätsmanagement.

Dr. Stefan Lang

Klinik für Augenheilkunde
Universitätsklinikum Freiburg
Breisacher Straße 153
79110 Freiburg
Telefon: 0761 270-40010
Telefax: 0761 270-41271
E-Mail: stefan.lang@uniklinik-freiburg.de



KONTAKT



Wer Profil zeigt, hinterlässt Spuren

Versorgungsforschung in der Augenheilkunde

Seit 2009 setzt sich das Frankfurter Unternehmen 1aMedico gemeinsam mit operativen und konservativen Augenärzten aus ganz Deutschland für eine transparentere und bessere Patientenversorgung in der Augenheilkunde ein.

Die Nachfrage nach operativen augenärztlichen Leistungen ist so hoch wie nie zuvor. Die Kataraktoperation zählt weltweit zu den am häufigsten durchgeführten Standardoperationen. Dennoch gibt es nur wenig Erkenntnis über die Qualität der Versorgung.

Der Grund dafür liegt in der immer noch stark sektoral geprägten Arbeitsweise zwischen den spezialisierten Operationszentren und den konservativtätigen niedergelassenen Augenärzten. Mangelndes Schnittstellen-Management in der ambulanten Patientenversorgung führt dazu, dass alle Beteiligten nur eingeschränkt über Kenntnis der individuellen Ergebnisqualität der Behandlung verfügen.

Ein Projekt zur flächendeckenden Qualitätssicherung in der Kataraktchirurgie, initiiert durch den Systemanbieter 1aMedico, soll alle am Versorgungsprozess Beteiligten dabei unterstützen, ihren optimalen Beitrag in der Patientenversorgung sicherzustellen. Dabei werden alle medizinischen Parameter und Daten zur Patientenzufriedenheit in der ambulanten Kataraktchirurgie durch den Nachbehandler erfasst und von 1aMedico analysiert und ausgewertet. Ziel dieser Langzeituntersuchung ist es, Erfolge und Risiken entlang des gesamten Behandlungspfads unter Alltagsbedingungen zu untersuchen und damit Transparenz über die augenmedizinische Versorgungsqualität in der Bundesrepublik zu schaffen.

Mithilfe dieser Daten ist es möglich, die Operateure objektiv und vollumfänglich über das eigene Operationsergebnis zu informieren und durch Abgleich der Datenbanken in Beziehung zu den Ergebnissen anderer Operationszentren zu setzen. Durch herstellerübergreifende Produktauswertung sollen darüber hinaus Erkenntnisse über die Wirksamkeit, Risiken und Nebenwirkungen eingesetzter Präparate und Medizinprodukte gewonnen werden.

Bisher konnte das auf die Augenheilkunde spezialisierte Unternehmen rund 200 konservativ tätige Augenärzte und 20 spezialisierte Operationszentren gewinnen, die jeden operativen Behandlungsverlauf pre-, intra- und postoperativ auf einen Qualitätssicherungsbogen dokumentieren. Mehr als 63.000 Operationsverläufe und Kontrolluntersuchungen konnten auf diese Weise bereits erhoben und wissenschaftlich ausgewertet werden. Ergebnisse aus der

Untersuchung stellt das Unternehmen regelmäßig auf den wichtigsten ophthalmologischen Kongressen vor.

Teilnehmende Operationszentren erhalten in regelmäßigen Abständen eine Qualitätsanalyse, die die eigenen operativen Ergebnisse anhand verschiedener Qualitätsindikatoren darstellt und mit den Ergebnissen anderer Operationszentren vergleicht. Durch den stetigen Abgleich ist es erstmals möglich, die medizinischen Ergebnisse in Zusammenhang zu allen operationsspezifischen Faktoren zu setzen. Dadurch können sowohl personell und diagnostisch bedingte als auch operationsspezifische Schwachstellen systematisch aufgedeckt und individuelle Gegenmaßnahmen eingeleitet werden. „Die Ergebnisse aus der Untersuchung stellen für unser gesamtes Unternehmen eine wichtige Säule in der Planung, Organisation und Optimierung unserer Patientenversorgung dar“, so der Gründer und Leiter der Augen-Tagesklinik & Laserzentrum Prof. Dr. Matthias Böhnke.

Aufgrund der positiven Resonanz des Kataraktprojekts aufseiten der medizinischen Leistungserbringer als auch der Industrie erweitert 1aMedico das Projekt zur Qualitätssicherung zu Beginn des Jahres auf die Therapie der altersbedingten Makuladegeneration. „Leider fehlt uns bisher noch die nötige Datenmenge. Durch die Analyse des Behandlungspfads in der AMD-Therapie erhoffen wir uns jedoch, in naher Zukunft belastbare Aussagen zur Wirksamkeit der zur Verfügung stehenden Präparate als auch zu Wiederbehandlungsstrategien treffen zu können“, verrät der Leiter der Versorgungsforschung Tibor Haunit.

Seit 2016 entwickelt 1aMedico außerdem eine elektronische Lösung der Datenerhebung. Bereits zehn Institutionen nehmen seit Projektstart Mitte 2017 daran teil. Mehr als 3000 operative Fälle konnten mithilfe der Applikation erhoben und wissenschaftlich ausgewertet werden.

„Durch die Nutzung neuer technischer Möglichkeiten sehen wir die Chance, die gesamte Versorgungsforschung zu professionalisieren und in Istzeit rechts- und datensicher versorgungsrelevante Daten zu erheben und wissenschaftlich auszuwerten“, so der Inhaber und Geschäftsführer der 1aMedico Dominik Haas. „Unsere Kunden und Partner können auf Abweichungen sofort reagieren und den Versorgungsprozess aktiv patientenorientiert gestalten.“

KONTAKT

1aMedico GmbH
Kennedyallee 111
60596 Frankfurt am Main
Tel.: 069 979444-100
Fax: 069 979444-105
info@1amedico.de
www.1amedico.de

Haben Sie etwas für neue Anschaffungen übrig?

Sparen Sie mit dem effizienten elektronischen Warenmanagement der **1a Medico** bis zu 20%* unnötiger Administrations- und Lagerkosten.

1a WAREHOUSE MANAGER

Schonen Sie...

- Ihre **Zeit**, durch Auslagerung der Prüf- und Bezahlvorgänge
- Ihr **Personal**, durch elektronische Produktadministration
- Ihre **räumlichen Ressourcen**, durch herstellerübergreifende Produktversorgung
- Ihren **Geldbeutel**, durch Kennzahl- und Benchmarkanalysen

JETZT informieren!

Kostenfreie und unverbindliche Beratung
069 979 444 140
www.1amedico.de

*Exemplarisch errechneter Wert

FORTSCHRITT IN DER CROSS-LINKING THERAPIE.

AVEDRO KXL® – WELTWEIT FÜHREND IN DER CORNEALEN CROSS-LINKING TECHNOLOGIE FÜR BESCHLEUNIGTES CROSS-LINKING UND LASIK XTRA™.



VIBEX RAPID™
FÜR BESCHLEUNIGTES CROSS-LINKING



VIBEX XTRA™
FÜR LASIK XTRA™



PARACEL™
FÜR TRANSEPIHELIALES CROSS-LINKING

EXKLUSIV
BEI
GEUDER

avedro
KXL®

Geuder®
Precision made in Germany

WWW.GEUDER.DE

Neue diagnostische Methoden und Therapien bei neovaskulären und erblichen Netzhauterkrankungen im (Kleinst-) Kindesalter

UNIV.-PROF. DR. BIRGIT LORENZ, UNIV.-PROF. DR. DR. KNUT STIEGER

Klinik und Poliklinik
für Augenheilkunde
Justus-Liebig-
Universität Gießen

Die Entwicklung neuer experimenteller Therapien basierend auf gen- und zelltherapeutischen Ansätzen für die Behandlung erblicher Netzhautdegenerationen hat in den letzten 10 Jahren erheblich an Bedeutung gewonnen. Die Möglichkeiten, Patienten mit sehr schwachen Sehleistungen zu helfen, bedingen aber auch die Entwicklung neuer Methoden, um die therapeutischen Effekte solcher Therapien zu dokumentieren. Neben der Entwicklung neuer Therapien basierend auf dem *genome editing* liegt ein Schwerpunkt der Forschung der Gießener Universitätsaugenklinik in der Entwicklung von neuen, hochsensitiven Methoden zu Beschreibung der funktionellen und morphologischen Veränderungen bei Kindern mit erblichen Netzhauterkrankungen.

Fortschritte in der Intensivbehandlung von Extremfrühgeborenen führt auch dazu, dass immer leichtere und früher geborene Kinder sehr gute Chancen haben, zu überleben. Damit steigt allerdings auch das Risiko, an einer Frühgeborenenretinopathie (ROP) zu erkranken, die sich zwar häufig unbehindert zurückbildet, in seltenen Fällen aber auch behandlungsbedürftig ist. In den letzten Jahren konnte in einer DFG geförderten Langzeitstudie von ehemals Extremstfrühgeborenen, die im Grundschulalter nochmals untersucht wurden, festgestellt werden, dass es bei einem Teil der Kinder unabhängig von der Schwere der aufgetretenen ROP zu entwicklungsbedingten Veränderungen in der Makula gekommen ist, die wir als *macular developmental arrest* (MDA) definiert haben. Diese morphologischen Veränderungen gehen auch mit spezifischen Funktionsverlusten einher, über die an der Augenklinik in Gießen intensiv geforscht wird (DFG-Lo 457/10) [Bowl 2016 b, c].

DIAGNOSTIK UND THERAPIE ERBLICHER NETZHAUTDEGENERATIONEN

Degenerative Erkrankungen der Stäbchen und Zapfen wurden funktionell klassischerweise mittels Ganzfeld- oder multifokalem ERG, dynamischer Perimetrie (Goldmann Gesichtsfeld), statischer Perimetrie, Dunkeladaptationsmessungen und Farbsinnprüfungen beschrieben. Die aktuellen Entwicklungen in der experimentellen Thera-

pie dieser Erkrankungen machen es notwendig, neue Methoden zu entwickeln, die noch detaillierter die Restfunktionen beschreiben und mögliche Therapieeffekte objektiv dokumentieren. In der klinischen Arbeitsgruppe in Gießen wurde die chromatische Pupillometrie als Methode zur objektiven Darstellung der Restfunktionen von Stäbchen, Zapfen und melanopsinhalten Ganglienzellen (ipRGC = intrinsic photosensitive Retinal Ganglion Cells) entwickelt [Lorenz 2012]. Durch gezielte Stimulierung von Stäbchen (schwaches blaues Licht bei etwa 480 nm), Zapfen (langwelliges rotes Licht bei etwa 640 nm) oder der ipRGC (starkes blaues Licht bei 480 nm, Redilatationskinetik) kann über die Messung des Pupillenlichtreflexes eine Aussage über die Funktion der einzelnen Zellpopulationen getroffen werden.

Das Grundprinzip der unterschiedlichen Empfindlichkeit von Stäbchen und Zapfen für Licht verschiedener Wellenlänge liegt auch der Messung der spektralen Empfindlichkeit zugrunde. Bei diesem psychophysischen Test wird die Lichtwahrnehmungsschwelle in 20 nm Schritten für den gesamten spektral sichtbaren Bereich getestet [Lorenz 2017b]. Dadurch werden die charakteristischen Sensitivitätskurven für Stäbchen (skotopische Bedingungen) und Zapfen (photopische Bedingungen) ermittelt, die bei Patienten deutlich abweichen und einen Aufschluss über die Funktion der Photorezeptorsubpopulationen geben können. Mit diesem Verfahren ist die Testung an definierten Netzhautorten möglich, allerdings ohne Funduskontrolle. Für die Analyse therapeutischer Effekte in lokal begrenzten Bereichen der Netzhaut nach Gen- oder Zelltherapie wird momentan ein funduskontrollierter spektraler Sensitivitätstest entwickelt.

Bei der Therapie erblicher Netzhauterkrankungen sind große Fortschritte erzielt worden. Aktuell laufen mehrere klinische Studien für Formen der Leberschen kongenitalen Amaurose (LCA) aufgrund von Mangel an RPE65 oder MERTK, für die Choroïderemie aufgrund von Mutationen im Rep1 Gen, für Achromatopsie, juvenile Retinoschisis, Usher Syndrom und Morbus Stargardt [Bennett 2017]. Alle diese Therapieansätze basieren auf der klassischen Genadditionstherapie, bei der eine korrekte

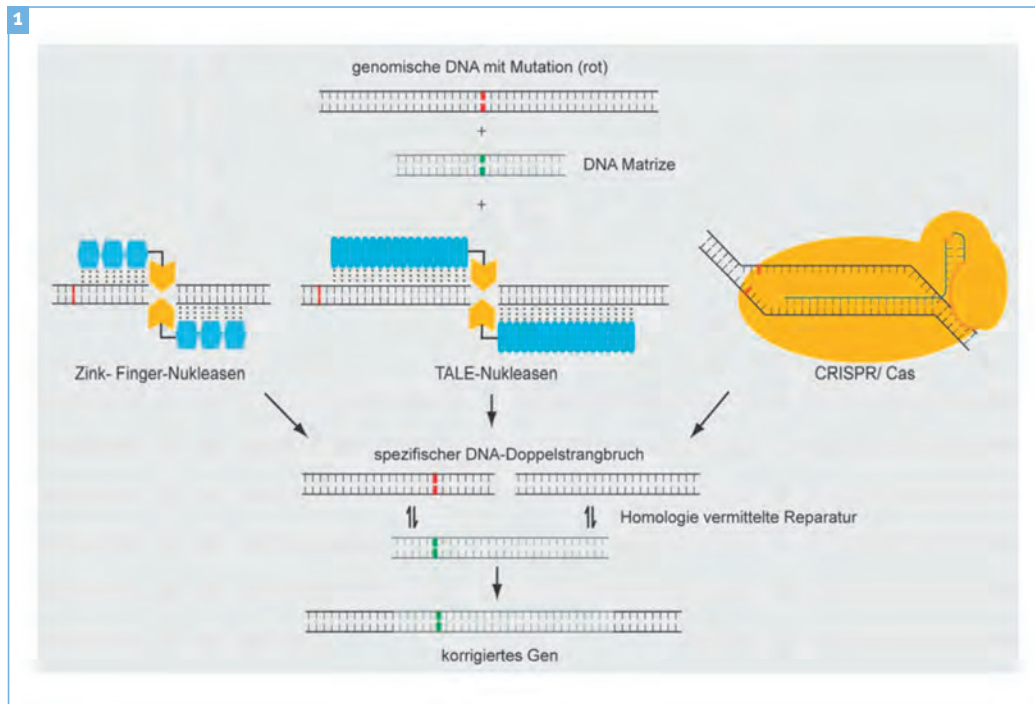


Abbildung 1

■ **Prinzip des genome editing.** Durch einen gezielten DNA-Doppelstrangbruch in der Nähe einer Mutation (rot) kann die Frequenz der homologievermittelten DNA-Reparatur erhöht werden, um die gewünschte DNA-Sequenz (DNA-Matrize) im Genom an der gewünschten Stelle zu integrieren. Zinkfinder- und TALE-Nukleasen sind chimäre Nukleasen mit einem programmierbaren DNA-Bindeprotein, meist in Fusion mit einer unspezifischen Spaltdomäne von FokI. CRISPR/Cas ist ein in Prokaryoten evolviertes System, welches sich über die guide-RNA programmieren lässt [aus Yanik 2016b].

cDNA des mutierten Gens per viralem Vektor in die Zielzellen (RPE oder Photorezeptoren) eingeschleust werden und dadurch das korrekte Protein abgelesen wird. In aktuellen Studien zum Langzeiteffekt solcher Therapien gibt es aber erste Hinweise, dass die Wirkung der Behandlung nach einigen Jahren nachlassen kann, was verschiedenste Gründe haben kann, unter anderem ein Nachlassen der Expression des transgenen Proteins oder ein von vornherein unzureichendes Expressionsniveau.

Um derartige Probleme mit artifiziellen Expressionskassetten zu umgehen, forschen wir in Gießen seit 5 Jahren an einer neuen Methode zur Reparatur krankheitsauslösender Mutationen im Genom, dem sogenannten *genome editing*, finanziert über einen Grant des *European Research Councils* (ERC starting grant #311244). Dem *genome editing* liegt die Beobachtung zugrunde, dass Zellen Doppelstrangbrüche in der DNA durch zelleigene Reparaturmechanismen beheben können und unter Umständen während der Reparatur auch Sequenzinformationen von anderen DNA Strängen mit einbeziehen (**Abb. 1**) [Yanik 2017b]. Durch gezielte Induktion von solchen Brüchen in der Nähe der mutierten Stelle mithilfe von hochspezifischen Endonukleasen wie TALE (transcription activator like effector) Nukleasen oder RNA basierten Systemen (CRISPR/Cas (Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats/CRISPR Associated Systems) plus Bereitstellung einer Reparaturmatrix (template DNA) kann man somit mutierte Bereiche der DNA korrigieren [Yanik 2017a]. Hierbei spielt die Art der Reparaturmatrix eine entscheidende Rolle für die Effektivität der homologievermittelten Reparatur [Song 2017]. Inwiefern dieser Behandlungsansatz auch in Photorezeptoren und RPE Zellen der Netzhaut funktioniert, ist noch we-

nig bekannt, was unter anderem auch am Mangel geeigneter Modellsysteme in vivo liegt. Hier forschen Mitarbeiter der Augenklinik an organotypischen Netzhautkulturen von adulten Maus – und Schweinenetzhäuten, um diese Frage zu klären [Müller 2017]. Dieser Themenkomplex der Diagnostik und Therapie erblicher Netzhautdegenerationen wird ganz aktuell in einem Schwerpunktprogramm der DFG (SPP2127 Gen- und zellbasierte Therapien zur Behandlung neuroretinaler Degeneration) bearbeitet, den die Autoren dieses Artikels koordinieren (separater Bericht in diesem Buch).

FOLGEN DER FRÜHGEBURTlichkeit UND DER VERSCHIEDENEN BEHANDLUNGSMETHODEN BEI AKUTER ROP FÜR DIE ENTWICKLUNG DER NETZHAUT

In einer prospektiven DFG geförderten Kohortenstudie wurden ehemalige Extremfrühgeborene, die im Zeitraum von 2001 und 2007 im Raum Regensburg im Rahmen einer früheren prospektiven DFG-Studie auf das Vorhandensein einer akuten Frühgeborenenretinopathie (ROP) gescreent worden waren, und von denen daher Bildmaterial des Fundus (RetCam II) vorliegt, im Grundschulalter (6–10 Jahre) multimodal mit morphologischen (SD-OCT, Schichtanalyse mit selbst entwickelter Software DIOCTA [Ehnes 2014]) und funktionellen Methoden untersucht. In diese sogenannte *Giessen long-term ROP Study* wurden über 200 Kinder eingeschlossen, die zum Zeitpunkt des screenings entweder keine erkennbare ROP hatten, deren ROP sich spontan zurückbildete, oder die eine behandlungsbedürftige ROP aufwiesen [Bowl 2016b, c]. Der Anteil an Kindern mit behandlungsbedürftiger

2

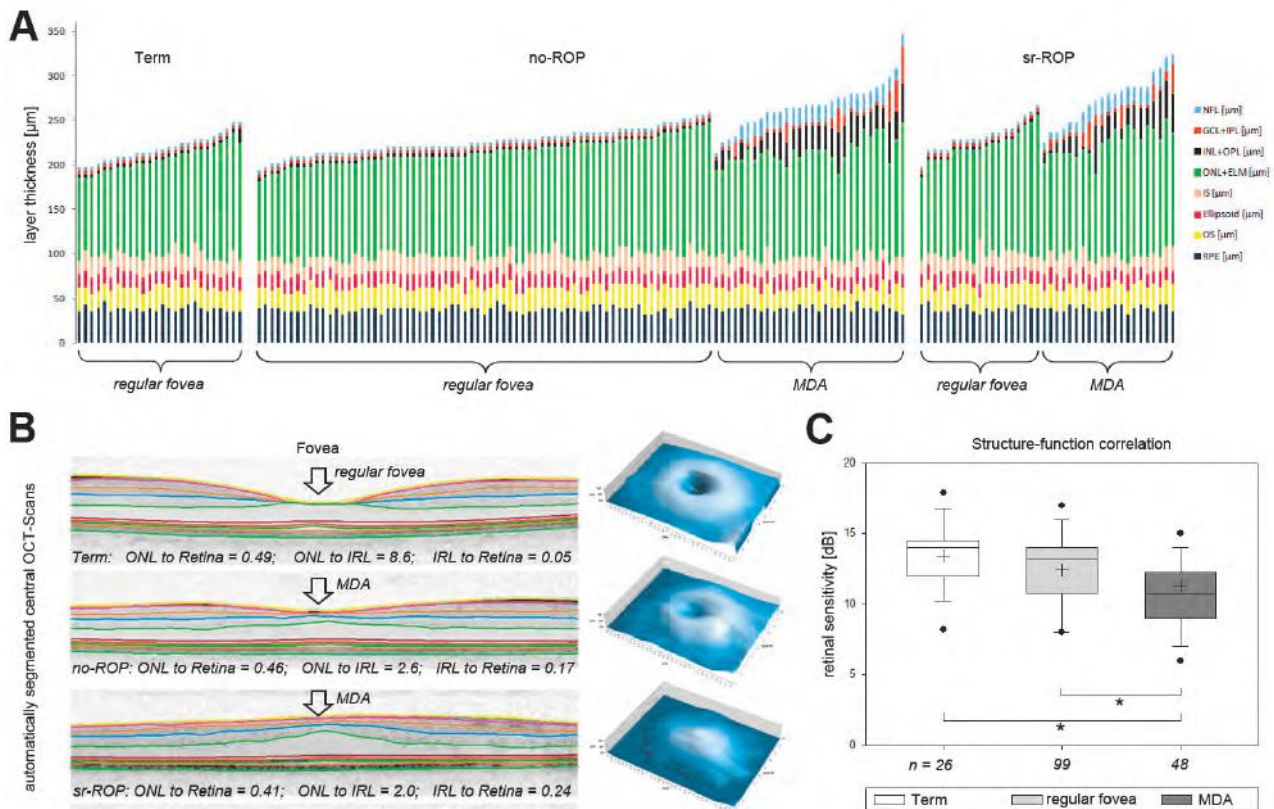


Abbildung 2

■ **Developmental Macular Arrest (MDA).** Struktur-Funktionskorrelation bei MDA. **(A)** Zentrale Dicke der verschiedenen retinalen Schichten gemessen mit einem SD-OCT (Heidelberg Eng.) und segmentiert mit DIOCTA. Jede Box repräsentiert ein Auge eines Kindes, sortiert nach ihrer Zugehörigkeit zu einer der drei Gruppen term (termingeborene Kinder), no-ROP (Frühgeborene ohne ROP) und sr-ROP (spontan zurückgebildete ROP). Innerhalb der Gruppen sind die Kinder sortiert nach der Gesamtnetznadicke und nachrangig auch nach der Summe NFL+GCL+INL. **(B)** Automatisch segmentierte SD-OCT Scans mit Fovea markiert sowie der Ration ONL zu Retina, ONL zu IRL und IRL zu Retina, sowie die 3D Rekonstruktion der fovealen Oberfläche. **(C)** Frühgeborene eingeteilt nach der Ratio IRL zu Retina und verglichen mit termingeborenen Kindern. Signifikante Unterschiede sind dargestellt mit Sternchen [aus Bowl et al 2016c].

ROP wird momentan durch in Gießen ab 2008 behandelte Kinder aufgestockt. Im Rahmen der Analysen der morphologischen und funktionellen Daten der verschiedenen Kohorten konnte eine Entwicklungsstörung der Makula beschrieben werden (MDA), welche vor allem mit sehr niedrigem Geburtsgewicht und -Alter sowie dem Schweregrad der ROP korreliert. Bei der MDA kommt es aufgrund von verbleibenden Schichten der inneren Netzhaut im Bereich der Fovea zu einem veränderten Verhältnis der Schichtdicken innere und äußere Netzhaut zueinander und dadurch zu einer Verkleinerung und vollständigen Abwesenheit der fovealen Einsenkung (**Abb. 2**). Diese morphologischen Veränderungen korrelieren mit funktionellen Veränderungen wie einer reduzierten Lichtwahrnehmungsschwelle [Bowl 2016c] oder einer veränderten Dunkeladaptation.

Um möglichst frühzeitig morphologische Veränderungen wie zum Beispiel zystoide Makulaverände-

rungen bei einer ROP zu erkennen, ist die Untersuchung per SD-OCT im Säuglingsalter sehr wichtig, was aber mit den meisten OCT Geräten für sitzende Personen nicht durchführbar ist. An der Augenklinik in Gießen ist ein handgehaltenes OCT Gerät der Firma Bioptigen etabliert worden, das derartige Untersuchungen erlaubt und somit die diagnostische Lücke für morphologische Veränderungen im Kleinstkindesalter schließt [Bowl 2016a] (**Abb. 3**).

Darüber hinaus wird kontinuierlich untersucht, welche Behandlungsart für die akute ROP am besten geeignet ist beziehungsweise wie das Gefäßsystem der unreifen Netzhaut auf die verschiedenen Behandlungsformen, Laserphotokoagulation oder anti-VEGF Therapie, reagiert [Lorenz 2017a]. Hierbei konnte gezeigt werden, dass das Gefäßsystem nach anti-VEGF Therapie weiter in die Peripherie auswächst und somit ein größerer Bereich der Netzhaut potentiell funktionell bleibt. Allerdings entstehen auch irreguläre Gefäße und

3

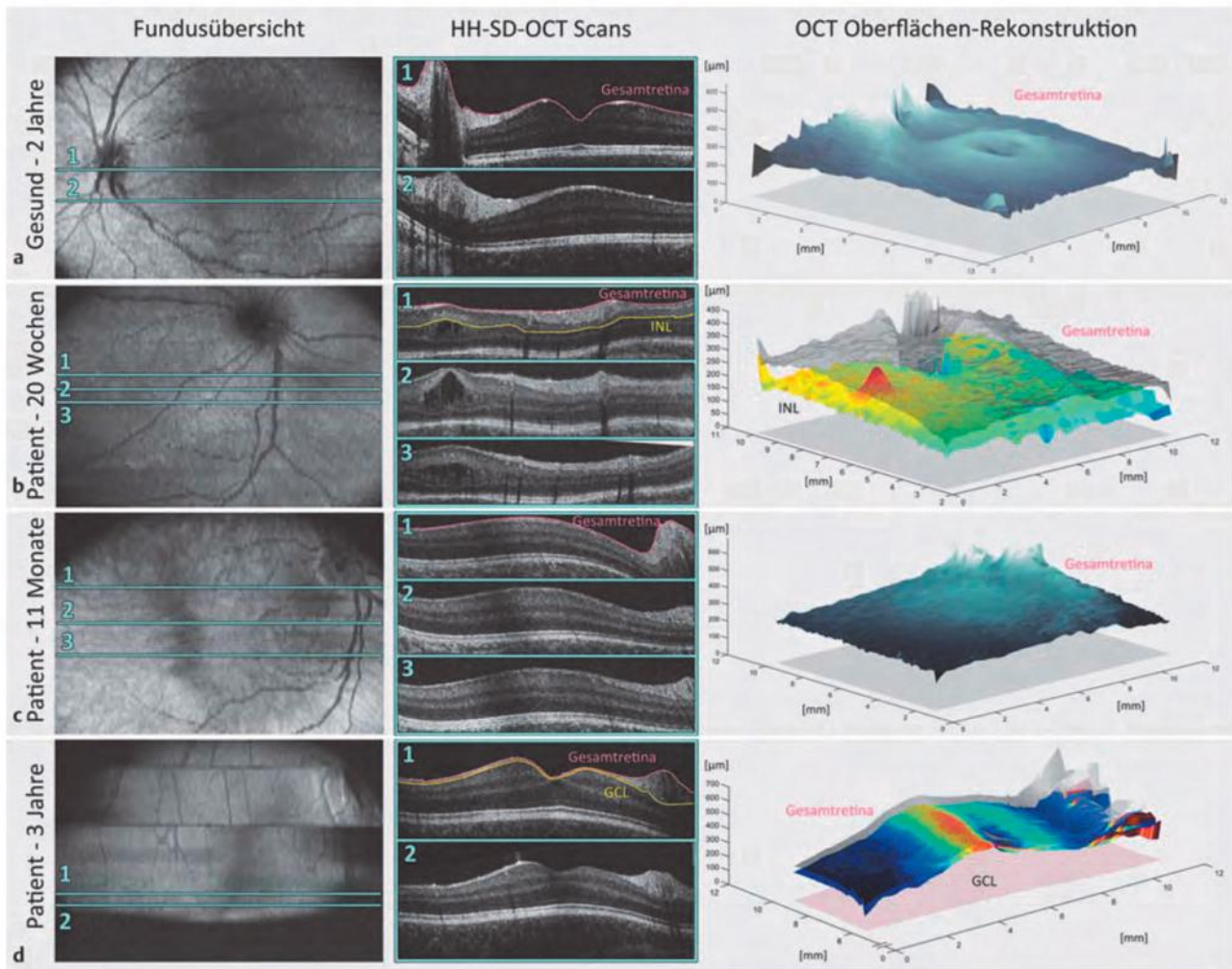


Abbildung 3

■ **Handgehaltenes OCT zur Diagnostik bei Kleinstkindern.** Errechnetes Fundusbild aus Bioptigen-OCT-BScans einer Untersuchung (keine Infrarotaufnahme!). HH-SD-OCT-Scans: Beispielhafte B-Scans aus einer Bioptigen-OCT-Untersuchung. OCT-Oberflächenrekonstruktion: Dreidimensionale Oberflächendarstellung segmentierter Daten mit DiOCTA aus den zur Verfügung stehenden aufeinanderfolgenden B-Scans ohne Fixationsverschiebung. **(a)** Gesundes 2-jähriges Mädchen. **(b)** Frühgeborener der 26.+1. Schwangerschaftswoche (SSW) mit 920 g Geburtsgewicht (GGW) mit residualer ROP nach ROP Stadium III+. In der 20. Lebenswoche war bei der Untersuchung mit dem HH-SD-OCT ein Makulaödem in der inneren Retina zwischen der Henle-Faserschicht und äußeren plexiformen Schicht aufgefallen, welches in der RetCam-Untersuchung nicht nachweisbar war. Dargestellt ist die Oberfläche der inneren nukleären Schicht (INL). **(c)** 11 Monate altes Mädchen mit okulärem Albinismus und grobschlägigem Nystagmus mit niedriger Frequenz und pigmentarmem Fundus. Die foveolare Grube und die typische foveolare OCT-Schichtung konnten im HH-SD-OCT nicht nachgewiesen werden. Stattdessen war im gesamten zentralen peripheren Netzhautpol eine Netzhautschichtung nachweisbar, wie sie für die Netzhautperipherie typisch ist (Makulahypoplasie). **(d)** 3-jähriges Mädchen mit Z.n. Teilresektion eines pilozytischen Astrozytoms (WHO I) im chiasmalen Bereich. Durch Konfrontationsperimetrie und sakkadische Vektorperimetrie konnte eine temporale Hemianopsie des rechten Auges gezeigt werden. Durch Untersuchungen mit dem HH-SD-OCT konnte eine deutliche Verdünnung der Ganglienzellschicht (GCL) der Retina nasal der Foveola dargestellt werden, welche die funktionellen Befunde eindeutig stützte [aus Bowl et al 2016a].

Shunts, deren Signifikanz bei der Entstehung von späten Rezidiven noch geklärt werden muss. Aufgrund der verhältnismäßig kleinen Größe des frühkindlichen Auges und der gestörten Blut-Retina-Schranke wird in Gießen die Hälfte der Erwachsenenendosis (0,312 mg pro Auge) appliziert, was bei ROP Stadium 3+ in posteriorer Zone II in einem

hohen Prozentsatz zum Therapieerfolg führte [Lorenz 2017a].

Der Einfluss der intravitrealen anti-VEGF Injektion auf die Werte der VEGF Level im Blut bei den Extremfrühgeborenen wird aktuell in einem weiteren Teilprojekt untersucht. Hintergrund sind die mög-

lichen Auswirkungen von niedrigen VEGF Spiegel in der Zirkulation auf die Gefäßentwicklung in anderen Organen wie der Lunge, dem Gehirn oder der Leber. Hier konnte gezeigt werden, dass die Werte in Serum und Plasma abfallen, dass aber gerade die Serumwerte aufgrund mangelnder Kontrolle der Koagulation und starker Freisetzung von VEGF aus Thrombozyten nach Blutentnahme nicht für derartige Messungen geeignet sind, die Plasmaswerte von VEGF jedoch häufig unterhalb der Nachweiskurve liegen. Hier muss noch weiter untersucht werden, inwiefern die Methodik der Messung noch weiter optimiert werden kann, um robuste Werte für die Wachstumsfaktoren zu erhalten.

LITERATUR

- Bennett J. (2017) Taking Stock of Retinal Gene Therapy: Looking Back and Moving Forward. *Mol Ther.* 25 (5): 1076–1094.
- Bowl W., Andrassi-Darida M., Holve K., Schweinfurth S., Knobloch R., Lorenz B. (2016a) [Handheld Optical Coherence Tomography in Paediatric Ophthalmology: Experience of the Department of Ophthalmology in Giessen]. *Klin Monbl Augenheilkd.* 233 (10): 1142–1148.
- Bowl W., Lorenz B., Stieger K., Schweinfurth S., Holve K., Friedburg C., Andrassi-Darida M. (2016b) Correlation of central visual function and ROP risk factors in pretermatures with and without acute ROP at the age of 6–13 years: the Giessen long-term ROP study. *Br J Ophthalmol.* 100 (9): 1238–44.
- Bowl W., Lorenz B., Jäger M., Friedburg C. (2013) Improving detection of mild loss of retinal light increment sensitivity at the posterior pole with the microperimeter MPI. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 54 (7): 4666–74.
- Bowl W., Stieger K., Bokun M., Schweinfurth S., Holve K., Andrassi-Darida M., Lorenz B. (2016c) OCT-Based Macular Structure-Function Correlation in Dependence on Birth Weight and Gestational Age—the Giessen Long-Term ROP Study. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 57 (9): OCT235–41.
- Ehnes A., Wenner Y., Friedburg C., Preising M.N., Bowl W., Sekundo W., Zu Bexten E.M., Stieger K., Lorenz B. (2014) Optical Coherence Tomography (OCT) Device Independent Intraretinal Layer Segmentation. *Transl Vis Sci Technol.* 3 (1): 1.
- Lorenz B., Stieger K., Jäger M., Mais C., Stieger S., Andrassi-Darida M. (2017a) RETINAL VASCULAR DEVELOPMENT WITH 0.312 MG INTRAVITREAL BEVACIZUMAB TO TREAT SEVERE POSTERIOR RETINOPATHY OF PREMATURITY: A Longitudinal Fluorescein Angiographic Study. *Retina.* 37 (1): 97–111.
- Lorenz B., Strohmayer E., Zahn S., Friedburg C., Kramer M., Preising M., Stieger K. (2012) Chromatic pupillometry dissects function of the three different light-sensitive retinal cell populations in RPE65 deficiency. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 53 (9): 5641–52.
- Lorenz B., Wegscheider E., Hamel C., Preising M.N., Stieger K. (2017b) Spatially Resolved Spectral Sensitivities as a Potential Read-out Parameter in Clinical Gene Therapeutic Trials. *Ophthalmic Res.* [Epub ahead of print]
- Müller B., Wagner F., Lorenz B., Stieger K. (2017) Organotypic Cultures of Adult Mouse Retina: Morphologic Changes and Gene Expression. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 58 (4): 1930–1940.
- Song F., Stieger K. (2017) Optimizing the DNA Donor Template for Homology-Directed Repair of Double-Strand Breaks. *Mol Ther Nucleic Acids.* 7: 53–60.
- Yanik M., Müller B., Song F., Gall J., Wagner F., Wende W., Lorenz B., Stieger K. (2017a) In vivo genome editing as a potential treatment strategy for inherited retinal dystrophies. *Prog Retin Eye Res.* 56: 1–18.
- Yanik M., Wende W., Stieger K. (2017b) [Genome Editing Tools and their Application in Experimental Ophthalmology]. *Klin Monbl Augenheilkd.* 234 (3): 329–334.

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

Prof. Lorenz wurde mehrfach von der DFG und anderen Förderorganisationen wissenschaftlich gefördert. Sie ist Mitglied in zahlreichen nationalen und internationalen Vereinigungen, unter anderem in der academia ophthalmologica internationalis (AOI) und der european academy of ophthalmology (EAO). Sie ist Vorstandsmitglied der DOG, sowie Gründungs-

mitglied und Sprecherin der Sektion DOG-Genetik. Sie war Gründungspräsidentin der European Pediatric Ophthalmological Society (EPOS) und von 2002 bis 2010 deren Präsidentin. Seit 2016 ist sie Präsidentin der International Society of Genetic Eye Diseases and Retinoblastoma (ISGEDR). Im Jahr 2012 war Frau Lorenz Visiting Professor am Childrens Hospital der Harvard University. Seit 2017 ist sie Chair für Paediatric Rare Eye Diseases in dem neu gegründeten European Reference Network for Rare Eye Diseases (ERN-Eye). Frau Lorenz ist Gutachterin zahlreicher internationaler Fachzeitschriften und Forschungsförderinstitutionen und Autorin von über 250 peer reviewed Forschungsarbeiten. Seit 2017 ist Frau Lorenz Ko-Koordinatorin des DFG Schwerpunktprogramms SPP2127 »Gen- und zellbasierte Therapien zur Behandlung neuroretinaler Degeneration«.

Univ.-Prof. Dr. med. Birgit Lorenz

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



KONTAKT



Univ.-Prof. Dr. Dr. med. vet. Knut Stieger, Jahrgang 1978, ist Leiter der Arbeitsgruppe Experimentelle Ophthalmologie an der Augenklinik in Gießen. Nach einem Studium der Veterinärmedizin in Leipzig und Forschungsaufenthalten in Philadelphia und Cornell, absolvierte Herr Stieger ein PhD Studium am Gentherapie Labor 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 Europäischen Kommission zur Entwicklung eines neuen Therapieansatzes basierend auf

CRISPR-Cas vermitteltem genome editing zur Behandlung von erblichen Erkrankungen in der Netzhaut. Professor Stieger ist Gründungsmitglied und Sekretär der Sektion DOG Genetik. Er ist Gutachter für zahlreiche Fachzeitschriften und Förderorganisationen und Autor von über 40 peer reviewed Veröffentlichungen. Seit 2017 ist er Koordinator und Sprecher des DFG Schwerpunktprogramms SPP2127 »Gen- und zellbasierte Therapien zur Behandlung neuroretinaler Degeneration«.

Univ.-Prof. 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 985-43888
E-Mail: knut.stieger@uniklinikum-giessen.de



KONTAKT



TRP-Kanäle an der okulären Oberfläche Therapeutische Relevanz?

PRIV.-DOZ. DR. STEFAN MERGLER¹, NINA LJUBUJEVIC¹,
PROF. DR. UWE PLEYER²

1 Augenklinik Charité
Universitätsmedizin
Berlin
Experimentelle
Ophthalmologie

2 Augenklinik Charité
Universitätsmedizin
Berlin

Die Augenoberfläche besteht aus der Hornhaut, der Konjunktiva, dem Limbus sowie den Tränenrüsen und Augenlidern. Die Hornhaut wiederum besteht aus Stroma und den Grenzschichten Epithelium und Endothelium. Die Interaktion und die Erhaltung dieser komplexen und verschiedenen Zellsysteme ermöglichen eine glatte, durchsichtige Hornhaut sowie eine reizfreie Bindehaut. Dabei ist ein stabiler Tränenfilm enorm wichtig und sichert die Funktionalität der Horn- und Bindehaut. Unter diversen Umgebungsbedingungen (Temperatur, Luftfeuchtigkeit u.ä.) kann sich die Sehqualität ändern. Hier spielt die Funktionalität der Augenoberfläche und die Tränenflüssigkeit eine wichtige Rolle.

Erkrankungen der Augenoberfläche sind sehr mannigfaltig. Zahlreiche Ursachen wie z. B. mechanische, thermische oder chemische Verletzungen, vernarbende Erkrankungen, trophische Störungen und Infektionen können zu Erkrankungen führen. Auch Tumore können die Augenoberfläche betreffen. Ein häufiger, gutartiger Tumor ist das **Pterygium conjunctivae**, eine gefäßhaltige Zellwucherung der Bindehaut, die auf die Hornhaut übergreifen kann und Entzündungsreaktionen zeigen kann.

ENTZÜNDUNGEN

Entzündliche Erkrankungen der Augenoberfläche können die Hornhaut (Keratitis) und die Bindehaut (Konjunktivitis), aber auch das Augennere (Uveitis) betreffen. Die *Konjunktivitis sicca* oder das **Trockene Auge** (Syndrom des trockenen Auges) ist eine der häufigsten Erkrankungen in der augenärztlichen Praxis. Typische Symptome des trockenen Auges sind Rötung, Brennen, Stechen und Fremdkörpergefühl, die allgemein durch eine Störung des Tränenfilms verursacht werden. Mehr als 80% des trockenen Auges zeigen auch gleichzeitig Entzündungsreaktionen [4].

PATHOGENESE DES »TROCKENEN AUGES«

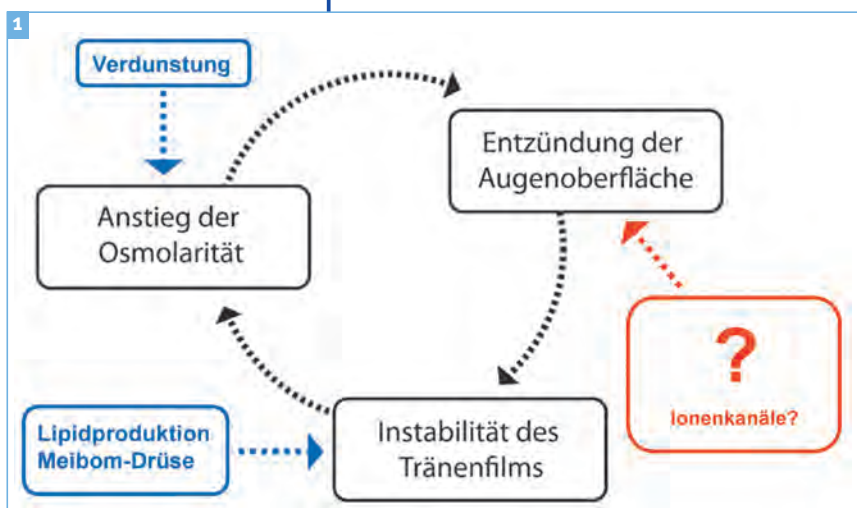
Neben der Instabilität des Tränenfilms und dem Tränenflüssigkeitsmangel mit Anstieg der Osmolarität ist die **Entzündung der Augenoberfläche** ein entscheidender Faktor (**Abb. 1**). Dieser Faktor begünstigt eine autoreaktive Entzündungsreaktion [2]. Außerdem hindern Entzündungsprozesse eine normale neuronale Tränensekretion. Daher ist die **Unterdrückung der Entzündung der Augenoberfläche** bei der Behandlung des trockenen Auges wesentlich. Derzeit ist eine anti-entzündliche Therapie mit topischer Anwendung von Kortikosteroiden oder Cyclosporin-A Augentropfen als Langzeittherapie beim moderaten bis schweren trockenen Auge etabliert [5]. Da die **Hyperosmolarität** des Tränenfilms beim trockenen Auge für die Entwicklung einer Entzündung der Augenoberfläche, der Tränendrüse und des Tränenfilms relevant ist [6, 7], werden auch **Osmoprotektiva** angewandt [7]. Sie können die Oberflächenschädigung durch einen hyperosmolaren Tränenfilm theoretisch vermeiden [7].

FORSCHUNGSANSATZ

Die Ergebnisse aus Untersuchungen in den letzten Jahren in der experimentellen Ophthalmologie an unserer Klinik in Kooperation mit Dr. Peter S. Rei-

Abbildung 1

■ Vereinfachte Darstellung der Pathogenese des trockenen Auges mit drei wichtigen Faktoren (schwarz) und mit exogenen Faktoren (blau und rot). [Modifiziert nach Steven and Cursiefen [2]].



nach (School of Ophthalmology and Optometry, Wenzhou Medical University, China) und Prof. Dr. med. Friedrich Paulsen / Dr. rer. nat. Fabian Garreis (Institut für Anatomie, Universität Erlangen-Nürnberg) sowie Dr. rer. medic. Monika Valtink (Institut für Anatomie, Medizinische Fakultät Carl Gustav Carus, TU Dresden) haben das Wissen um die Rolle und Funktion von TRP-Kanälen (Transient Receptor Potenzial Ionenkanäle) in Bezug auf die Ca^{2+} -Regulation speziell in Schichten der Horn- und Bindehaut erweitert [8–17]. Neben Studien von TRP-Kanälen in Augentumoren wie dem **Retinoblastom** [18], dem **uvealen Melanom** [19] und dem **Pterygium conjunctivae** [3] sind dies initial weltweit die ersten Studien, die überhaupt die funktionelle Expression dieser Kanäle in Horn- und Bindehautzellen nachgewiesen haben [9]. Dabei wurde u.a. die planare Patch-Clamp Technik verwendet, mit der winzige Ionenströme durch einzelne Ionenkanäle in der Zelle gemessen werden können. Daraus können mögliche Ansätze zu einem empfindlichen Vitalitäts- und Funktionstest unter Ausnutzung der elektrophysiologischen Eigenschaften von Hornhautzellen abgeleitet werden [20].

CAPSAICIN-REZEPTOR

Einer dieser **TRP-Kanäle** passte genau auf das gesuchte Profil beim trockenen Auge und zwar der am meisten untersuchte (und bekannteste) TRP-Kanal, der **Capsaicin-Rezeptor** (TRP Vanilloid Rezeptor 1; **TRPV1**; Capsaicin ist z. B. in Chili enthalten). Dieser **TRPV1-Kanal** ist in Zellen der Augenoberfläche exprimiert und kann u.a. durch hyperosmolare Bedingungen, wie sie auch in der Tränenflüssigkeit beim trockenen Auge vorkommen, aktiviert werden [15, 16]. Die erhöhte Expression des TRPV1-Kanals kann auch entzündliche

Prozesse auslösen. Die Expression von TRP-Kanälen ist insbesondere in Tumorzellen des Auges im Vergleich zu gesunden Augenzellen verändert [3, 18, 19]. Speziell konnten wir erstmals zeigen, dass die TRPV1-Kanalaktivität in Zellen von Patienten mit **Pterygium** gegenüber gesunden Bindehautzellen deutlich erhöht ist [3]. Mit diesem Befund lässt sich ein Zusammenhang der Capsaicin-Rezeptor-Aktivität sowohl bei dem Befund des trockenen Auges als auch bei Patienten mit **Pterygium conjunctiva** erklären [21]. Ziel ist die Entwicklung einer differenzierten Stufenplanbehandlung des trockenen Auges bei der bestimmte Substanzen selektiv eingesetzt werden können. Diese sollen die Aktivität des TRPV1-Kanals bzw. die Zytokinfreisetzung reduzieren und damit auch zu einer Hemmung der entzündlichen Prozesse wie beim Trockenen Auge führen.

ENTZÜNDUNGSINHIBITION

Insgesamt konnten drei Wirkmechanismen gefunden werden, die alle auf verschiedenen Wegen zu einer Unterdrückung der TRPV1-Kanalaktivität und zu einer Reduzierung der Zytokinfreisetzung (IL-6 und IL-8) führten. Dies kann zu einer Unterdrückung von Entzündungen in Horn- und Bindehautzellen führen:

1. Applikation von **L-Carnitin**, das Bestandteil von Osmoprotektiva ist [22].
2. Aktivierung von **Cannabinoid Rezeptor 1** (CB1) als G-Protein-gekoppelter Rezeptor (GPCR) [23].
3. Applikation mit **Thyronaminen** ($3-T_1AM$) (Kooperation mit Prof. Josef Köhrle, Experimentelle Endokrinologie, Charité Campus Virchow-Klinikum) (Abb. 2) [24, 25].

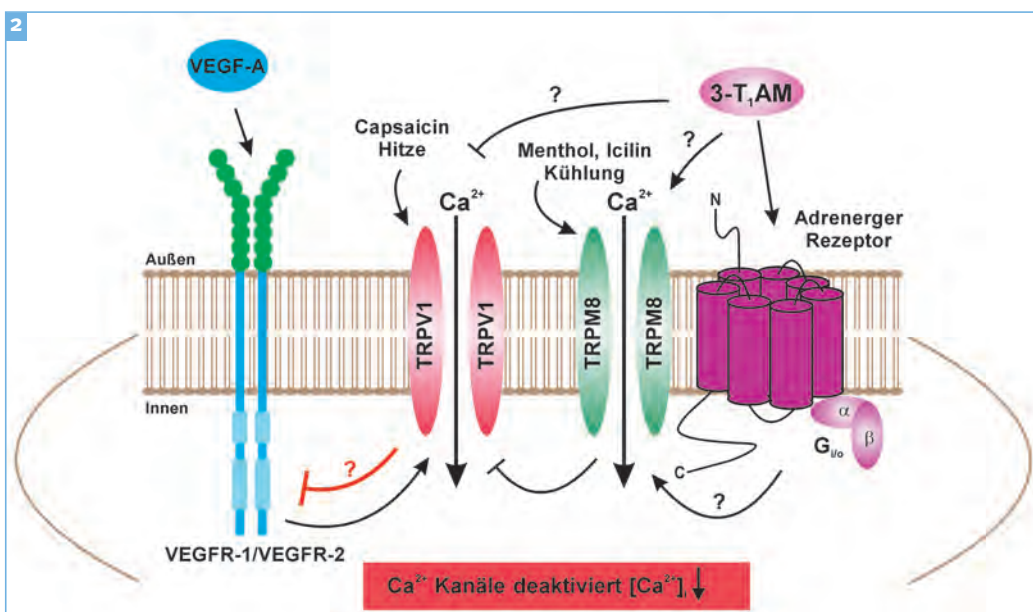


Abbildung 2

■ Möglicher Ca^{2+} Signalweg aktiviert durch das Schilddrüsenhormonderivat $3-T_1AM$. Ca^{2+} Kanäle wie z. B. TRP-Kanäle des TRPV1 Subtyps (Capsaicinrezeptor) können durch Capsaicin oder Hitze ($> 43^\circ C$) aktiviert werden. TRP-Kanäle des TRPM8 Subtyps (Mentholrezeptor) können dagegen über Menthol oder moderate Kühlung ($< 28^\circ C$) aktiviert werden. Adrenerge Rezeptoren sind an G-Proteinen gekoppelt und können über $3-T_1AM$ aktiviert werden [1]. Neuere Untersuchungen deuten auf eine Assoziation zwischen VEGF-Rezeptoren und TRPV1 Kanälen hin [3]. [Zeichnung S. Mergler]

KLINISCHE RELEVANZ

Mit den Erkenntnissen aus der Pathogenese des trockenen Auges konnte erstmals nicht nur der lindernde Effekt von einer in Osmoprotektiva befindlichen Substanz wie dem L-Carnitin in Verbindung mit dem TRPV1-Kanal erklärt werden [22, 26–28]. Auch mit Hilfe der neuen Erkenntnisse der Wirkmechanismen über den Cannabinoid Rezeptor 1 und den Thyronaminen (3-T₁AM) könnten neue Therapieansätze für die Behandlung des trockenen Auges entwickelt werden, um damit die Oberflächenschädigung durch einen hyperosmolaren Tränenfilm und entzündliche Vorgänge auf der Augenoberfläche zu reduzieren [24, 25]. Durch die selektive Unterdrückung des TRPV1-Ionenkanals und Aktivierung des TRPM8 Kanals könnten darüber hinaus auch Nebenwirkungen verringert werden, die bei der Anwendung von entzündungshemmenden Medikamenten (z.B. Kortikosteroide bei der Behandlung von moderaten bis schweren trockenen Augen) entstehen können [10, 11].

LITERATUR

- Dinter J., Khajavi N., Muhlhaus J., Wienchol C.L., Coster M., Hermsdorf T., Stauber C., Kohrle J., Schoneberg T., Kleinau G., Mergler S., Biebermann H. The Multitarget Ligand 3-Iodothyronamine Modulates beta-Adrenergic Receptor 2 Signaling. *Eur Thyroid J* 2015; 4: 21–29.
- Steven P, Cursiefen C. [Anti-inflammatory treatment in dry eye disease]. *Klin Monbl Augenheilkd* 2012; 229: 500–505.
- Garreis F., Schroder A., Reinach P.S., Zoll S., Khajavi N., Dhandapani P., Lucius A., Pleyer U., Paulsen F., Mergler S. Upregulation of Transient Receptor Potential Vanilloid Type-1 Channel Activity and Ca²⁺ Influx Dysfunction in Human Pterygial Cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2016; 57: 2564–2577.
- Baudouin C. The pathology of dry eye. *Surv Ophthalmol* 2001; 45 Suppl 2: S211–220.
- Messmer E.M. The pathophysiology, diagnosis, and treatment of dry eye disease. *Dtsch Arztebl Int* 2015; 112: 71–81; quiz 82.
- Baudouin C., Aragona P., Messmer E.M., Tomlinson A., Calonge M., Boboridis K.G., Akova Y.A., Geerling G., Labetoulle M., Rolando M. Role of hyperosmolarity in the pathogenesis and management of dry eye disease: proceedings of the OCEAN group meeting. *OculSurf* 2013; 11: 246–258.
- Messmer E.M. [Osmoprotection as a new therapeutic principle]. *Ophthalmologie* 2007; 104: 987–990.
- Mergler S., Pleyer U. The human corneal endothelium: New insights into electrophysiology and ion channels. *Progress in Retinal Eye Research* 2007; 26: 359–378.
- Mergler S., Valtink M., Takayoshi S., Okada Y., Miyajima M., Saika S., Reinach P.S. Temperature-sensitive transient receptor potential channels in corneal tissue layers and cells. *Ophthalmic Res* 2014; 52: 151–159.
- Reinach P.S., Chen W., Mergler S. Polymodal roles of transient receptor potential channels in the control of ocular function. *Eye Vis (Lond)* 2015; 2: 5.
- Reinach P.S., Mergler S., Okada Y., Saika S. Ocular transient receptor potential channel function in health and disease. *BMC Ophthalmol* 2015; 15 Suppl 1: 153.
- Mergler S., Valtink M., Coulson-Thomas V.J., Lindemann D., Reinach P.S., Engelmann K., Pleyer U. TRPV channels mediate temperature-sensing in human corneal endothelial cells. *Exp Eye Res* 2010; 90: 758–770.
- Mergler S., Valtink M., Taetz K., Sahlmuller M., Fels G., Reinach P.S., Engelmann K., Pleyer U. Characterization of transient receptor potential vanilloid channel 4 (TRPV4) in human corneal endothelial cells. *Exp Eye Res* 2011; 93: 710–719.
- Mergler S., Mertens C., Valtink M., Reinach P.S., Szekely V.C., Slavi N., Garreis F., Abdelmessih S., Turker E., Fels G., Pleyer U. Functional significance of thermosensitive transient receptor potential melastatin channel 8 (TRPM8) expression in immortalized human corneal endothelial cells. *Exp Eye Res* 2013; 116: 337–349.
- Mergler S., Garreis F., Sahlmuller M., Reinach P.S., Paulsen F., Pleyer U. Thermosensitive transient receptor potential channels in human corneal epithelial cells. *J Cell Physiol* 2011; 226: 1828–1842.
- Mergler S., Garreis F., Sahlmuller M., Lyras E.M., Reinach P.S., Dwarakanath A., Paulsen F., Pleyer U. Calcium regulation by thermo- and osmosensing transient receptor potential vanilloid channels (TRPVs) in human conjunctival epithelial cells. *Histochem Cell Biol* 2012; 137: 743–761.
- Yang Y., Yang H., Wang Z., Mergler S., Wolosin J.M., Reinach P.S. Functional TRPV1 expression in human corneal fibroblasts. *Exp Eye Res* 2013; 107: 121–129.
- Mergler S., Cheng Y., Skosyrsky S., Garreis F., Pietrzak P., Kociok N., Dwarakanath A., Reinach P.S., Kakkassery V. Altered calcium regulation by thermo-sensitive transient receptor potential channels in etoposide-resistant WERI-Rb1 retinoblastoma cells. *Exp Eye Res* 2012; 94: 157–173.
- Mergler S., Derckx R., Reinach P.S., Garreis F., Bohm A., Schmelzer L., Skosyrski S., Ramesh N., Abdelmessih S., Polat O.K., Khajavi N., Riechardt A.I. Calcium regulation by temperature-sensitive transient receptor potential channels in human uveal melanoma cells. *Cell Signal* 2014; 26: 56–69.
- Mergler S., Pleyer U. [Physiology of the Human Corneal Endothelium - New Insights from Electrophysiological Investigations]. *Klin Monatsbl Augenheilkd* 2011.
- Hashemi H., Khabazkhoob M., Kheirkhah A., Emamian M.H., Mehravaran S., Shariati M., Fotouhi A. Prevalence of dry eye syndrome in an adult population. *Clin Experiment Ophthalmol* 2014; 42: 242–248.
- Khajavi N., Reinach P.S., Skrzybski M., Lude A., Mergler S. L-Carnitine Reduces in Human Conjunctival Epithelial Cells Hypertonic-Induced Shrinkage through Interacting with TRPV1 Channels. *Cell Physiol Biochem* 2014; 34: 790–803.
- Yang Y., Yang H., Wang Z., Varadaraj K., Kumari S.S., Mergler S., Okada Y., Saika S., Kingsley P.J., Marnett L.J., Reinach P.S. Cannabinoid receptor 1 suppresses transient receptor potential vanilloid 1-induced inflammatory

- responses to corneal injury. *Cell Signal* 2013; 25: 501–511.
24. Lucius A., Khajavi N., Reinach P.S., Kohrle J., Dhandapani P., Huimann P., Ljubojevic N., Grotzinger C., Mergler S. 3-Iodothyronamine increases transient receptor potential melastatin channel 8 (TRPM8) activity in immortalized human corneal epithelial cells. *Cell Signal* 2015; 28: 136–147.
 25. Khajavi N., Reinach P.S., Slavi N., Skrzypski M., Lucius A., Strauss O., Kohrle J., Mergler S. Thyronamine induces TRPM8 channel activation in human conjunctival epithelial cells. *Cell Signal* 2015; 27: 315–325.
 26. Corrales R.M., Luo L., Chang E.Y., Pflugfelder S.C. Effects of osmoprotectants on hyperosmolar stress in cultured human corneal epithelial cells. *Cornea* 2008; 27: 574–579.
 27. Shamsi F.A., Chaudhry I.A., Boulton M.E., Al-Rajhi A.A. L-carnitine protects human retinal pigment epithelial cells from oxidative damage. *CurrEye Res* 2007; 32: 575–584.
 28. Chen W., Zhang X., Li J., Wang Y., Chen Q., Hou C., Garrett Q. Efficacy of osmoprotectants on prevention and treatment of murine dry eye. *Invest OphthalmolVisSci* 2013; 54: 6287–6297.

PD Dr. phil. nat. Stefan Mergler ist wissenschaftlicher Mitarbeiter an der Klinik für Augenheilkunde der Charité Universitätsmedizin Berlin. Er studierte experimentelle Physik und Zellbiologie an der Johann-Wolfgang Goethe Universität Frankfurt am Main, mit Abschluss Diplom in Physik und Diplom in Biologie. Am Institut für Zellbiologie und Neurowissenschaften der Johann-Wolfgang Goethe Universität bei Prof. Dr. Bereiter-Hahn und am Institut für Klinische Physiologie am Fachbereich Medizin der Freien Universität Berlin bei Prof. Dr. Michael Wiederholt promovierte er zum Dr. phil. nat. Er habilitierte 2015 an der Klinik für Augenheilkunde der Universitätsmedizin Charité Berlin (Leitung Prof. Dr. Antonia Jousen) und erhielt die *venia legendi* für das Fach Experimentelle Ophthalmologie. Der wissenschaftliche Fokus liegt auf dem Gebiet der Erforschung von Ionenkanälen an der okulären Oberfläche.



PD Dr. Stefan Mergler

Augenklinik Charité
 Universitätsmedizin Berlin
 Experimentelle Ophthalmologie
 Campus Virchow-Klinikum (CVK)
 Augustenburger Platz 1
 13353 Berlin

KONTAKT





iOCT geführte roboter-assistierte Mikrochirurgie, eine zukünftige Möglichkeit für subretinale Eingriffe.

DR. ING. ALI NASSERI, DR. DANIEL ZAPP, DR. MINGCHUAN ZHOU,
 PROF. DR. MATHIAS MAIER, DR. SABRINA BOHNACKER,
 PROF. DR. MED. DR. CHRIS P. LOHMANN

**Klinik und Poliklinik
für Augenheilkunde**
 Klinikum rechts der Isar
 Technische Universität
 München

Einige der innovativsten Entwicklungen der Augen Chirurgie fanden die letzten Jahre auf dem Gebiet der Roboter-gestützten Chirurgie statt. Dies betraf vor allem Verfeinerungen der Technologie in den Bereichen der Künstlichen Intelligenz, klinischer Sicherheit und der kontinuierlichen Miniarisierung der einzelnen Roboter-Komponenten. Vor allem die neuen Möglichkeiten der erweiterten Realität (Augmented Reality, AR) und neuer Visualisierungs-Technologien wie der intraoperativen OCT ebnet den Robotersystemen neue Wege. Darüber hinaus sind Roboter in der Lage, gegebene physiologische Grenzen des Chirurgen wie Handtremor oder die begrenzte intraokulare Sinnesrückmeldung während eines Eingriffs zu überwinden. Daher bietet sich der unterstützende Einsatz des Roboters vor allem bei weniger erfahrenen Chirurgen, sowie bei sehr komplizierten Eingriffen im anterioren und posterioren Abschnitt an.

Die Roboter-unterstützte Augen Chirurgie wurde zum ersten Mal in der Behandlung der Zentralvenenthrombose (eng.: CRVO) eingesetzt und wird aktuell aktiv von einigen internationalen Forschungsteams weiterentwickelt. Den Pionier unter den Forschungsteams stellt das Team der Johns Hopkins Universität mit ihrer Arbeit an einem Anti-Tremor-Roboter. Aktuell arbeiten sie an seiner Weiterentwicklung und führen bereits erste Machbarkeitsstudien durch [1].

Die Carnegie Mellon Universität entwickelt parallel ein Handstück, welches den Handtremor erkennt und aktiv gegensteuert. Das »Micron« System verwendet winzige in das Handstück integrierte Servomotoren, um die Bewegungen des Chirurgen aktiv zu steuern [2].

Das Forscherteam an der ETH Zürich verfolgt den alternativen Ansatz eines mobilen Mikroroboters, welcher direkt in den Glaskörper injiziert wird. Anschließend wird er mit Hilfe eines Magnetfeldes, welches durch multiple um den Kopf des Patienten arrangierte Elektromagnete generiert und manipuliert wird, gesteuert. Dabei ist der Roboter in der Lage, sogar Injektionen in Netzhautgefäße durchzuführen [3].

Des Weiteren sind auch Forscher der TU Eindhoven mit einem eigenen Spin-Off Unternehmen auf diesem Feld aktiv. Am 12. September 2016 führten sie mit Hilfe ihres Systems das allererste roboter-gestützte ILM-Peeling durch. [Voller Artikel: <http://www.preceyes.nl/wp-content/uploads/2016/09/160912-press-release-Preceyes-enables-world-first-robot-assisted-eye-surgery.pdf>]

Einem Forscherteam der KU Leuven in Belgien gelang anschließend am 26. Januar 2017 die erste Roboter-gestützte Injektion an einem Patienten mit Netzhautvenenverschluss. [Voller Artikel: <https://nieuws.kuleuven.be/en/content/2017/surgical-eye-robot-performs-precision-injection-in-patient-with-retinal-vein-occlusion>]

Als das in diesem Bereich in Deutschland führende Forschungsteam haben wir mit einem multidisziplinären Team der Fachbereiche Robotik, Medizinischer Bildverarbeitung, sowie der Ophthalmologie der Technischen Universität München (TUM) am Klinikum rechts der Isar bereits 2011 begonnen. Seit 2015 entwickeln wir gemeinsam mit dem intraoperativen OCT Entwicklerteam der Fa. Carl Zeiss AG ein eigenes roboter-geführtes System für ophthalmologische Eingriffe. Dabei ist

Abbildung 1

■ Aktuell entwickeln einige Teams weltweit an Roboter für den Einsatz im Bereich der Augen Chirurgie. Von rechts nach links: Mikro Roboter entwickelt an der ETH; Roboter-System der KU Lueven; Roboter-System der TU/e und das System der JHU.

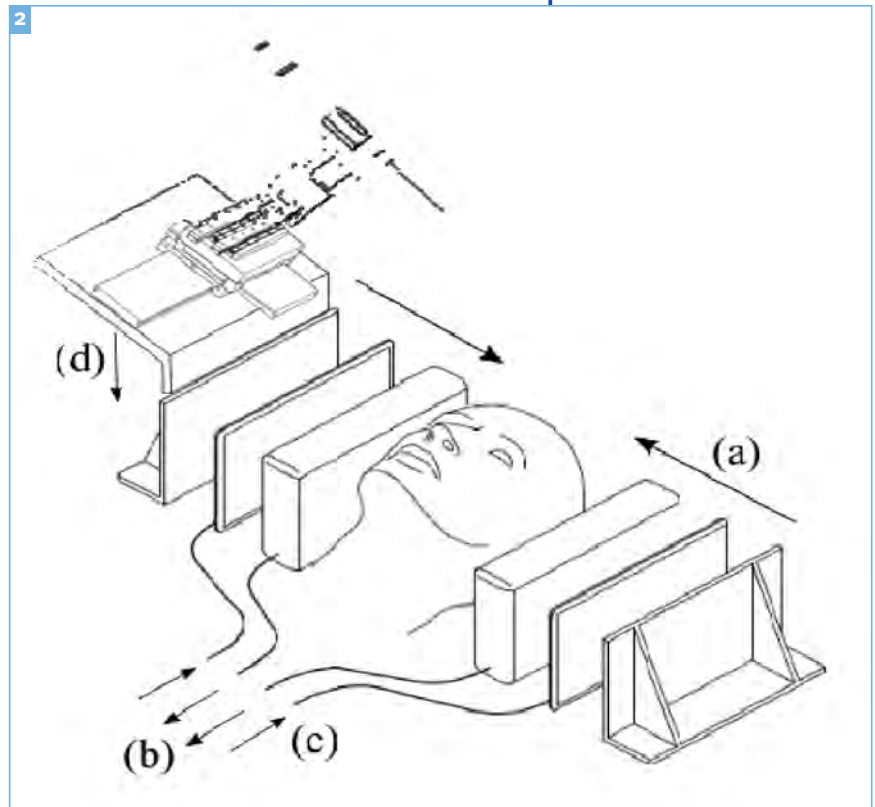


das Ziel die Entwicklung eines Systems, dass das intraoperative OCT in die Steuerung eines roboterbetriebenen Mikromanipulators integriert. Gleichzeitig soll das System in der Lage sein, auch verschiedene konventionelle chirurgische Werkzeuge alternierend zu gebrauchen. Das System besteht aus:

- 1) einem robotergesteuerten Mikromanipulator,
- 2) einer innovativen Patientenfixierung,
- 3) einem Userinterface,
- 4) einer Mikroskop-Schnittstelle und
- 5) einem chirurgischen Steuergerät.

1) ROBOTER-MIKROMANIPULATOR

Nach einigen Jahren intensiver Forschung und mehreren Prototypen ist es uns gelungen, ein neuartiges und kompaktes Design für das System zu entwickeln. Der aktuelle Mikromanipulator ist in etwa so groß wie eine durchschnittliche menschliche Hand und wiegt ca. 350 g. Diese Größe erlaubt es, die Beeinträchtigung des Operationsfeldes zu minimieren und damit die klinische Verwendbarkeit zu optimieren. Die Präzision der Bewegungen des Roboters liegt bei ca. 10 µm, wobei der Vorschub in axialer Z-Richtung mit nur rund 5 µm nochmals feinere Abstufungen erlaubt. Das System kann dabei frei an die Position der Trokare angepasst werden und bietet anschließend fünf entkoppelte Freiheitsgrade für die intraokulare Bewegung. Dadurch kann der Roboter alle Bewegungen eines menschlichen Augenchirurgen imitieren. Außerdem ist das System variabel in der Lage, gängige chirurgische Werkzeuge wie zum Beispiel Mikrokanülen, Zangen, Lasersonden und vieles mehr intraokular zu führen [4].



2) PATIENTEN FIXATEUR

Ein weiterer Bestandteil des Systems ist der Fixateur für den Kopf des Patienten. Dieser Fixateur dient der optimalen, zugleich jedoch nicht-invasiven Stabilisierung des Patientenkopfes für die Dauer der Operation. Er wurde eigens entwickelt, um versehentliche und unvermeidbare Kopfbewegungen des Patienten zu verhindern bzw. bestmöglich zu reduzieren. Der Fixateur wurde auf eine Art und Weise entworfen, dass eine Anbringung des Roboterbetriebenen Mikromanipulators möglich ist. Die Anwendung des Fixations-Systems (**Abbildung 2** und **Abbildung 3**) erfolgt in drei intuitiven Schritten:

- a) Der Kopf des Patienten wird innerhalb des Fixateurs platziert und zwischen den flexiblen Seitenteilen locker eingespannt.

Abbildung 2

■ Mechanismus zum fixieren des Patienten.

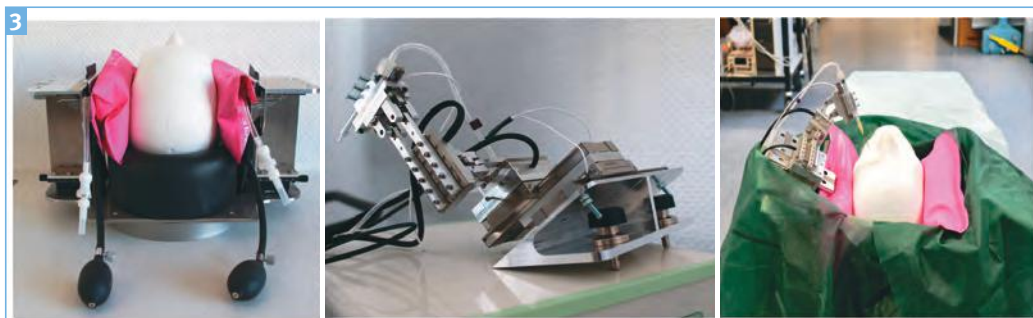


Abbildung 3

■ Unser aktuelles System. Von rechts nach links: Das komplette Roboter-System; Mikromanipulator mit 5 Freiheitsgraden; und die Fixierung für den Kopf des Patienten, befestigt an einem herkömmlichen Operationstischs.

- b) Durch Vakuumieren der weichen Verbindungsteile passen sich diese an die individuelle Anatomie des jeweiligen Patientenkopfes an.
- c) Durch das anschließende Aufpumpen eines weiteren Zwischenpolsters wird der Fixateur feinjustiert und der Kopf final arretiert.
- d) Anschließend kann der Mikromanipulator an dem Fixateur angebracht werden.

operativen Bilder vorab zu planen. Sowohl die OCT, als auch optische Bilder des Mikroskops können von dem Chirurgen genutzt werden, um den operativen Eingriff zu optimieren. In der operativen Planung kann u.a. das Zielgebiet, die gewünschte Orientierung und Position des Roboters, sowie definitive No-Go-Zonen vorab festgelegt werden. Diese Informationen werden vom System während des Eingriffs kontinuierlich abgeglichen und berücksichtigt.

Abbildung 4

■ Unser User-Interface, auf welchem der Chirurg Stellen markieren kann um die präoperativen OCT Bilder mit den intra-operativen Bildern, sowie mit den en-face Bildern des Mikroskops, zu registrieren. Dadurch ist es ihm möglich eine bildgestützte Operation durchzuführen.

3) USER INTERFACE

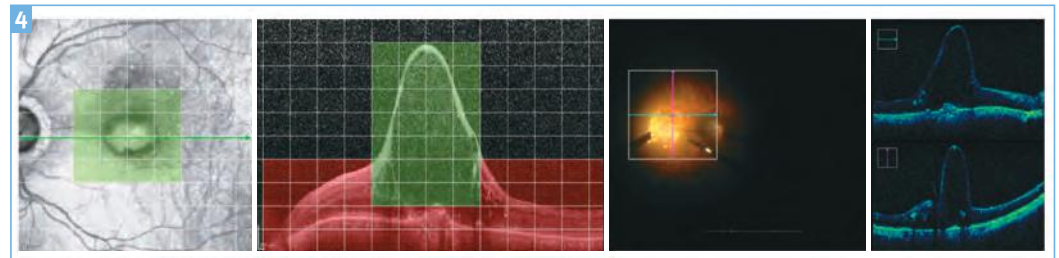


Abbildung 5

■ Das Bild zeigt eine 3D-Rekonstruktion der Nadel während einem subretinalen Eingriff.

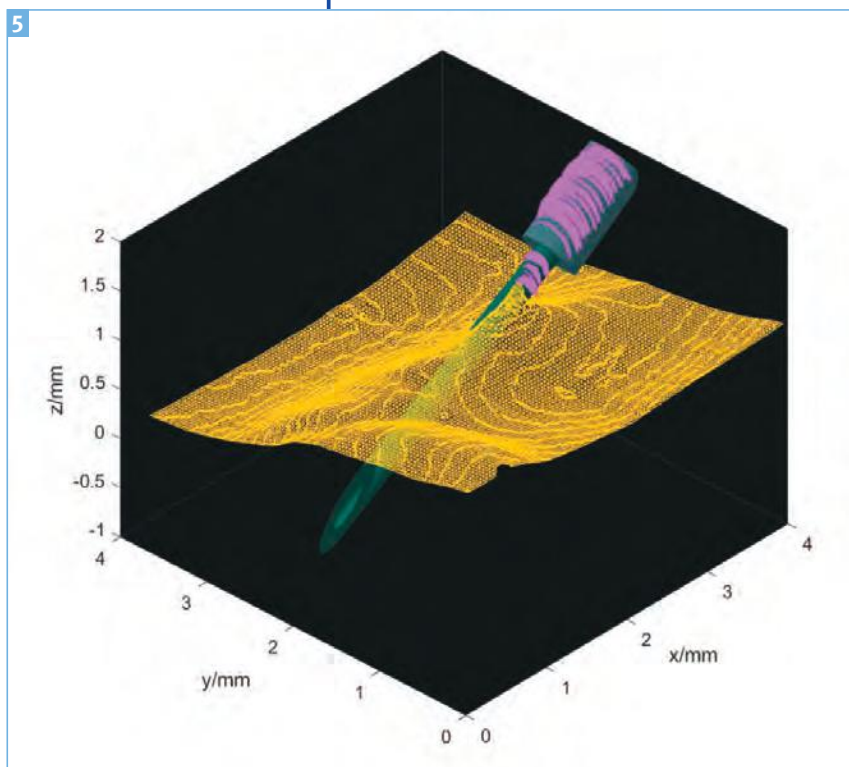
Das Mikroskop-Interface nutzt unter anderem die Daten des chirurgischen Planungs-Tools, welches dem Operateur die Möglichkeit bietet, das operative Vorgehen anhand der prä- oder auch intra-

4) MIKROSKOP INTERFACE

Das Mikroskop, wie auch die intraoperative OCT sind voll in die operative Umgebung integriert, um die im operativen Planungs-Tool festgelegten Aufgaben durchführen zu können. Der Operateur ist jedoch weiterhin jederzeit in der Lage, das chirurgische Vorgehen während der Operation abzuändern (z.B. bei einer Glaskörperblutung nach einer Vitrektomie).

5) INPUT DEVICE

Obwohl der Großteil des operativen Eingriffs halbautomatisch abläuft, ist der Operateur jederzeit in der Lage, die Bewegungen des roboterbetriebenen Mikromanipulators zu unterbrechen oder das Gerät vollständig manuell zu kontrollieren. Zudem wird in der Grundeinstellung eine duale Kontroll-Strategie genutzt, bei der zwei Personen gleichzeitig die Bewegungen kontrollieren können, jedoch mit verschiedenen Prioritäten. Diese Strategie wurde herangezogen, um die generelle Sicherheit zu erhöhen, aber auch um unter Aufsicht eines erfahrenen Chirurgen gefahrlos die Technik erlernen zu können.



ERGEBNISSE

Es wurde ein System entwickelt, welches Augenärzten bei operativen Eingriffen eine verbesserte Wahrnehmung und erhöhte Präzision ihrer chirurgischen Manipulationen erlaubt. Auf Basis der intraoperativen OCT, die als Eingangsinformation für den roboterbetriebenen Mikromanipulator dient, wird ein Teil der Informationsverarbeitung und Durchführung direkt von dem roboterbetriebenen Mikromanipulator übernommen. Hierdurch kann sich der Operateur vorwiegend auf den eigentlichen Operationsprozess und dessen Koordination, sowie die Entscheidungsfindung konzentrieren. Der aktuelle Prototyp ermöglicht dabei eine Genauigkeit von ca. 10 Mikrometer, welche für die allermeisten aktuellen ophthalmologischen Eingriffe ausreichend ist. Die generelle Funktionalität des Systems wurde an mehreren ex-vivo Eingriffen an Schweineaugen getestet. Im nächsten Schritt wird das System im Tiermodell seine Effektivität im Rahmen einer subretinalen Injektion beweisen.

Die Bildverarbeitungssoftware fügt dabei die optischen Mikroskopbilder, die Live-OCT und ein exaktes CAD Modell der Nadel in einem Bild zusammen und rekonstruiert auf präzise Art und Weise die genaue Position und Orientierung der Nadel zur Retina. Diese Information wird dann vom roboterbetriebenen Mikromanipulator genutzt, um das chirurgische Instrument in die gewünschte Position zu bringen.

ZUSAMMENFASSUNG

Der Aufbau ermöglicht Operationen mit erhöhter Sicherheit und Präzision, ohne den chirurgischen Ablauf oder die Visualisierung des Operationsfeldes negativ zu beeinflussen. Das System wurde ursprünglich entwickelt, um angehende Operateure beim Ausbau ihrer chirurgischen Fähigkeiten zu unterstützen, es kann jedoch auch von geübten Chirurgen für neuartige oder hochdiffizile Eingriffe wie beispielsweise subretinale Behandlungen, retinale Chip-Platzierung sowie künftige Gen- und Stammzell-Therapien genutzt werden. Aktuell wird an einer verbesserten Integration des iOCT und einer weiteren Optimierung des gesamten Aufbaus gearbeitet, um neue Wege augmentierter Operationen zu ermöglichen.

LITERATUR

- [1] B. Gonenc, N. Tran, P. Gehlbach, R.H. Taylor, and I. Iordachita, »Robot-Assisted Retinal Vein Cannulation with Force-Based Puncture Detection: Micron vs. the Steady-Hand Eye Robot,« in Proc. International Conference of the IEEE EMBS (EMBC'16), 2016, pp. 5107–5111.
- [2] Shohin Mukherjee, Sungwook Yang, Robert A. MacLachlan, Louis A. Lobes, Jr., Joseph N. Martel, Cameron N. Riviere, »Toward Monocular Camera-Guided Retinal Vein Cannulation with an Actively Stabilized Handheld Robot,« IEEE International Conference on Robotics and Automation 2017, May, 2017.
- [3] Chatzipirpiridis, George, Olgaç Ergeneman, Juho Pokki, Franziska Ullrich, Stefano Fusco, José A. Ortega, Kartik M. Sivaraman, Bradley J. Nelson, and Salvador Pané. 2015. »Electroforming of Implantable Tubular Magnetic Microrobots for Wireless Ophthalmologic Applications.« Advanced healthcare materials 4.2: 209–214.
- [4] M. Ali Nasser, M. Maier, C.P. Lohmann. »A Targeted Drug Delivery Platform for Assisting Retinal Surgeons for Treating Age-Related Macular Degeneration (AMD),« In Proceeding of: 39th Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society (EMBC'17), July 2017.



Prof. Dr. Dr. Chris P. Lohmann ist Direktor der Klinik und Poliklinik für Augenheilkunde am Klinikum rechts der Isar der Technischen Universität München. Nach seiner Schulausbildung in München und Gießen studierte er im Studiengang Human-Medizin an der Justus-Liebig-Universität Gießen und an der Ludwig-Maximilian-Universität München.

Nach dem Studium arbeitete er als Research-Fellow am Department of Ophthalmology des Moorfields Eye Hospitals in London, England, und am Department of Ophthalmology am St.

Thomas's Hospitals der University of London, England, unter der Leitung von Prof. Dr John Marshall. Er promovierte im Jahr 1995 unter der Leitung von Prof. John Marshall zum Thema »An investigation of visual performance subsequent of excimer laser photorefractive keratectomy and factors influencing corneal transparency« und habilitierte sich 2000 zum Thema »Excimer Laser photorefraktive Keratektomie zur Behandlung der Myopie: Jistologische, immunhistochemische und molekularebiologische Untersuchungen zur cornealen Wundheilung beim Menschen«.

Seit November 2005 ist er Direktor der Klinik und Poliklinik für Augenheilkunde am Klinikum rechts der Isar der Technischen Universität München, die er davor ein Jahr kommissarisch leitete und Inhaber des Lehrstuhls für Augenheilkunde. Die Forschungsschwerpunkte des Lehrstuhls sollen zukünftig noch stärker als bisher durch Zusammenarbeit mit den technischen Fakultäten der Technischen Universität München geprägt sein und sich auf die Bereiche Robotik, Medizintechnik, Bionik und Stammzellforschung konzentrieren.

KONTAKT



Prof. Dr. med. Dr. (Lond) Chris P. Lohmann

Klinik und Poliklinik für Augenheilkunde
Klinikum rechts der Isar
Technische Universität München
Ismaninger Straße 22
81675 München
Telefon: 089 4140-2320 oder 2340
Telefax: 089 4140-4858
E-Mail: chris.lohmann@mri.tum.de



» Intraoperative OCT der 2. Generation für den vorderen und hinteren Augenabschnitt.

Intuitive Bedienung und einfache Aufnahme von Bildern und Videos (inkl. picture in picture). «

iOCT® Intraoperative OCT

www.haag-streit.de

 **HAAG-STREIT**
DEUTSCHLAND

Angiogene Mechanismen des Wnt/ β -Cateninsignalwegs in der Netzhaut

PRIV.-DOZ. DR. MED. ANDREAS OHLMANN, DR. MED. RAFFAEL LIEGL

Augenkl und Poliklinik

Labor für Molekular- und Zellbiologie
Ludwig-Maximilians-Universität München

Der klassische Wnt/ β -Cateninsignalweg ist an verschiedenen Entwicklungsprozessen, wie Zelldifferenzierung, Proliferation und Migration, sowie der Aufrechterhaltung der Homöostase von Geweben beteiligt [Logan & Nusse 2004]. Im inaktiven Zustand wird das konstitutiv gebildete β -Catenin durch einen Degradationskomplex für den anschließenden Abbau in Proteasom markiert [Logan & Nusse 2004]. Durch die Bindung von Wnt-Glykolipoproteinen an spezifische Frizzled-Rezeptoren wird der β -Catenin-Degradationskomplex an den Rezeptor gebunden und hierdurch inaktiviert. Die redu-

zierte Degradation führt nun zu einer Akkumulation von β -Catenin im Zytoplasma, welche gefolgt ist von einer Translokation in den Zellkern, in dem es die Expression von spezifischen Zielgenen induziert [Logan & Nusse 2004].

In der Netzhaut erfolgt die Aktivierung des Wnt/ β -Cateninsignalwegs überwiegend durch Norrin, einem sezernierten Protein, das von Müllerzellen exprimiert wird [Ye et al. 2009]. Kodiert wird Norrin vom *Norrie disease (pseudoglioma) protein* (NDP) Gen, dessen Mutation ursächlich für das Norrie Syndrom, die familiäre exsudative Vitreoretinopathie (FEVR) oder den M. Coats sein kann [Ohlmann & Tamm 2012]. Im Gegensatz zu klassischen Wnt-Lipoglykoproteinen besitzt Norrin ein Cysteinknotenmotiv und hat hierdurch Ähnlichkeit mit Proteinen der TGF- β Superfamilie [Ke et al. 2013]. In der Netzhaut von Mäusen beginnt die Expression von Norrin mit der Entwicklung der retinalen Gefäße und bleibt auch im adulten Tier weiter bestehen [Ye et al. 2009].

Norrin bindet an den Frizzled-4 Rezeptor und kann hierdurch nach Rekrutierung seines Co-Rezeptors *low-density lipoprotein-related receptor* (LRP)-5 den klassischen Wnt/ β -Cateninsignalweg aktivieren (**Abb. 1**) [Xu et al. 2004]. Zusätzlich kann die Intensität des Norrin-vermittelten Wnt/ β -Cateninsignalwegs durch das Membranprotein TSPAN-12, das die Bildung von Frizzled-4/LRP-5 Clustern induziert, verstärkt werden [Junge et al. 2009]. Kürzlich wurde ein weiterer Rezeptor, der *leucine-rich repeat-containing G-protein-coupled receptor-4*, identifiziert, über den Norrin unabhängig vom Frizzled-4 Rezeptor den Wnt/ β -Cateninsignalweg aktivieren kann [Deng et al. 2013].

Befunde an Norrin-defizienten Mäusen deuteten schon früh darauf hin, dass Norrin eine angiogene Rolle in der Netzhaut einnehmen könnte. In der Maus beginnt die Vaskularisation der Netzhaut am Tag der Geburt mit dem vom Sehnervenkopf ausgehenden Einwachsen von Gefäßen in die innere Netzhaut. Die Entwicklung des inneren Gefäßplexus ist am Ende der ersten Lebenswoche mit der Vaskularisation der peripheren Netzhaut abgeschlossen. Anschließend wachsen die Gefäße in die Netzhaut ein um an der Innen- bzw. der Außenseite der äußeren Körnerschicht den tiefen bzw. den intermediären Gefäßplexus bis zum Ende der dritten Lebenswoche zu etablieren [Fruttiger 2007]. An

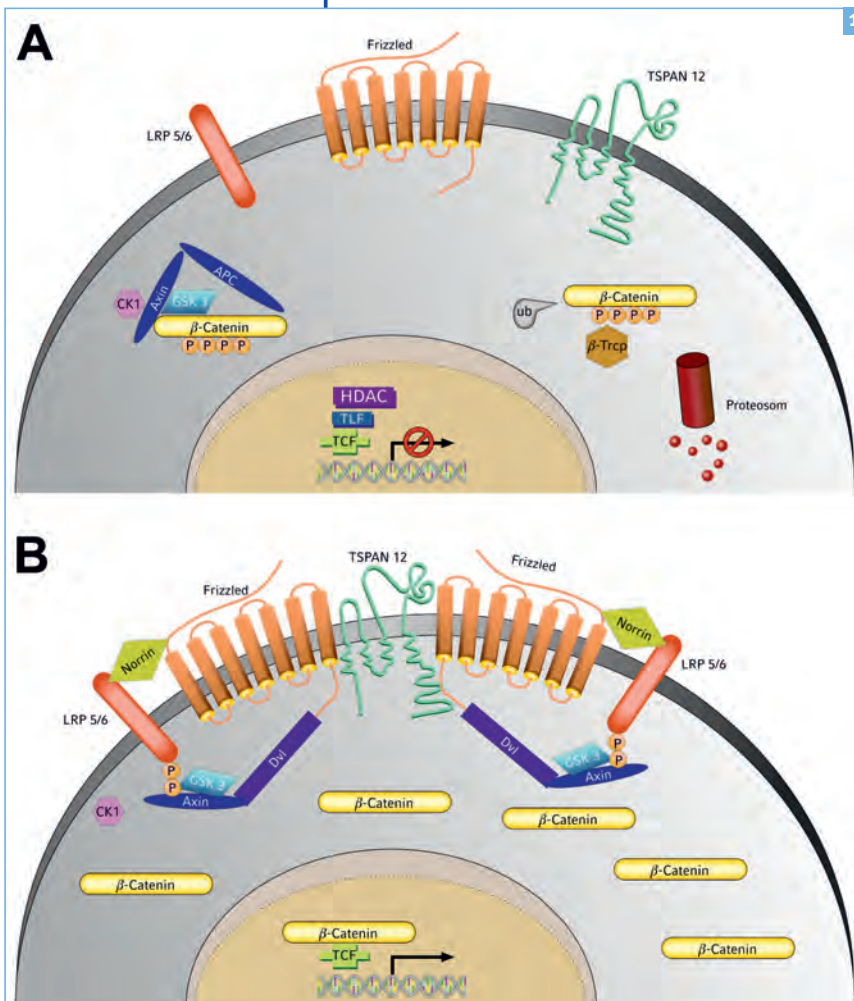
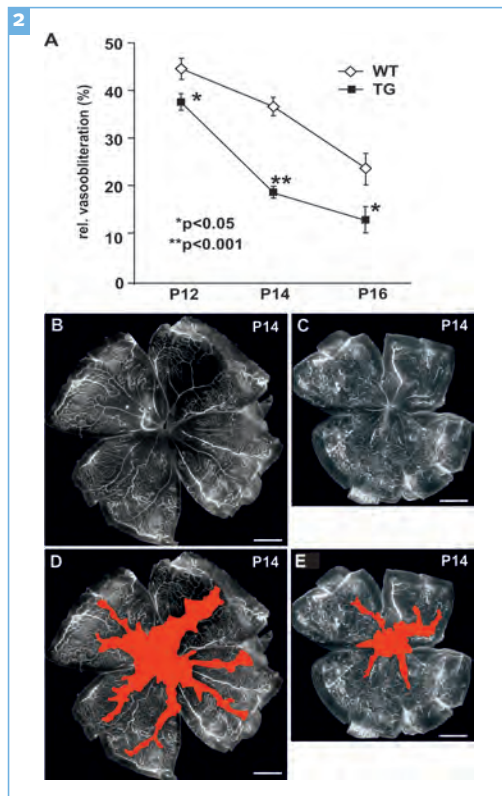
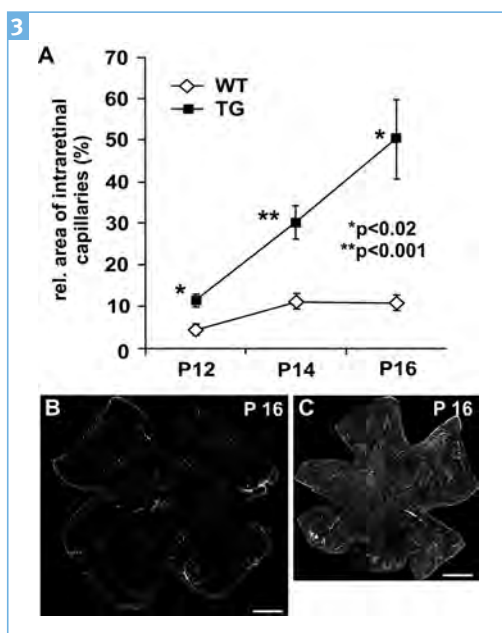


Abbildung 1

■ Schematische Darstellung des klassischen Wnt/ β -Cateninsignalwegs im unerregten Zustand (**A**) und nach Aktivierung durch Wnt- oder Norrin-Proteine (**B**) [modifiziert nach Ohlmann & Tamm, *Prog. Retin. Eye Res.* 2012].



Norrin-defizienten Mäusen (*Ndp*^{-/-}) ist die Entwicklung des oberflächlichen Gefäßplexus retardiert und das Einwachsen der Gefäße in die Netzhaut komplett geblockt, was zu einer ausgeprägten Ischämie und letztlich zu einem deutlichen Funktionsverlust im ERG führt [Richter et al. 1998, Ohlmann et al. 2005]. Um die angiogenen Eigenschaften von Norrin näher zu charakterisieren, hat unsere Arbeitsgruppe transgene Mäuse entwickelt, die Norrin in der Linse spezifisch überexprimieren (β B1-Norrin). Die histologische Untersuchung dieser Tiere zeigte eine deutliche Zunahme von Gefäßen in



der *Tunica vasculosa lentis* [Ohlmann et al. 2005]. In weiterführenden Untersuchungen sollte geklärt werden, ob die ektope Expression von rekombinantem Norrin den retinalen Gefäßphänotyp Norrin-defizienter Mäuse rückgängig machen kann. An Norrin-defizienten Mäusen mit einer zusätzlichen transgenen Überexpression von Norrin konnten wir eine normale Entwicklung der retinalen Gefäße sowie eine deutliche Verbesserung der Funktion im ERG beobachten [Ohlmann et al. 2005].

Aufgrund dieser Befunde sind wir der Frage nachgegangen, ob Norrin auch unter pathologischen Bedingungen nach Induktion einer Sauerstoff-induzierten Retinopathie (OIR), dem Mausmodell der Retinopathia praematurorum, das Einwachsen von Gefäßen in die Netzhaut beeinflussen kann. Bei diesem Versuchsmodell werden die Tiere ab dem 7. Tag nach der Geburt für 5 Tage in einer 75%-igen Sauerstoffatmosphäre gehalten, was eine Vasoobliteration der zentralen retinalen Gefäße induziert [Connor et al. 2009]. Nach fünftägiger hyperoxischer Exposition werden die Tiere dann wieder unter normalen Sauerstoffbedingungen gehalten. Hierdurch entsteht in den vasoobliterierten Arealen eine Hypoxie, die die Entwicklung von präretinalen Neovaskularisationen induziert [Connor et al. 2009]. Nach Induktion einer OIR in Mäusen mit einer transgenen Überexpression von Norrin in der Linse war das Wiedereinwachsen der Gefäße in die vasoobliterierten Areale deutlich verstärkt (**Abb. 2**). Im Vergleich zu wildtypischen Kontrolltieren fanden sich in transgenen Tieren großflächige Areale, die ein intraretinales Gefäßsystem aufwiesen (**Abb. 3**). Die verbesserte Perfusion der Netzhaut in transgenen β B1-Norrin Mäusen führt dann letztlich zu einer hochsignifikanten Reduktion von präretinalen Proliferationen (**Abb. 4**). Ähnliche Befunde wurden auch von Tokunaga und Mitarbeitern erhoben, die nach Induktion einer OIR rekombinantes Norrin in den Glaskörper von Versuchsmäusen injizierten [Tokunaga et al. 2013]. Durch den Einsatz von Dickkopf-1, einem In-

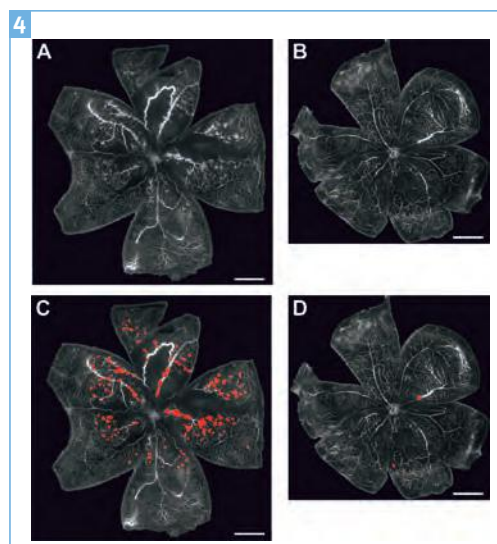


Abbildung 2

Norrin fördert die Revaskularisation vasoobliterierter Areale

Die vasoobliterierte Zone (rot) von transgenen β B1-Norrin Mäusen (**C, E**) und wildtypischen Kontrollen (**B, D**) wurde nach Induktion einer Sauerstoff-induzierten Retinopathie quantifiziert und als relatives vasoobliteriertes Areal dargestellt (**A**); [aus Ohlmann A. et al., *J. Neurosci.* 2010].

Abbildung 3

Norrin fördert das Einwachsen von Gefäßen in die Netzhaut

Die Fläche mit intraretinalen Gefäßen von transgenen β B1-Norrin Mäusen (**C**) und wildtypischen Kontrollen (**B**) wurde nach Induktion einer Sauerstoff-induzierten Retinopathie quantifiziert und als relative vaskularisierte Fläche dargestellt (**A**); [aus Ohlmann A. et al., *J. Neurosci.* 2010].

Abbildung 4

Norrin hemmt die Entwicklung von präretinalen Neovaskularisationen

Dargestellt ist die Fläche der präretinalen Neovaskularisationen (rot) von transgenen β B1-Norrin Mäusen (**B, D**) und wildtypischen Kontrollen (**A, C**) nach Induktion einer Sauerstoff-induzierten Retinopathie [aus Ohlmann A. et al., *J. Neurosci.* 2010].

hibitor des Wnt/ β -Cateninsignalwegs, konnten wir zeigen, dass Norrin seine Effekte über die Aktivierung des Wnt/ β -Cateninsignalwegs vermittelt [Ohlmann et al. 2010, Zeilbeck et al. 2016].

Zur Identifizierung möglicher nachgeschalteter Signalwege wurde die Expression verschiedener angiogener Faktoren an mikrovaskulären Endothelzellen nach Behandlung mit Norrin oder in der Netzhaut von β B1-Norrin Mäusen untersucht. Durch dieses Vorgehen konnte unsere Arbeitsgruppe die Induktion von Angiopoetin-2 und *insulin-like growth factor* (IGF)-1 als nachgeschaltete Norrin-vermittelte Signalwege identifizieren. Durch die Blockierung der Signalwege konnte zumindest teilweise der Norrin-induzierte Effekt auf die retinale Revaskularisation gehemmt werden [Ohlmann et al. 2010, Zeilbeck et al. 2016].

Um zu untersuchen, ob auch eine generelle Aktivierung des Wnt/ β -Cateninsignalwegs einen angiogenen Effekt ausübt, wurden mikrovaskuläre Endothelzellen in Kultur mit Lithiumchlorid (LiCl), einem Inhibitor des β -Catenin-Degradationskomplexes und seit Jahrzehnten verwendetem Antidepressivum, behandelt. *In vitro* konnte LiCl die Proliferation, die Migration und das Überleben von mikrovaskulären Endothelzellen steigern [Zeilbeck et al. 2014]. Demgegenüber führte die Injektion von LiCl in den Glaskörper von Mäusen nach der Induktion einer Sauerstoff-induzierten Retinopathie zwar zu einer Aktivierung des retinalen Wnt/ β -Cateninsignalwegs, aber nicht zu einer verbesserten Revaskularisation der Netzhaut [Zeilbeck et al. 2014]. Daraus ergeben sich eindeutige Hinweise, dass der Norrin-vermittelte angiogene Effekt über spezifische Zellen in der Netzhaut vermittelt wird. Um diese Hypothese zu überprüfen, haben wir gentechnisch veränderte Tiere generiert, bei denen das Gen für β -Catenin nach der Gabe von Tamoxifen-Augentropfen in mikrovaskulären Endothel- oder Müllerzellen inaktiviert wird. Im Vergleich zu wildtypischen Kontrolltieren zeigte sich nach Induktion einer Sauerstoff-induzierten Retinopathie in der Netzhaut von Mäusen mit einer β -Catenin-Defizienz in mikrovaskulären Endothel- oder Müllerzellen eine deutlich verzögerte Revaskularisierung der vasoobliterierten Areale. Dieser Effekt war in Mäusen mit einer Deletion von β -Catenin in mikrovaskulären Endothelzellen stärker ausgeprägt.

Mit dem Norrin-vermittelten Wnt/ β -Cateninsignalweg konnten wir einen angiogenen Mechanismus der Netzhaut identifizieren, der auch unter den Bedingungen einer experimentellen Frühgeborenenretinopathie der Maus ein gerichtetes Gefäßwachstum induzieren kann. Ob die Norrin-vermittelte Induktion von retinalen Gefäßen auch im Rahmen von anderen ischämischen Pathologien der Netzhaut zu beobachten ist und sich hieraus eine neuartige therapeutische Option ergibt, wird in weiterführenden Untersuchungen zu klären sein.

LITERATUR

- Connor K.M., Krah N.M., Dennison R.J., Aderman C.M., Chen J., Guerin K.I., Sapieha P., Stahl A., Willett K.L., Smith L.E. (2009) Quantification of oxygen-induced retinopathy in the mouse: a model of vessel loss, vessel re-growth and pathological angiogenesis. *Nat Protoc*, 4, 1565–1573.
- Deng C., Reddy P., Cheng Y., Luo C.W., Hsiao C.L. and Hsueh A.J. (2013) Multi-functional norrin is a ligand for the LGR4 receptor. *J Cell Sci*, 126, 2060–2068.
- Fruttiger M. (2007) Development of the retinal vasculature. *Angiogenesis*, 10, 77–88.
- Junge H.J., Yang S., Burton J.B., Paes K., Shu X., French D.M., Costa M., Rice D.S. and Ye W. (2009) TSPAN12 regulates retinal vascular development by promoting Norrin- but not Wnt-induced FZD4/ β -catenin signaling. *Cell*, 139, 299–311.
- Ke J., Harikumar K.G., Erice C., Chen C., Gu X., Wang L., Parker N., Cheng Z., Xu W., Williams B.O., Melcher K., Miller L.J., Xu H.E. (2013) Structure and function of Norrin in assembly and activation of a Frizzled 4-Lrp5/6 complex. *Genes Dev*, 27, 2305–2319.
- Logan C.Y. and Nusse R. (2004) The Wnt signaling pathway in development and disease. *Annu Rev Cell Dev Biol*, 20, 781–810.
- Ohlmann A., Scholz M., Goldwisch A., Chauhan B.K., Hudl K., Ohlmann A.V., Zrenner E., Berger W., Cvekl A., Seeliger M.W., Tamm E.R. (2005) Ectopic Norrin induces growth of ocular capillaries and restores normal retinal angiogenesis in Norrie disease mutant mice. *J Neurosci*, 25, 1701–1710.
- Ohlmann A., Seitz R., Braunger B., Seitz D., Bosl M.R. and Tamm E.R. (2010) Norrin promotes vascular regrowth after oxygen-induced retinal vessel loss and suppresses retinopathy in mice. *J Neurosci*, 30, 183–193.
- Ohlmann A. and Tamm E.R. (2012) Norrin: molecular and functional properties of an angiogenic and neuroprotective growth factor. *Prog Retin Eye Res*, 31, 243–257.
- Richter M., Gottanka J., May C.A., Welge-Lüssen U., Berger W. and Lutjen-Drecoll E. (1998) Retinal vasculature changes in Norrie disease mice. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 39, 2450–2457.
- Tokunaga C.C., Chen Y.H., Dailey W., Cheng M. and Drenser K.A. (2013) Retinal vascular rescue of oxygen-induced retinopathy in mice by Norrin. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 54, 222–229.
- Xu Q., Wang Y., Dabdoub A., Smallwood P.M., Williams J., Woods C., Kelley M.W., Jiang L., Tasman W., Zhang K., Nathans J. (2004) Vascular development in the retina and inner ear: control by Norrin and Frizzled-4, a high-affinity ligand-receptor pair. *Cell*, 116, 883–895.
- Ye X., Wang Y., Cahill H., Yu M., Badaea T.C., Smallwood P.M., Peachey N.S. and Nathans J. (2009) Norrin, frizzled-4, and Lrp5 signaling in endothelial cells controls a genetic program for retinal vascularization. *Cell*, 139, 285–298.
- Zeilbeck L.F., Muller B., Knobloch V., Tamm E.R. and Ohlmann A. (2014) Differential angiogenic properties of lithium chloride in vitro and in vivo. *PLoS One*, 9, e95546.
- Zeilbeck L.F., Muller B.B., Leopold S.A., Senturk B., Langmann T., Tamm E.R. and Ohlmann A. (2016) Norrin mediates angiogenic properties via the induction of insulin-like growth factor-1. *Exp Eye Res*, 145, 317–326.

Priv.-Doz. Dr. med. Andreas Ohlmann ist Leiter des Molekular- und Zellbiologischen Labors der Augenklinik und Poliklinik des Klinikums der Ludwig-Maximilians-Universität München (Direktor: Prof. Dr. Siegfried Priglinger). Er studierte Humanmedizin an der Justus-Liebig-Universität Gießen und promovierte dort 2001 am Institut für Klinische Chemie und Pathobiochemie. Die Weiterbildung zum Facharzt für Augenheilkunde erfolgte an den Universitätsaugenkliniken Mainz und Erlangen. Anschließend arbeitete Herr Dr. Ohlmann als wissenschaftlicher Mitarbeiter am Institut für Anatomie der Universität Regensburg. Dort wurde er 2012 habilitiert und erhielt die *venia legendi* im Fach Anatomie. Seit 2017 leitet er das Molekular- und Zellbiologische Labor der Universitäts-Augenklinik München. Seine Forschungsschwerpunkte bestehen in der Analyse von angiogenen sowie neuroprotektiven Mechanismen der Netzhaut, die mittels verschiedener Tiermodelle untersucht werden.

FÖRDERUNGEN UND AUSZEICHNUNGEN

Die Forschungsarbeiten wurden bzw. werden von der Deutschen Forschungsgemeinschaft, der Pro Retina Stiftung sowie der Freifrau-von-Nauendorf-Stiftung gefördert. 2010 erhielt Herr Dr. Ohlmann den Retinitis Pigmentosa Forschungspreis der Pro Retina Stiftung und der RP-Vereinigung Schweiz sowie den Bargmann-Preis der Anatomischen Gesellschaft. Er ist Gutachter für verschiedene ophthalmologische Fachzeitschriften und seit 2012 Academic Editor der Fachzeitschrift PlosOne.



Priv.-Doz. Dr. med. Andreas Ohlmann

Augenklinik und Poliklinik
Labor für Molekular- und Zellbiologie
Klinikum der Ludwig-Maximilians-Universität München
Campus Innenstadt
Mathildenstraße 8
80336 München
Telefon: 089 4400-53054
Telefax: 089 4400-55160
E-Mail:
andreas.ohlmann@med.uni-muenchen.de

KONTAKT



Lipidemulsionen als Kontrastmittel für die OCT-Bildgebung

PRIV.-DOZ. DR. CHRISTIAN VAN OTERENDORP, HANNA GOTTSCHALK, DR. MOHAMMED KHATTAB, PROF. DR. HANS HOERAUF

Klinik für
Augenheilkunde
Universitätsmedizin
Göttingen

Anders als bei den meisten medizinischen Bildgebungsverfahren gibt es für die optische Kohärenztomographie (OCT) kein etabliertes Kontrastmittel. Damit fehlt die Möglichkeit, Gewebekompartimente gezielt darzustellen. In der experimentellen Forschung werden teilweise Gold-Nanostäbchen verwendet, welche eine Hyperreflektivität erzeugen [1, 2]. Durch Koppeln der Gold-Partikel mit Molekülen kann zudem eine gezielte Anlagerung der Partikel an bestimmte Gewebe erreicht werden [3]. Damit könnten sie zur molekularbiologischen Markierung, beispielsweise von Tumorgewebe, eingesetzt werden. Trotz dieser besonderen Eigenschaften haben Gold-Nanostäbchen zwei signifikante Nachteile: sie sind relativ teuer und sie können zelltoxisch wirken. Letzteres hängt von verschiedenen Faktoren ab, zum Beispiel der Größe und der chemischen Eigenschaften der Partikeloberfläche [4, 5].

Aus diesem Grund forscht unsere Arbeitsgruppe an OCT-Kontrastmitteln, die günstig, einfach zu handhaben und gut *in vivo*-verträglich sind. Als Substanzgruppe mit besonders interessanten Eigenschaften haben wir Lipidemulsionen identifiziert.

Ein potentielles Anwendungsgebiet für OCT-Kontrastmittel ist die Darstellung der intraskleralen Kammerwasservenen [6]. Das komplexe Netzwerk von tief im Skleragewebe liegenden feinen Venen [7] ist mittels konventioneller OCT nur schwierig darzustellen [8]. Zudem ist, zumindest *ex vivo*, die Unterscheidung von Blutgefäßen und Kammerwasservenen nicht möglich.

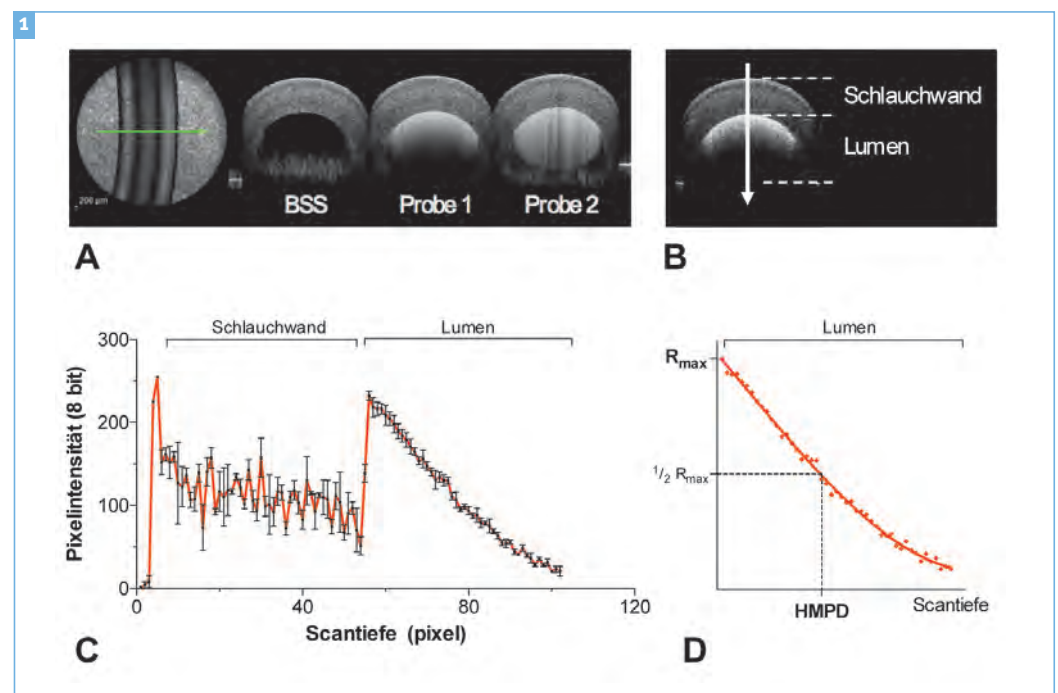
Die OCT-Angiographie ist für die Darstellung von Kammerwasservenen nicht geeignet, da sie auf der durch bewegte Erythrozyten hervorgerufenen Fluktuation des OCT-Signals basiert [9]. Die Wasserfüllung der Kammerwasservenen ruft jedoch ein hyporeflektives, homogenes Signal hervor.

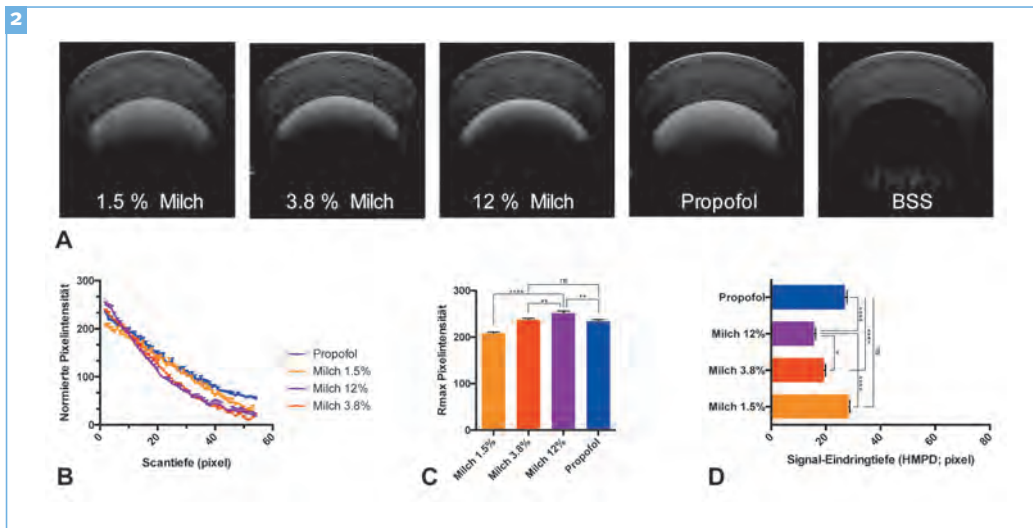
LIPIDEMULSIONEN ERZEUGEN EINE STARKE HYPERREFLEKTIVITÄT

Lipidemulsionen sind eine Mischung aus einer fettigen und einer wässrigen Phase. Die feinen Lipid-»Tröpfchen« bilden dabei optische Grenzflächen zur umgebenden wässrigen Phase. Das Vorhandensein dieser Grenzflächen erschien uns zu Beginn dieses Projekts als Eigenschaft, welche die

Abbildung 1

A) Anordnung von 3 Schlauchphantomen vor dem OCT und Rohscan
B) Segmente des OCT-Bilds
C) Roh-Intensitätsplot durch das gesamte Phantom
D) Schematische Illustration der Parameter R_{max} und Eindringtiefe.





Verwendung als OCT-Kontrastmittel ermöglichen könnte.

Die am einfachsten erhältliche Lipidemulsion ist Milch. Sie wurde in verschiedenen Fettstufen (1,5%–12%) getestet. Zudem verwendeten wir als hochstandardisiert und steril hergestelltes Produkt das Narkosemittel Propofol, welches in einer Lipidemulsion gelöst ist.

In Schlauch-Phantomen (Abb. 1A, B und 2A) zeigten alle Lipidemulsionen eine gegenüber Wasser deutliche Hyperreflektivität. Um die optischen Eigenschaften der getesteten Substanzen zu vergleichen, wurde die OCT-Reflektivität (= Pixelintensität) entlang eines A-Scans aufgetragen (Abb. 1B und C). Aus diesen A-Scan-Plots wurden zwei Parameter bestimmt (Abb. 1D): 1) die maximale Reflektivität (Rmax) und 2) die Eindringtiefe des OCT-Signals, gemessen als Eindringtiefe bei der nur noch die Hälfte des maximalen Signals (Rmax) gemessen wurde (benannt als HMPD (= half maximum penetration depth)). Im Vergleich der unterschiedlichen Lipidemulsionen zeigte sich bei Zunahme des Fettgehalts eine steigende maximale Reflektivität bei gleichzeitig sinkender Eindringtiefe (Abb. 2). Propofol wies demgegenüber sowohl eine hohe Reflektivität (Rmax), als auch

eine hohe Eindringtiefe (HMPD) auf (Abb. 2). Blut wies im Vergleich zu allen Lipidemulsionen eine signifikant niedrigere Reflektivität und Eindringtiefe auf.

DARSTELLUNG DER KAMMERWASSERVENEN EX VIVO MITTELS LIPIDEMULSIONEN

Zur *ex vivo*-Darstellung der Kammerwasservenen wurden Rinder- oder Schweineaugen mit Propofol perfundiert und anschließend mittels OCT untersucht. Zunächst wurde eine sequentielle Perfusion, zuerst mit BSS, anschließend mit Lipidemulsion (Abb. 3), durchgeführt. Dadurch konnten am Rinderauge die intraskleralen Kammerwasservenen dargestellt werden.

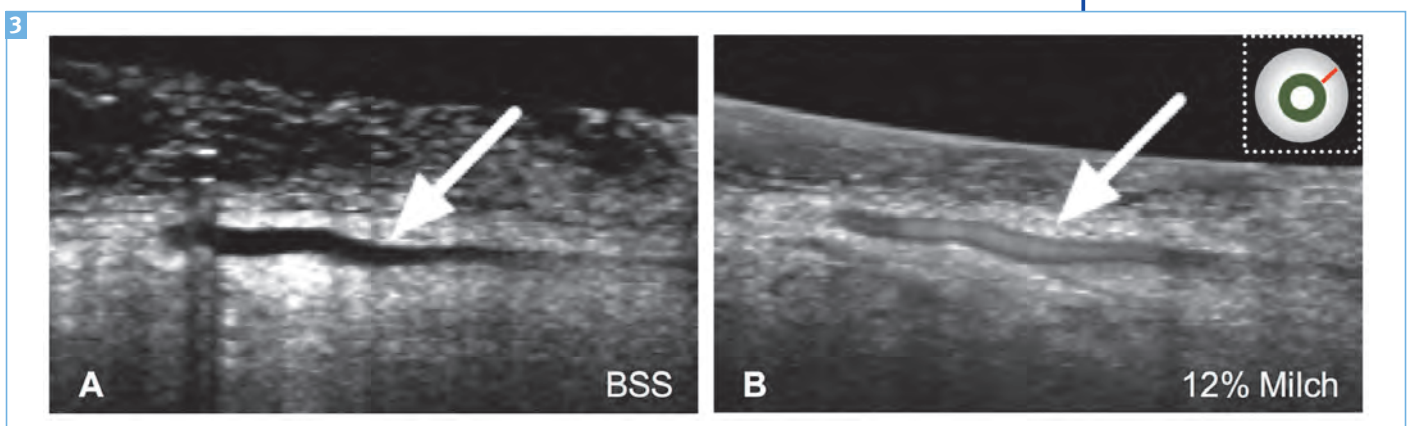
Da das Kontrastmittel eine ähnliche Reflektivität wie das umliegende Skleragewebe aufweist, ist nach Kontrastmittel-Perfusion eine Abgrenzung oft schwierig. Zur Extraktion des Kontrastmittelsignals müsste daher eine Subtraktionsangiographie durchgeführt werden, wobei das Bild ohne Kontrastmittel vom Bild mit Kontrastmittel abgezogen wird. Dieses Verfahren ist jedoch störanfällig und aufwändig.

Abbildung 2

■ **A)** Repräsentative OCT-Scans verschiedener Lipidemulsionen, sowie BSS (Balanced Salt Solution) als Referenz. **B)** Repräsentative Intensitätsplots der Proben aus (A). **C)** Rmax der Proben aus (A). Mit steigendem Lipidgehalt steigt die Reflektivität. **D)** Eindringtiefe der Proben aus (A). Mit steigendem Lipidgehalt sinkt die Eindringtiefe. Propofol hat jedoch sowohl eine hohe Reflektivität, als auch eine hohe Eindringtiefe.

Abbildung 3

■ **Ex vivo**-Anwendung am Rinderauge. Scanposition siehe Schema oben rechts. Sequentieller Scan einer intraskleralen Kammerwasservene (Pfeil) bei Perfusion mit BSS (A) und 12% Milch (B).



4

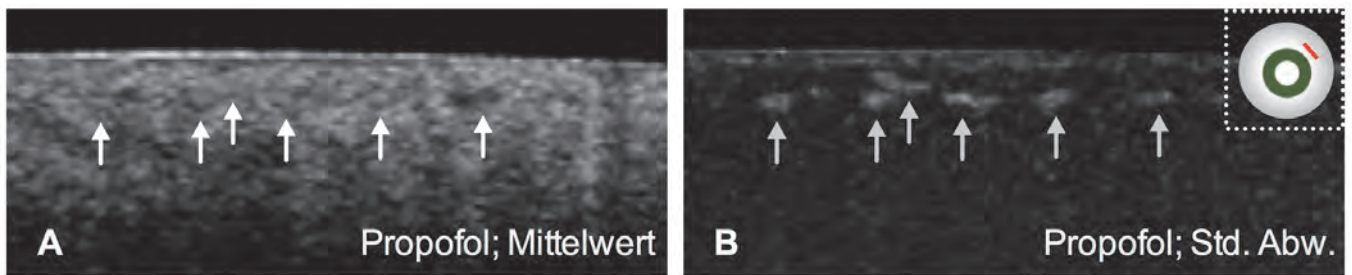


Abbildung 4

■ Direkte Extraktion des KM-Signals nach Perfusion mit Propofol analog OCT-Angiographie.

A) Mittelwert der Scansequenz: Das Propofol-Signal »verschwindet« im ähnlich reflektiven Signal der umliegenden Sklera. **B)** Pixel-Standardabweichung der Scansequenz aus (A): Hierdurch wird das umgebende Skleralsignal unterdrückt und das stark fluktuierende Signal der Lipidemulsion kommt zum Vorschein. Die Kammerwasservenien sind hier überwiegend quer angeschnitten (siehe Schema oben rechts).

Daher wurde ein alternativer Ansatz entwickelt, bei dem die hohe Signalfluktuation der Lipidemulsionen genutzt wird, um das Kontrastmittelsignal ähnlich wie bei der OCT-Angiographie direkt zu extrahieren (s.u.).

LIPIDEMULSIONEN ERZEUGEN EINE SIGNALFLUKTUATION ÄHNLICH FLIESSENDEN BLUTS

Eine auffällige Eigenschaft aller Lipidemulsionen war, dass sie eine starke Fluktuation des OCT-Signals hervorriefen. Damit ähnelte das Verhalten der Lipidemulsionen dem von Blut. Allerdings ist für die Signalfluktuation der Lipidemulsionen kein Fluss notwendig. Die Ursache der Fluktuation liegt wahrscheinlich in der Brown'schen Bewegung der Lipidtröpfchen.

Bei der OCT-Angiographie kann das Signal des Bluts aufgrund seiner zeitlichen Fluktuation vom zeitlich stabilen Signal der Umgebungsstrukturen extrahiert werden. Wir testeten, ob dies auch bei Lipidemulsionen möglich ist. In Analogie zur OCT-Angiographie wurde hierfür in B-Scan-Sequenzen die Pixel-Standardabweichung über die Zeit berechnet. Damit war die gezielte Detektion des Lipidemulsions-Signals möglich (**Abb. 4**).

Aktuelle Forschungsschwerpunkte liegen auf der Verbesserung der Signaldetektion in der Tiefe, sowie der Segmentierung und 3D-Rekonstruktion des Venenplexus.

LITERATUR

- de la Zerda, A. et al. Optical coherence contrast imaging using gold nanorods in living mice eyes. *Clin. Experiment. Ophthalmol.* 43, 358–366 (2015).
- Wang, B. et al. Gold nanorods as a contrast agent for Doppler optical coherence tomography. *PLoS One* 9, e90690 (2014).
- Prabhakar, S., Matthews, J., Rawal, S. & Awdeh, R.M. Molecular histopathology using gold nanorods and optical coherence tomography. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 54, 1192–1200 (2013).
- Alkilany, A.M., Shatanawi, A., Kurtz, T., Caldwell, R.B. & Caldwell, R.W. Toxicity and Cellular Uptake of Gold Nanorods in Vascular Endothelium and Smooth Muscles of Isolated Rat Blood Vessel: Importance of Surface Modification. *Small* 8, 1270–1278 (2012).
- Wan, J. et al. Surface chemistry but not aspect ratio mediates the biological toxicity of gold nanorods in vitro and in vivo. *Sci. Rep.* 5, 11398 (2015).
- van Oterendorp, C. [Imaging of the Intracocular Aqueous Drainage System – New Insights for Glaucoma Surgery Targeting the Trabecular Meshwork]. *Klin. Monatsbl. Augenheilkd.* (2017). doi: 10.1055/s-0042-123193.
- Ashton, N. Anatomical study of Schlemm's canal and aqueous veins by means of neoprene casts. Part I. Aqueous veins. *Br. J. Ophthalmol.* 35, 291–303 (1951).
- Kagemann, L. et al. 3D visualization of aqueous humor outflow structures in-situ in humans. *Exp. Eye Res.* 93, 308–315 (2011).
- Chen, C.-L. & Wang, R.K. Optical coherence tomography based angiography [Invited]. *Biomed. Opt. Express* 8, 1056–1082 (2017).

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

Die Facharztausbildung erfolgte an der Universitäts-Augenklinik Freiburg, unterbrochen von einem Forschungsstipendium der DFG am Centre for Brain Repair der Universität Cambridge (GB). Hier forschte er im Labor von Prof. Keith Martin an Veränderungen des axonalen Transports in Ganglienzellen am Ratten-Glaukoommodell, sowie an der retinalen Bildgebung am Rattenauge. Zurück in Freiburg forschte er in der Arbeitsgruppe von Prof. Wolf Lagrèze an neurotrophen Signalwegen in Ganglienzellen. Nach Facharztprüfung und EBO-Examen arbeitete er weitere 2 Jahre als Funktionsoberarzt der Sektion Glaukumatologie an der Augenklinik Freiburg, bevor er an die Universitäts-Augenklinik Göttingen wechselte. Hier habilitierte er

über die »Neurotrophe Signalübertragung in retinalen Ganglienzellen der Ratte«. Für seine Arbeit zur Quantifizierung des retrograden axonalen Transports im Rattenauge erhielt er 2012 den Glaukomeforschungspreis der DOG. Dr. van Oterendorp ist derzeit an der Augenklinik Göttingen als Oberarzt mit dem Schwerpunkt »Erkrankungen des vorderen Augenabschnitts« tätig. Der Forschungsschwerpunkt seiner Arbeitsgruppe liegt neben der OCT-Bildgebung auf dem Zusammenhang zwischen mechanischem Stress und Ganglienzellfunktion, sowie der Beeinflussung von Wundheilungsprozessen durch Anti-VEGF-Substanzen.



PD Dr. Christian van Oterendorp

Klinik für Augenheilkunde
 Universitätsmedizin Göttingen
 Robert-Koch-Straße 40
 37075 Göttingen
 Telefon: 0551 39-66776
 E-Mail:
christian.oterendorp@med.uni-goettingen.de

KONTAKT



Etablierung funktioneller und struktureller Studienendpunkte für die altersabhängige Makuladegeneration

DR. MAXIMILIAN PFAU, PRIV.-DOZ. DR. MONIKA FLECKENSTEIN, DR. JULIA S. STEINBERG, DR. SARAH H. THIELE, PROF. DR. ROBERT P. FINGER, PROF. DR. STEFFEN SCHMITZ-VALCKENBERG, PROF. DR. FRANK G. HOLZ

Universitäts-
Augenklinik Bonn

Die altersabhängige Makuladegeneration (AMD) stellt in den Industrienationen die häufigste Ursache für einen Verlust der zentralen Sehschärfe dar [1]. Während die Anti-VEGF-Monotherapie für chorioidale Neovaskularisationen über Zeiträume von 1–2 Jahren exzellente Ergebnisse erzielen kann, weisen mittlerweile viele Studien darauf hin, dass es im Langzeitverlauf auch unter Therapie zu einem Verlust der zentralen Sehschärfe kommen kann [2]. Für die »geographische Atrophie« (GA) gibt es bislang keine wirksame Therapie trotz mittlerweile mehr als 90 registrierter klinischer Studien (ClinicalTrials.gov, NIH, Bethesda, USA). Für eine nachhaltige Behandlung der AMD bedarf es daher der Entwicklung von therapeutischen Verfahren, die der Konversion der intermediären AMD in eine der beiden Spätformen entgegenwirken und/oder die Progredienz von Atrophie in Spätformen reduzieren. Eine Herausforderung für klinische Studien stellen hierbei die funktionellen und strukturellen Studienendpunkte dar [3].

Die best-korrigierte zentrale Sehschärfe (BCVA), der meist verwendete funktionelle Studienendpunkt ophthalmologischer Studien, kann vor allem die extrafoveale Krankheitsprogression in intermediärer und später AMD nicht abbilden und testet zudem ausschließlich die Zapfenfunktion [3]. Die sogenannte Fundus-kontrollierte Perimetrie (FCP), die Stimuli unter Fundus-Kontrolle projiziert, ermöglicht bei Patienten auch ohne stabile Fixation eine Untersuchung der orts aufgelösten Netzhautsensitivität [4, 5]. Allerdings erlaubt die meist verwendete mesopische FCP nicht die differenzielle Testung von Zapfen und Stäbchen [4, 5].

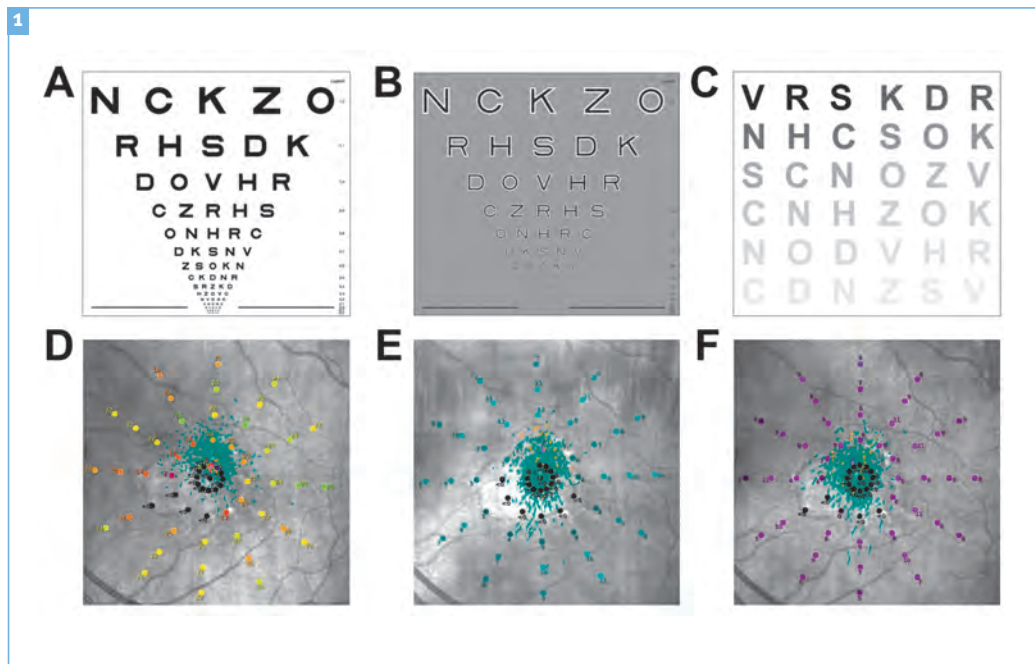
Die semi-automatische Flächenbestimmung von GA mittels Fundus-Autofluoreszenz Bildgebung konnte als struktureller Studienendpunkt validiert werden und wird nun in Phase II sowie III Studien genutzt [6, 7]. Biomarker in der Spektral-Domänen optischen Kohärenztomographie (SD-OCT) für die intermediäre AMD sind bislang hingegen größtenteils nur unzureichend validiert. Während gezeigt ist, dass Patienten mit großen Drusen sowie Hyperpigmentierungen in Farbfundusphotos eine er-

höhte Konversionsrate zu später AMD aufweisen, variiert das absolute Drusenvolumen zum Zeitpunkt der Konversion deutlich zwischen Patienten [8, 9]. Weiterhin ist gezeigt, dass es bei AMD in Verbindung mit retikulären Drusen (subretinale drusenoid Ablagerungen) auch zu einer Degeneration der äußeren Netzhaut einhergehend mit Sensitivitätsverlust ohne Entwicklung von GA oder chorioidaler Neovaskularisationen kommen kann [10]. Daher gewinnt die Bildgebung von Photorezeptoren mittels SD-OCT zunehmend an Bedeutung [11]. Allerdings kann es auch hierbei zu paradoxen Phänomenen wie einer Verdickung statt Verdünnung der äußeren Körnerzellschicht im Krankheitsverlauf von intermediärer AMD kommen [12].

ETABLIERUNG NEUER FUNKTIONELLER STUDIENENDPUNKTE

Im Rahmen mehrerer natürlichen Verlaufsstudien an der Universitäts-Augenklinik Bonn (u.a. *Directional Spread in Geographic Atrophy [DSGA, NCT02051998, ClinicalTrials.gov]*, *Sparing of the Fovea in Geographic Atrophy Progression [SIGHT, NCT02332343]*, *Molekulare Diagnostik der AMD [MODIAMD]*) werden derzeit funktionelle Endpunkte zur intermediären sowie zur späten AMD untersucht. Diese werden neben der Retest-Reliabilität auch hinsichtlich der konkurrenten Validität (Übereinstimmung zwischen funktionellen und strukturellen Ergebnissen) und prädiktiven Validität (Vorhersagegüte bezüglich der Krankheitsprogression) bewertet.

- Kürzlich konnte mittels skotopischer FCP gezeigt werden, dass in Augen mit retikulären Drusen die skotopische Dysfunktion ausgeprägter ist als die mesopische Dysfunktion [11, 13].
- Es konnte rezent erstmals dunkel-adaptierte Zweifarben-FCP mit cyanen und roten Stimuli klinisch etabliert werden, die unter gleichzeitiger konfokaler Scanning-Laser-Ophthalmoskopie (cSLO) Bildgebung die präzise isolierte Testung von Stäbchenfunktion ermöglicht [4, 5].

**Abbildung 1**

Neben der best-korrigierten zentralen Sehschärfe (A) ist es derzeit ein Ziel weitere Sehtests hinsichtlich ihrer konkurrenten und prädiktiven Validität zu untersuchen wie die Sehschärfe für Hochpass-Optotypen (B, Moorfields Acuity Chart), die Kontrastsehschärfe (C, Pelli-Robson Contrast Sensitivity Chart) und die mesopische sowie dunkel-adaptierte Zweifarbent-Fundus-kontrollierte-Perimetrie (D-F).

Aktuell werden weiterhin verschiedene Alternativen zur BCVA getestet, unter anderem die »low-luminance« Sehschärfe (Testung der best-korrigierten Sehschärfe unter Verwendung eines 2,0 log-Einheiten Neutraldichtefilters), die Sehschärfe für Hochpass-Optotypen (Moorfields Acuity Chart) und die Kontrastsehschärfe (Pelli-Robson Contrast Sensitivity Chart) [14].

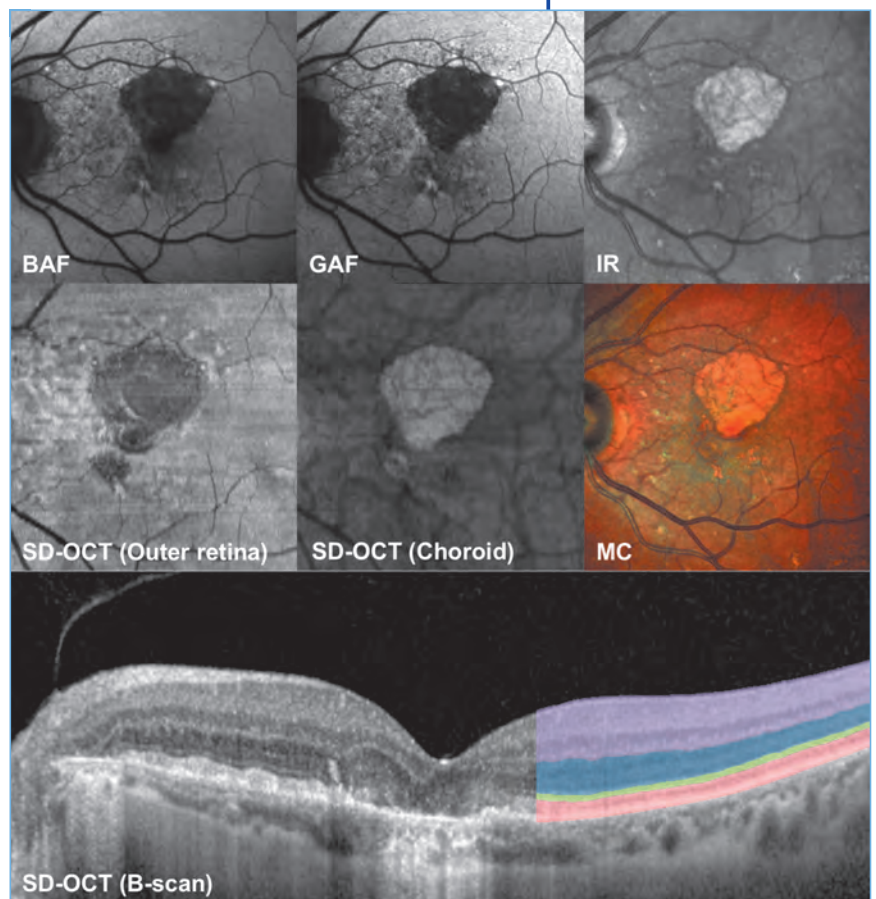
Darüber hinaus wird die Eignung des Lesevirus und der Lesegeschwindigkeit als funktioneller Endpunkt bei geographischer Atrophie systematisch in einer longitudinalen Studie untersucht. Hypothetisch ist der Einfluss von Skotomen in Leserichtung ausgeprägter als der Einfluss von Skotomen gegen Leserichtung.

ETABLIERUNG NEUER STRUKTURELLER STUDIENENDPUNKTE

Neben den funktionellen Endpunkten wird derzeit die konkurrente und prädiktive Validität verschiedener struktureller Studienendpunkte untersucht.

Eine rezente Studie belegte, dass die Grünlicht-Autofluoreszenz verglichen mit der Blaulicht-Autofluoreszenz eine genauere Vermessung von Arealen geographischer Atrophie ermöglicht [7]. Eine geringere Variabilität der Vermessung von Atrophie ermöglicht die Durchführbarkeit von klinischen Studien an kleineren Kohorten.

Weiterhin ließ sich zeigen, dass neben der Läsionsfläche und dem Autofluoreszenz-Phäno-

**Abbildung 2**

Mittels multimodaler Bildgebung lässt sich die Läsionsgröße von geographischer Atrophie präzise erheben. Die Spektral-Domänen optischer Kohärenztomographie (SD-OCT) ermöglicht darüber hinaus eine volumetrische Quantifizierung sämtlicher Netzhautschichten (Legende: Blaulicht-Autofluoreszenz [BAF], Grünlicht-Autofluoreszenz [GAF], Infrarot-Reflektion [IR], Multicolor [MC]).

typ auch die Läsionsgrenzfläche (Perimeter) prädiktiv für die zukünftige Progression von Atrophie ist [15]. Dies lässt sich zur Selektion von Patienten mit schnellen Progressionsraten für klinische Studien zunutze machen.

- In mehreren Studien zur intermediären AMD sowie den Spätformen werden derzeit systematisch strukturelle Biomarker wie die Dicke der äußeren Körnerzellschicht hinsichtlich ihrer funktionellen Relevanz untersucht [11]. Ziel ist es, langfristig zu ermöglichen, dass therapeutische Erfolge auch an strukturellen Studienendpunkten bewertet werden können, die sich meist schneller und einfacher erheben lassen als funktionelle Endpunkte.
- Mittels »machine learning« werden derzeit strukturelle Biomarker hinsichtlich ihrer prädiktiven Relevanz für die Konversion von intermediärer AMD in eine der Spätformen und für das Fortschreiten der Spätformen systematisch untersucht.

BEWERTUNG UND AUSBLICK

Die Identifikation schnell-progredienter Formen der AMD ist nicht nur für die Selektion von Patienten für klinische Studien notwendig, sondern wird zukünftig auch an Bedeutung für Therapieentscheidungen gewinnen. Um die Wirtschaftlichkeit möglicher neuer therapeutischer Verfahren zu gewährleisten, wird auf Grund der hohen Prävalenz der AMD die Selektion von Patienten mit drohendem Verlust lebensqualitätsrelevanter Sehfunktion von zentraler Bedeutung sein. Auf Grund der hohen Komplexität und Variabilität der AMD ist anzunehmen, dass hierbei automatisierte sowie semi-automatisierte Verfahren die ärztliche Untersuchung komplementieren werden. Zur Entwicklung solcher Auswertungsalgorithmen sollen unter anderem im Rahmen der EU-geförderten MACUSTAR-Studie 750 Patienten mit intermediärer AMD über drei Jahre in sieben europäischen Ländern mit neusten, hochauflösenden Bildgebungsmodalitäten und funktionellen Tests untersucht werden.

FÖRDERUNG

- Prof. Dr. Frank G. Holz, Prof. Dr. Robert P. Finger: MACUSTAR (EU Innovative Medicines Initiative 2/Horizon 2020);
- Prof. Dr. Steffen Schmitz-Valckenberg: Molekulare Diagnostik der AMD (Bundesministerium für Bildung und Forschung [FKZ 13N10349]);
- Dr. Julia S. Steinberg (Erster Betreuer: Prof. Dr. Steffen Schmitz-Valckenberg): Untersuchung retikulärer Drusen bei Früh- und Spätformen altersabhängiger Makuladegeneration mittels hochauflösender in-vivo Bildgebung

(Gertrud Kusen-Stiftung, Medizinische Fakultät der Universität Bonn Nachwuchsgruppen-Förderung [O-137.0021]);

- Dr. Sarah H. Thiele (Erster Betreuer: Prof. Dr. Steffen Schmitz-Valckenberg): Morphologische und funktionelle Charakterisierung von Hochrisikoprofilen bei intermediärer altersabhängiger Makuladegeneration (Medizinische Fakultät der Universität Bonn GEROK-Stipendium [O-137.0026]);
- Susanne Welker (Erster Betreuer: Prof. Dr. Robert P. Finger): Risikofaktoren für die Progression der intermediären AMD (Else-Kröhner-Fresenius Stiftung GSO/EKFS 16, Jackstädt-Stiftung);
- PD Dr. Monika Fleckenstein: Directional Spread in Geographic Atrophy (Deutsche Forschungsgemeinschaft FL 658/4-1 und FL 658/4-2);
- Prof. Dr. Frank G. Holz: Fundus Autofluorescence Imaging in Age-related Macular Degeneration (Deutsche Forschungsgemeinschaft HO 1926/3-1);
- Dr. Maximilian Pfau (Erster Betreuer: PD Dr. Monika Fleckenstein): Klinische Psychophysik und hochauflösende strukturelle Bildgebung bei geographischer Atrophie infolge altersabhängiger Makuladegeneration (Medizinische Fakultät der Universität Bonn GEROK-Stipendium [O-137.0022] und Nachwuchsgruppen-Förderung [O-137.0025]);
- Cand. med. Lukas Goerd (Erster Betreuer: PD Dr. Monika Fleckenstein): Evaluation von Risikofaktoren zur Progression der geographischen Atrophie (DOG Promotionsstipendium 2016)

LITERATUR

1. Lim L.S., Mitchell P., Seddon J.M., Holz F.G., Wong T.Y. Age-related macular degeneration. *Lancet* (London, England). 2012; 379 (9827): 1728–1738.
2. Maguire M.G., Martin D.F., Ying G.-S., Jaffe G.J., Daniel E., Grunwald J.E., et al. Five-Year Outcomes with Anti-Vascular Endothelial Growth Factor Treatment of Neovascular Age-Related Macular Degeneration: The Comparison of Age-Related Macular Degeneration Treatments Trials. *Ophthalmology*. 2016; 123 (8): 1751–1761.
3. Csaky K., Ferris F. 3rd, Chew E.Y., Nair P., Cheetham J.K., Duncan J.L. Report From the NEI/FDA Endpoints Workshop on Age-Related Macular Degeneration and Inherited Retinal Diseases. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci*. 2017; 58 (9): 3456–3463.
4. Pfau M., Lindner M., Fleckenstein M., Finger R.P., Rubin G.S., Harmening W.M., et al. Test-Retest Reliability of Scotopic and Mesopic Fundus-Controlled Perimetry Using a Modified MAIA (Macular Integrity Assessment) in Normal Eyes. *Ophthalmologica*. 2017; 237 (1): 42–54.
5. Pfau M., Lindner M., Müller P.L., Birtel J., Finger R.P., Harmening W.M., et al. Effective Dynamic Range and Retest Reliability of Dark-Adapted Two-Color Fundus-Controlled Perimetry in Patients With Macular Diseases. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci*. 2017; 58 (6): BIO158–BIO167.
6. Schmitz-Valckenberg S., Brinkmann C.K., Alten F., Herrmann P., Stratmann N.K., Göbel A.P., et al. Semiautomated image processing method for identification and quantification of geographic atrophy in age-related macular degeneration. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci*. 2011;

- 52 (10): 7640–6. Available at: <http://iovs.arvojournals.org/article.aspx?articleid=2165771>.
7. Pfau M., Goerdt L., Schmitz-Valckenberg S., Mauschitz M.M., Mishra D.K., Holz F.G., et al. Green-Light Autofluorescence Versus Combined Blue-Light Autofluorescence and Near-Infrared Reflectance Imaging in Geographic Atrophy Secondary to Age-Related Macular Degeneration. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 2017; 58 (6): BIO121–BIO130.
 8. Ferris F.L., Davis M.D., Clemons T.E., Lee L.-Y., Chew E.Y., Lindblad A.S., et al. A simplified severity scale for age-related macular degeneration: AREDS Report No. 18. *Arch. Ophthalmol.* (Chicago, Ill. 1960). 2005; 123 (11): 1570–1574.
 9. Schlanitz F.G., Baumann B., Kundi M., Sacu S., Baratsits M., Scheschy U., et al. Drusen volume development over time and its relevance to the course of age-related macular degeneration. *Br. J. Ophthalmol.* 2017; 101 (2): 198–203.
 10. Spaide R.F. Outer Retinal Atrophy After Regression of Subretinal Drusenoid Deposits As a Newly Recognized Form of Late Age-Related Macular Degeneration. *Retina*. 2013; 33 (9): 1800–1808. Available at: <http://content.wkhealth.com/linkback/openurl?sid=WKPTLP:landingpage&an=00006982-201310000-00007>.
 11. Steinberg J.S., Saßmannshausen M., Fleckenstein M., Fimmers R., Oishi A., Holz F.G., et al. Correlation of Partial Outer Retinal Thickness with Scotopic and Mesopic Fundus-Controlled Perimetry in Patients with Reticular Drusen. *Am. J. Ophthalmol.* 2016; 168: 52–61.
 12. Sadigh S., Cideciyan A.V., Sumaroka A., Huang W.C., Luo X., Swider M., et al. Abnormal thickening as well as thinning of the photoreceptor layer in intermediate age-related macular degeneration. *Investig. Ophthalmol. Vis. Sci.* 2013; 54 (3): 1603–1612.
 13. Steinberg J.S., Fitzke F.W., Fimmers R., Fleckenstein M., Holz F.G., Schmitz-Valckenberg S. Scotopic and Photopic Microperimetry in Patients With Reticular Drusen and Age-Related Macular Degeneration. *JAMA Ophthalmol.* 2015; 133 (6): 690–697.
 14. Shah N., Dakin S.C., Dobinson S., Tufail A., Egan C.A., Anderson R.S. Visual acuity loss in patients with age-related macular degeneration measured using a novel high-pass letter chart. *Br. J. Ophthalmol.* 2016; 100 (10): 1346–1352.
 15. Goerdt L., Pfau M., Lindner M., Thiele S., Nadal J., Schmid M., et al. Lesion area, perimeter and diameter as prognostic markers for the progression of geographic atrophy (GA) secondary to age-related macular degeneration. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 2017; 58(8): 40. Available at: <http://dx.doi.org/>.

Dr. Maximilian Pfau legte nach einem Auslandschuljahr in Wellington (England) im Jahr 2008 im Alter von 16 Jahren in Osterburken seine Abiturprüfung ab und studierte ab dem Wintersemester 2008 Humanmedizin an der Ruprecht-Karls-Universität in Heidelberg. Nach dem Physikum wurde er in die Studienstiftung des deutschen Volkes aufgenommen, promovierte in der Biochemie (Doktorvater: Prof. Dr. Thomas H. Söllner) und absolvierte ein DAAD-gefördertes Auslandsjahr am Karolinska Institut in Stockholm (Schweden). Im Praktischen Jahr sammelte er die erste Forschungserfahrung in der Ophthalmologie unter Betreuung von Prof. Dr. Matthias D. Becker und Prof. Stephan Michels in Zürich (Schweiz). Zwischen dem zweiten Staatsexamen im Mai 2015 und dem Beginn der Facharztausbildung folgte ein dreimonatiger Forschungsaufenthalt am Doheny Eye Institute der University of California in Los Angeles (USA) unter Betreuung von Prof. Dr. Srinivas R. Sadda. Seit November 2015 ist Dr. Pfau als Assistenzarzt an der Universitäts-Augenklinik Bonn (Direk-

tor: Prof. Dr. Frank G. Holz) tätig. Seine Forschungsschwerpunkte sind unter der Betreuung durch PD Dr. Monika Fleckenstein und Prof. Steffen Schmitz-Valckenberg funktionelle und strukturelle Studienendpunkte in geographischer Atrophie infolge altersabhängiger Makuladegeneration. Er erhielt 2016 den Examenspreis der Dr. Rolf M. Schwiete Stiftung als bester deutscher Absolvent des Basic Science Examen des »International Council of Ophthalmology« sowie 2017 einen Travel Grant der »Association for Research in Vision and Ophthalmology« und den Dr. Werner-Jackstädt-Nachwuchspreis der Retinologischen Gesellschaft.



Dr. med. Maximilian Pfau
 Universitäts-Augenklinik Bonn
 Ernst-Abbe-Straße 2
 53127 Bonn
 Telefon: 0228 287-11495
 Telefax: 0228 287-15611
 E-Mail: Maximilian.Pfau@ukbonn.de

KONTAKT



Alimera Sciences Ophthalmologie GmbH

Investigator Initiated Clinical Trials am Beispiel des SUPER-Trial: SGLT2-Inhibitoren senken die Mortalität – verringern sie auch die diabetische Retinopathie?

DR. AMELIE PIELEN¹, DR. LISA DANZMANN¹, MARITA AWE¹,
DR. BERND JUNKER¹, DR. MARCUS MAY²,
PROF. DR. CHRISTOPH SCHINDLER², PROF. DR. CARSTEN FRAMME, MBA¹

1 Universitätsklinik für Augenheilkunde,
Medizinische
Hochschule Hannover

2 Clinical Research Center (CRC)
Hannover,
Core Facility,
Medizinische
Hochschule Hannover

In Deutschland sind mehr als 7 Millionen Einwohner an Diabetes mellitus erkrankt, 95 % davon an Typ 2 [1]. Die Prävalenz und Inzidenz steigen, Zahlen aus 2017 schätzen, dass jede 10. Person in Deutschland betroffen ist. Die diabetische Retinopathie ist eine relevante mikrovaskuläre Begleiterscheinung, die weltweit führende Ursache für vaskuläre retinale Veränderungen bis hin zur Erblindung. Eine Sehverschlechterung resultiert vor allem aus dem sich oftmals entwickelnden diabetischen Makulaödem, aber auch die ischämische Makulopathie und die verschiedenen Stadien und Komplikationen der proliferativen diabetischen Retinopathie bedrohen das Sehen.

Die Nationale Versorgungsleitlinie der Bundesärztekammer, der Kassenärztlichen Bundesvereinigung und der Arbeitsgemeinschaft der Wissenschaftlichen Medizinischen Fachgesellschaften weist zum Thema Diabetes explizit eine Leitlinie Prävention und Therapie von Netzhautkomplikationen bei Diabetes aus [2].

In der medikamentösen Therapie des Diabetes mellitus Typ 2 gehören Inhibitoren der natrium-abhängigen Glucosetransporter (SGLT2) zu den modernsten Behandlungsoptionen. Die Transporter liegen im proximalen Tubulus der Niere und sind für 90 % der Rückresorption der filtrierten Glucose aus dem Primärharn verantwortlich [3, 4]. SGLT2-Inhibitoren senken die Glucosereabsorption und führen zur Ausscheidung von Glucose über den Urin begleitet von einer osmotischen Diurese. Dadurch sinkt der Blutzuckerspiegel.

DER SGLT2-INHIBITOR EMPAGLIFLOZIN

In klinischen Sicherheitsstudien, sogenannten kardiovaskulären OUTCOME Studien, müssen neue Antidiabetika auf ihre Sicherheit getestet werden. In der EMPA-REG-OUTCOME Studie wurde der SGLT2-Inhibitor Empagliflozin (Jardiance®, Böhlinger Ingelheim) untersucht [5]. Mehr als 7000 Probanden erhielten Empagliflozin 10 mg oder 25 mg versus Placebo über 3 Jahre. Der pri-

märe Endpunkt bestand aus einer Kombination von kardiovaskulärem Tod, nicht-tödlichem Myokardinfarkt und nicht-tödlichem Schlaganfall. Die Ergebnisse zeigten, dass Empagliflozin das Risiko für diese kardiovaskulären Ereignisse um 14 % senkte. Betrachtet man die sekundären Endpunkte, so sind die Effekte hinsichtlich makrovaskulärer Risikoreduktion noch größer: Die kardiovaskuläre Mortalität wurde um 38 % gesenkt, die Gesamtmortalität um 32 %, die Hospitalisierung wegen Herzinsuffizienz wurde um 35 % reduziert. Der HbA_{1c} Wert wurde reduziert, ohne dass eine Zunahme des Hypoglykämierisikos beobachtet wurde.

Es gibt umfassende Überlegungen, worauf diese makrovaskulären protektiven Effekte physiologisch beruhen könnten [6]: Im Mittelpunkt stehen die Glucosurie und die Natriurese, die über viele mögliche Effekte eine kardiale und renale Protektion bewirken, darunter die Reduktion von Inflammation und Glucosetoxizität in den Gefäßen, positive Effekte auf die kardiale Kontraktilität und den Rhythmus, oder die Atherosklerose.

MIKROVASKULÄRE EFFEKTE DURCH SGLT2-INHIBITION – DER SUPER-TRIAL

Unklar und in den pathophysiologischen Erklärungsmodellen bislang weitgehend unberücksichtigt sind die möglichen positiven Effekte und Mechanismen der SGLT2-Inhibitoren auf die Mikrozirkulation. Durch die Senkung der Glukoselast im Gefäßbett der Retina sind eine Senkung der Insulinresistenz und eine Verbesserung der Endothelfunktion zu erwarten. Die Mikrozirkulation kann am Auge nicht-invasiv im Gefäßbett der Retina direkt untersucht werden. Die MHH Universitätsklinik für Augenheilkunde und die MHH Core Facility des Clinical Research Center (CRC) Hannover haben eine eigen-initiierte klinische Studie auf den Weg gebracht, die finanziell durch Böhlinger Ingelheim unterstützt wird: *SUPER-Trial, SGLT2-inhibition with Empagliflozin reduces progression of diabetic retinopathy in patients*

with high risk of diabetic macular edema (EudraCT 2016-000825-38; www.clinicaltrials.gov, NCT02985242 [7]). Patienten mit Diabetes Typ 2 und diabetischer Retinopathie ohne behandlungsbedürftiges Makulaödem werden prospektiv in 2 Arme randomisiert und erhalten placebo-kontrolliert und doppelt-verblindet entweder den SGLT2-Inhibitor Empagliflozin oder den Komparator Glimperid über 12 Monate. Ein Auge dient als Studienauge und wir beobachten die diabetische Retinopathie und bestimmen die Aktivität anhand der Bildung und Veränderung von Mikroaneurysmata am hinteren Pol. Man spricht dabei von der sogenannten Mikroaneurysmata-Formationsrate (MAFR). Diese MAFR stellt ein quantifizierbares Maß und ein Marker für die Progression der diabetischen Retinopathie dar, welcher auch von der EMA (European Medical Agency, europäische Arzneimittelzulassungsbehörde) als Biomarker und Endpunkt in klinischen Studien empfohlen wird [8–10] (letter of support for micro-aneurysm formation rate (MAFR) biomarker: EMA/775397/2014 [11]). Der SGLT2-Inhibitor Empagliflozin ist nach derzeitiger Studienlage ein vielversprechender neuer Baustein in der Diabetestherapie. Im SUPER-Trial wird untersucht, ob den bereits nachgewiesenen positiven makrovaskulären Effekten vergleichbar positive mikrovaskuläre Effekte bei der diabetischen Retinopathie in der retinalen Mikrozirkulation nachgewiesen werden können.

AUSBLICK – ZUKUNFT DER KLINISCHEN FORSCHUNG

Klinische Studien aller Entwicklungs-Phasen, insbesondere aber frühe klinische Studien zur Untersuchung von Wirksamkeit und Verträglichkeit neu entwickelter Wirkstoffe benötigen eine professionelle Umgebung im Rahmen eines hochentwickelten GXP Qualitätssicherungssystems, um erfolgreich durchgeführt werden zu können. Das Clinical Research Center (CRC) Hannover, das gemeinsam von der Medizinischen Hochschule Hannover (MHH) und den beiden Bundesforschungseinrichtungen Fraunhofer Institut für Toxikologie und Experimentelle Medizin (ITEM) und Helmholtz Zentrum für Infektionsforschung (HZI) betrieben wird, bietet eine einzigartige Infrastruktur und ein insbesondere auf die Durchführung aufwändiger und komplexer früher klinischer Studien spezialisiertes medizinisches Team der MHH Core Facility, welches die Durchführung von klinischen Studien von Phase 1 bis 4 in Kooperation mit allen Kliniken und Fachabteilungen der MHH ermöglicht (www.crc-hannover.de). Dabei werden sowohl industrie-sponserte Forschung als auch eigen-initiierte Studien unter der Sponsorschaft der MHH unterstützt und gemeinsam realisiert.

Im CRC arbeiten drei starke Partner unter demselben Dach zusammen: die Fraunhofer Gesellschaft

mit Schwerpunkt Atemwegsforschung (Fraunhofer ITEM), das Helmholtz-Zentrum für Infektionsforschung, welches die epidemiologische Untersuchung Nationale Kohorte umsetzt, und die Medizinische Hochschule Hannover. Letztere schließt mit dem CRC eine wichtige Lücke in der translationalen Forschung. Klinische Forschung im CRC kann die Lücke zwischen universitärer Laborforschung und klinischen Studien schließen und ist damit ein Modell für die Zukunft klinischer Studien. Das Team der Universitätsklinik für Augenheilkunde arbeitet seit 2013 erfolgreich mit dem Team der MHH Core Facility des CRC in zahlreichen klinischen Studien zusammen. SUPER-Trial ist die erste gemeinsame eigen-initiierte Studie, deren Leitung partnerschaftlich sowohl in der Augenklinik, LKP Dr. Amelie Pielen, als auch im CRC, Prof. Dr. Christoph Schindler, Professur frühe klinische Studien und Arzneimittelforschung liegt.

LITERATUR

1. (2015) Deutscher Gesundheitsbericht Diabetes 2016 erschienen. In: DiabetesDE - Dtsch. Diabetes-Hilfe. <https://www.diabetesde.org/content/deutscher-gesundheitsbericht-diabetes-2016-erschieneen>. Accessed 21 Aug 2017.
2. AWMF: Detail. <http://www.awmf.org/leitlinien/detail/ll/nvl-001g.html>. Accessed 21 Aug 2017; www.versorgungsleitlinien.de, www.awmf-leitlinien.de, 2. Auflage, 2015, Version 2, AWMF-Register-Nr.: nvl-001b.
3. Gerich J.E. (2010) Role of the kidney in normal glucose homeostasis and in the hyperglycaemia of diabetes mellitus: therapeutic implications. *Diabet Med J Br Diabet Assoc* 27: 136–142. doi: 10.1111/j.1464-5491.2009.02894.x.
4. Bakris G.L., Fonseca V.A., Sharma K., Wright E.M. (2009) Renal sodium-glucose transport: role in diabetes mellitus and potential clinical implications. *Kidney Int* 75: 1272–1277. doi: 10.1038/ki.2009.87.
5. Zinman B., Wanner C., Lachin J.M., et al. (2015) Empagliflozin, Cardiovascular Outcomes, and Mortality in Type 2 Diabetes. *N Engl J Med* 373: 2117–2128. doi: 10.1056/NEJMoa1504720.
6. Heerspink H.J.L., Perkins B.A., Fitchett D.H., et al. (2016) Sodium Glucose Cotransporter 2 Inhibitors in the Treatment of Diabetes Mellitus: Cardiovascular and Kidney Effects, Potential Mechanisms, and Clinical Applications. *Circulation* 134: 752–772. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.116.021887.
7. Empagliflozin Reduces Progression of Diabetic Retinopathy in Patients With High Risk of Diabetic Macular Edema – Full Text View – ClinicalTrials.gov. <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02985242?term=SUPER+Trial&cond=Diabetes&rank=1>. Accessed 21 Aug 2017.
8. Ribeiro M.L., Nunes S.G., Cunha-Vaz JG (2013) Microaneurysm turnover at the macula predicts risk of development of clinically significant macular edema in persons with mild nonproliferative diabetic retinopathy. *Diabetes Care* 36: 1254–1259. doi: 10.2337/dc12-1491.
9. Nunes S., Pires I., Rosa A., et al. (2009) Microaneurysm turnover is a biomarker for diabetic retinopathy progres-



KONTAKT



sion to clinically significant macular edema: findings for type 2 diabetics with nonproliferative retinopathy. *Ophthalmol J Int Ophthalmol Int J Ophthalmol Z Augenheilkd* 223: 292–297. doi: 10.1159/000213639.

10. Haritoglou C., Kernt M., Neubauer A., et al. (2014) Microaneurysm formation rate as a predictive marker for progression to clinically significant macular edema in nonproliferative diabetic retinopathy. *Retina Phila Pa* 34: 157–164. doi: 10.1097/IAE.0b013e318295f6de.

11. European Medicines Agency (EMA) (2015) Letter of support for micro-aneurysm formation rate (MAFR) biomarker. EMA/775397/2014; 07 January 2015; http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Other/2015/01/WC500180633.pdf.

Dr. Amelie Pielen leitet das Team klinische Studien an der Universitätsklinik für Augenheilkunde der Medizinischen Hochschule Hannover unter der Leitung von Prof. Dr. Carsten Framme, MBA. Nach dem Studium der Humanmedizin in Bonn und Freiburg folgte die Weiterbildung zur Fachärztin für Augenheilkunde an der Universitäts-Augenklinik Freiburg unter der Leitung von Prof. Dr. Thomas Reinhard. 2005 erfolgte die Promotion zum Dr. med. mit dem Thema »Neuroprotektion retinaler Ganglienzellen«. Als Forschungsschwerpunkte kamen während der klinischen Ausbildung vor

allem die medikamentöse und chirurgische Therapie von Retinaerkrankungen hinzu, sowie die retinale Bildgebung durch Angiographie und optische Kohärenztomographie. Der Forschungsfocus liegt auf retinalen arteriellen und venösen Gefäßverschlüssen. Als Prüffärztin arbeitete sie in über 30 klinischen Studien an der Universitäts-Augenklinik Freiburg. 2013 wechselte sie als Oberärztin an die Universitätsklinik für Augenheilkunde der Medizinischen Hochschule Hannover unter der Leitung von Prof. Dr. Carsten Framme, MBA und baute das Team für klinische Studien auf. In Kooperation mit dem Clinical Research Center Hannover unter der Leitung von Prof. Dr. Christoph Schindler, Leiter der Core Facility, Professur frühe klinische Studien und Arzneimittelforschung, wurden seit 2013 zahlreiche klinische Studien mit dem Schwerpunkt Therapie von Makulaerkrankungen realisiert. SUPER-Trial ist die erste eigen-initiierte klinische Studie in dieser Kooperation. Sie engagiert sich in der Arbeitsgemeinschaft klinische Studien der Deutschen Ophthalmologischen Gesellschaft DOG.

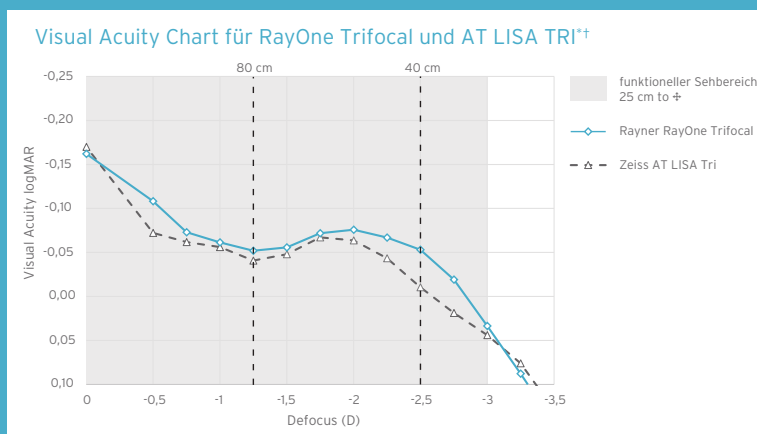
Dr. med. Amelie Pielen

Leitung Klinische Studien
 Universitätsklinik für Augenheilkunde
 Medizinische Hochschule Hannover
 Carl-Neuberg-Straße 1
 30625 Hannover
 Telefon: 0511 532-3060
 Telefax: 0511 532-161053
 E-Mail: Augenlinik.Studien@mh-hannover.de
<http://www.mh-hannover.de/augenlinik.html>
<http://www.crc-hannover.de>



Die Neue RayOne® Trifocal IOL

Das vorgeladene System, das immer wieder Leistung zeigt



† 30 gesunde Probanden randomisiert, Beobachter und Subjekt maskiert, Crossover Vergleichsstudie mit IOL Simulator - Daten veröffentlicht | Kein statistischer Unterschied zwischen den beiden trifocal IOLs *Alle Marken sind Eigentum Ihrer jeweiligen Inhaber.

Unser patentierter, diffraktiv trifokaler Step reduziert den Lichtverlust auf nur 11%

- Sanfter Übergang von Nah- zu Intermediär- und Fernsicht (Lichtverteilung: 52% Ferne, 22% Intermediär, 26% Nah)
- Bewährte Rayner C-Loop IOL Plattform
- Vorgeladenes System mit 1.65 mm Spitze



Entdecken Sie warum RayOne® eine Klasse für sich ist und besuchen Sie rayner.com/rayone

Optimierung der Anti-VEGF Therapie bei AMD

DR. MED. MAHDY RANJBAR, PROF. DR. MED. SALVATORE GRISANTI

Klinik für
Augenheilkunde
Universität zu Lübeck

Die neovaskuläre altersbedingte Makuladegeneration (AMD) ist die führende Ursache für Erblindung bei Individuen über 50 Jahren in den Industrieländern. Alleine in Deutschland beträgt die Inzidenz 30.000 Patienten jährlich [1].

Seitdem der Gefäßwachstumsfaktor VEGF (vascular endothelial growth factor) als Schlüsselprotein in der Pathophysiologie der exsudativen AMD identifiziert wurde, gelang es durch verschiedene medikamentöse Substanzen wie Aflibercept, Bevacizumab und Ranibizumab, welche primär VEGF-A inhibieren, den Visusverlust infolge von choroidaler Neovaskularisation (CNV) und Exsudation zu verhindern [2]. Die intravitreale operative Medikamentengabe (IVOM) dieser Inhibitoren gilt derzeit als Gold-Standard und effektivste Therapie, bedarf aber regelmäßiger augenärztlicher Kontrollen sowie rechtzeitige und wiederholte Injektionen in den Glaskörperraum. Da VEGF aber auch eine physiologische Bedeutung in der Gewebshomöostase hat und an zahlreichen physiologischen Prozessen beteiligt ist, kann die medikamentöse Inhibition auch Auswirkungen auf das physiologische Gleichgewicht im Gewebe haben [3, 4].

Besonders in Bezug auf eine Anti-VEGF vermittelte Atrophie des retinalen Pigmentepithels (RPE) steht

die intrazelluläre Aufnahme der VEGF-Inhibitoren im Focus [5]. Wir konnten sowohl mit der konventionellen und konfokalen Fluoreszenzmikroskopie (**Abbildung 1**) als auch erstmals mit der Zwei-Photonenmikroskopie sowie der Fluoreszenzlebensdauer-Mikroskopie (**Abbildung 2**; Kooperation mit Frau Dr. Miura; Klinik für Augenheilkunde & Institut für Biomedizinische Optik, Universität zu Lübeck) die Aufnahme aller aktuell verwendeter VEGF Inhibitoren nachweisen [6, 7].

In einem Milieu erhöhten oxidativen Stresses, führt dies zu einer Reduktion der Proliferation und des Metabolismus des RPE sowie konsekutiv zu einer vermehrten Apoptose, da gerade unter diesen Bedingungen das VEGF als Überlebensfaktor wirkt (**Abbildung 3**).

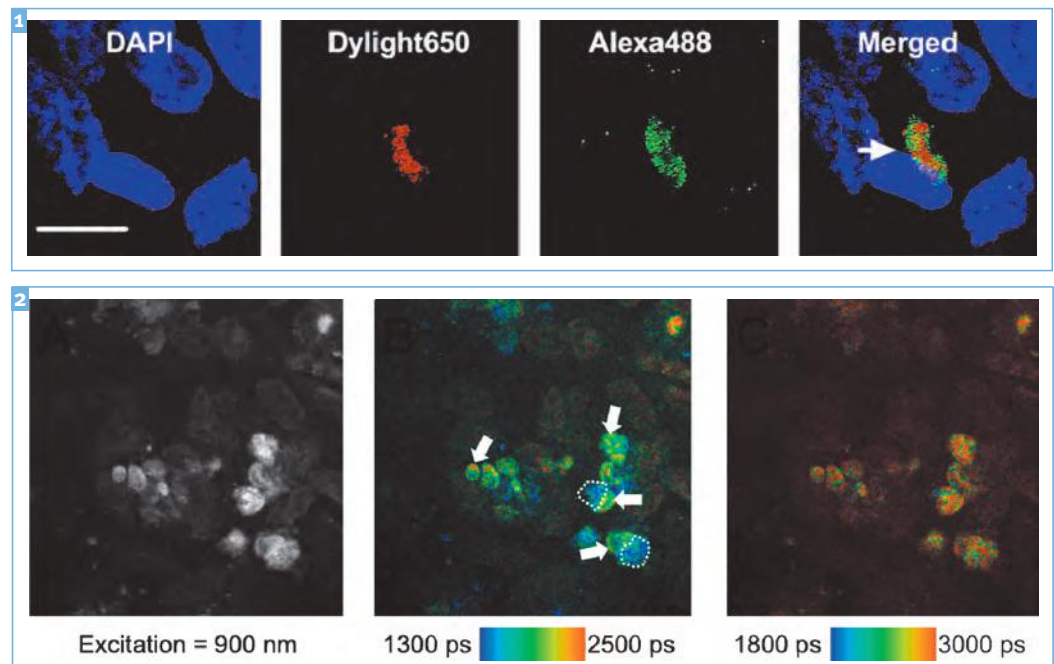
Nicht nur aufgrund des Fortschreitens der geographischen Atrophie unter der Anti-VEGF Therapie, sondern auch im Kontext der demographischen Entwicklung einer alternden Bevölkerung, des kumulativen Infektionsrisikos, der häufig eintretenden Therapiemüdigkeit, des hohen Morbiditätsfaktors und der limitierten finanziellen Reserven des Gesundheitssystems ist eine reduzierte Injektionsfrequenz ohne nachteilige Entwicklung der Sehschärfe prinzipiell sehr wünschenswert [1, 8].

Abbildung 1

■ Konfokale Fluoreszenzmikroskopie des mit Dylight650-gelabelten Ranibizumab in den Endosomen (Alexa488) der RPE-Zellen. Zellkerne sind mit DAPI gefärbt.

Abbildung 2

■ Die Zwei-Photonen-Mikroskopie zeigt bei einer Exzitation von 900nm eine Visualisierung sowohl der Endosomen als auch des Bevacizumab in den Endosomen. Die Fluoreszenzlebensdauer-Mikroskopie kann anhand der Fluoreszenzlebensdauer zwischen den Endosomen (Pfeil) und dem eingelagerten Bevacizumab (gestrichelte Fläche) unterscheiden. Die Analyse der Tauz-Komponente zeigt ein spezifisches Fluoreszenzsignal, welches dem Bevacizumab in den Endosomen zuzuordnen ist.



Die stereotaktische Radiotherapie (SRT) mittels IRay®-System erhebt diesen Anspruch und ist seit Juni 2015 als »second line« Therapie in die Empfehlung der Fachgesellschaften zur Behandlung der exsudativen AMD aufgenommen. Es handelt sich um ionisierende Strahlung (Röntgenstrahlen), deren anti-inflammatorische, anti-fibrotische und vor allem anti-angiogene Eigenschaften den Verlauf der AMD günstig beeinflussen sollen [9].

In der randomisierten, doppelt-maskierten, kontrollierten Zulassungsstudie (INTREPID) konnte gezeigt werden, dass eine einmalige SRT mit dem IRay®-System zu einer Halbierung der Injektionsanzahl über 12 Monate im Vergleich zur Kontrollgruppe (Anti-VEGF Monotherapie) geführt hat, ohne sich nachteilig auf die Sehschärfe ausgewirkt zu haben [10]. Diese Daten konnten in einer Real-life-Studie reproduziert werden [11] (**Abbildung 4**).

Trotz der positiven klinischen Daten wird die SRT in der ophthalmologischen Gesellschaft noch sehr kontrovers diskutiert. In diesem Kontext wird auf potentielle strahlenbedingte Nebenwirkungen hingewiesen. Foveoläre mikrovaskuläre Veränderungen sind mit einer Wahrscheinlichkeit von 1% über einen Zeitraum von 2 Jahren nach Behandlung beschrieben, müssen aber von AMD-assoziierten Gefäßveränderungen differenziert werden [10]. Im Rahmen der Behandlung unserer Patienten wird der Sicherheitsaspekt von uns sehr kritisch untersucht. Die morphologische Evaluation des Retina-RPE-Choriokapillaris-Komplexes innerhalb des ersten Jahres nach SRT mit der optischen Kohärenztomographie inklusive Autofluoreszenz-Aufnahmen zeigte keine Atrophie dieser Gewebe.

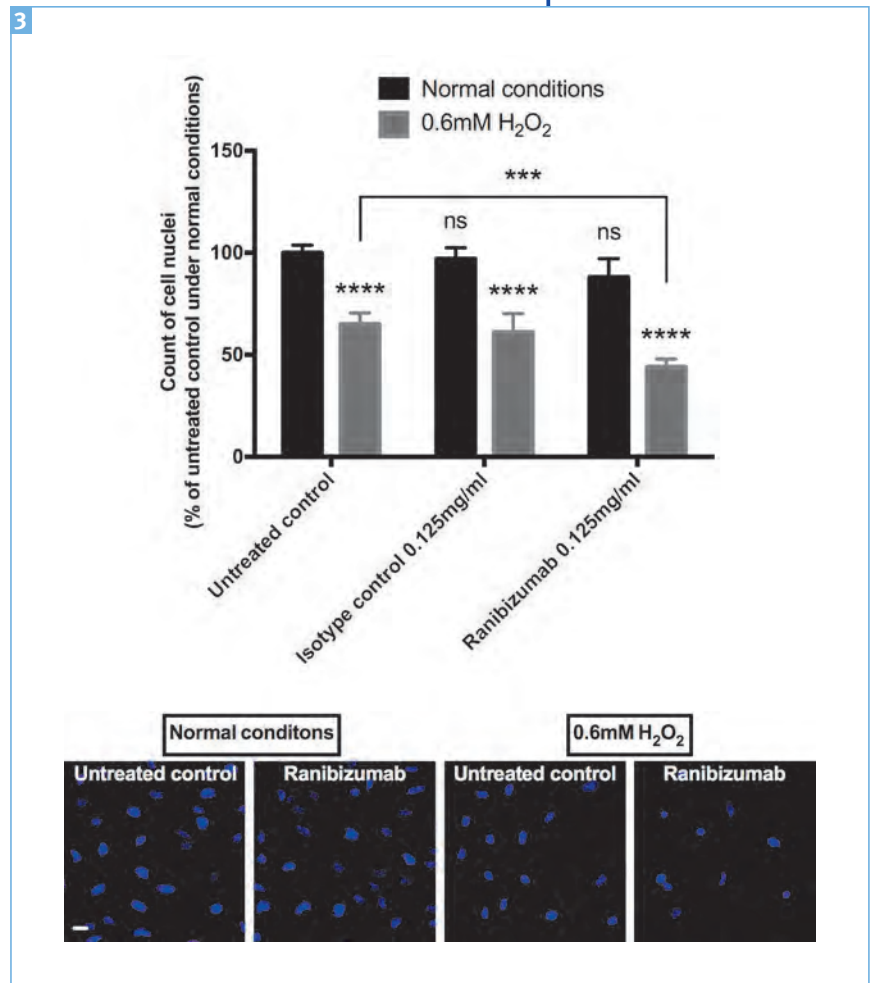


Abbildung 3

In der Zellkultur führt die Inhibition des VEGF in einem Milieu erhöhten oxidativen Stresses zu einer signifikant reduzierten Proliferation.

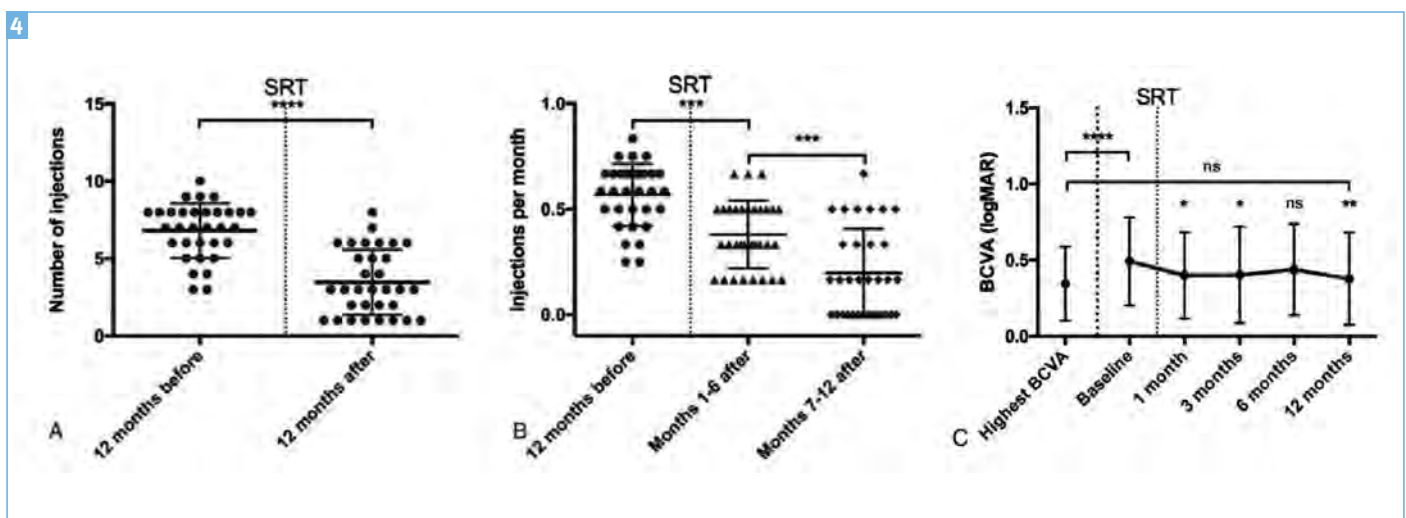


Abbildung 4

(A) Real-life-Ergebnisse zeigen eine durchschnittliche Halbierung der jährlichen Injektionen nach SRT im Vergleich zum Vorjahr. (B) Der SRT-Effekt trat in der Regel verzögert in der zweiten Jahreshälfte nach SRT ein. (C) Der Visus verbesserte sich, war aber nicht signifikant besser als unter Anti-VEGF Monotherapie, jedoch mit deutlich weniger Injektionen.

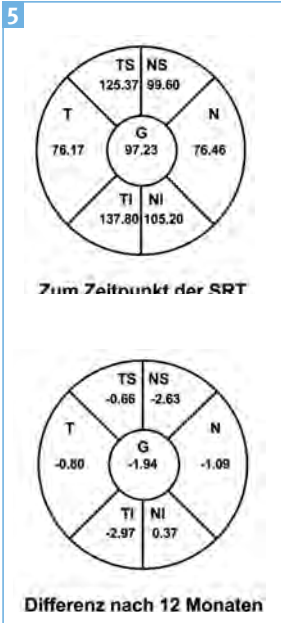


Abbildung 5

Die durchschnittliche peripapilläre retinale Nervenfaserschichtdicke (μm) zeigt innerhalb des ersten Jahres nach SRT keine signifikante Atrophie.

Die Evaluation der peripapillären retinale Nervenfaserschichtdicke, welche sowohl im Rahmen einer Retinopathie als auch Optikusneuropathie abnimmt, zeigte innerhalb des ersten Jahres nach SRT keine signifikanten Veränderungen (Abbildung 5) [12]. Dennoch bleibt eine langfristige Nachsorge und Evaluation der SRT-behandelten Patienten essentiell.

Im Zuge der häufig vorliegenden seelischen Anspannung der Patienten, des hohen Morbiditätsfaktors und der häufig eintretenden Therapiemüdigkeit bei den Injektionen, musste auch die Akzeptanz der Strahlentherapie überprüft werden. Die Patienten empfinden die SRT generell sehr positiv (Abbildung 6) [13]. Sowohl die »ungewohnte« Prozedur wird gut angenommen, als auch die individuellen Ergebnisse sind zufriedenstellend. Letzteres hängt vor allem von einer verständlichen Aufklärung mit der Definition realistischer Therapieziele ab.

Unabhängig davon sind jedoch weitere Daten notwendig, um die SRT als adjuvantes Verfahren zur Behandlung der neovaskulären AMD intensiver beurteilen zu können. Das Einrichten des IRay-Registers in Zusammenarbeit mit retina.net und dem Zentrum für Klinische Studien (ZKS) Köln ist hierbei ein wichtiger Schritt, der diesbezüglich weitere Informationen liefern wird.

LITERATUR

- Holz F.G., Tadayoni R., Beatty S., Berger A., Cereda M. G., Cortez R., Hoyng C.B., Hykin P., Staurengi G., Helder S., Bogumil T., Heah T., Sivaprasad S. (2015) Multi-country real-life experience of anti-vascular endothelial growth factor therapy for wet age-related macular degeneration. *Br J Ophthalmol* 99: 220–226.
- Kaiser P.K. (2013) Emerging therapies for neovascular age-related macular degeneration: drugs in the pipeline. *Ophthalmology* 120: S11–15.
- Byeon S.H., Lee S.C., Choi S.H., Lee H.-K., Lee J.H., Chu Y.K., Kwon O.W. (2010) 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.* 51: 1190–1197.
- Grunwald J.E., Daniel E., Huang J., Ying G.-S., Maguire M.G., Toth C.A., Jaffe G.J., Fine S.L., Blodi B., Klein M.L., Martin A.A., Hagstrom S.A., Martin D.F., CATT Research Group (2014) Risk of geographic atrophy in the comparison of age-related macular degeneration treatments trials. *Ophthalmology* 121: 150–161.
- Klettner A.K., Kruse M.-L., Meyer T., Wesch D., Kabelitz D., Roeder J. (2009) Different properties of VEGF-antagonists: Bevacizumab but not Ranibizumab accumulates in RPE cells. *Graefes Arch. Clin. Exp. Ophthalmol.* 247: 1601–1608.
- Ranjbar M., Brinkmann M.P., Zapf D., Miura Y., Rudolf M., Grisanti S. (2016) Fc Receptor Inhibition Reduces Susceptibility to Oxidative Stress in Human RPE Cells Treated with Bevacizumab, but not Aflibercept. *Cell. Physiol. Biochem.* 38: 737–747.
- Ranjbar M., Brinkmann M.P., Tura A., Rudolf M., Miura Y., Grisanti S. (2016) Ranibizumab interacts with the VEGF-A/VEGFR-2 signaling pathway in human RPE cells at different levels. *Cytokine* 83: 210–216.
- Mantel I. (2015) Optimizing the Anti-VEGF Treatment Strategy for Neovascular Age-Related Macular Degeneration: From Clinical Trials to Real-Life Requirements. *Transl Vis Sci Technol* 4:6.
- Holz F.G., Engenhardt R., Bellmann C., Debus J., Völcker H.E. (1997) Stereotactic radiation therapy for subfoveal choroidal neovascularization secondary to age-related macular degeneration. *Front Radiat Ther Oncol* 30: 238–246.
- Jackson T.L., Chakravarthy U., Slakter J.S., Muldrew A., Shusterman E.M., O'Shaughnessy D., Arnoldussen M., Gertner M.E., Danielson L., Moshfeghi D.M. (2015) Stereotactic Radiotherapy for Neovascular Age-Related Macular Degeneration: Year 2 Results of the INTREPID Study. *Ophthalmology* 122: 138–145.
- Ranjbar M., Kurz M., Holzhey A., Melchert C., Rades D., Grisanti S. (2016) Stereotactic radiotherapy in neovascular age-related macular degeneration: Real-life efficacy and morphological evaluation of the outer retina-choroid complex. *Medicine (Baltimore)* 95: e5729.
- Ranjbar M., Kurz M., Holzhey A., Rades D., Grisanti S. (2017) Changes in peripapillary nerve fiber layer thickness after adjuvant stereotactic radiotherapy in patients with neovascular age-related macular degeneration. *Curr Eye Res* (in press).
- Kurz M., Rudolf M., Holzhey A., Neubauer A.S., Grisanti S., Ranjbar M. (2017) Patientenzufriedenheit nach stereotaktischer Radiotherapie bei exsudativer altersbedingter Makuladegeneration. *Klin Monatsbl Augenheilkd* (in press).

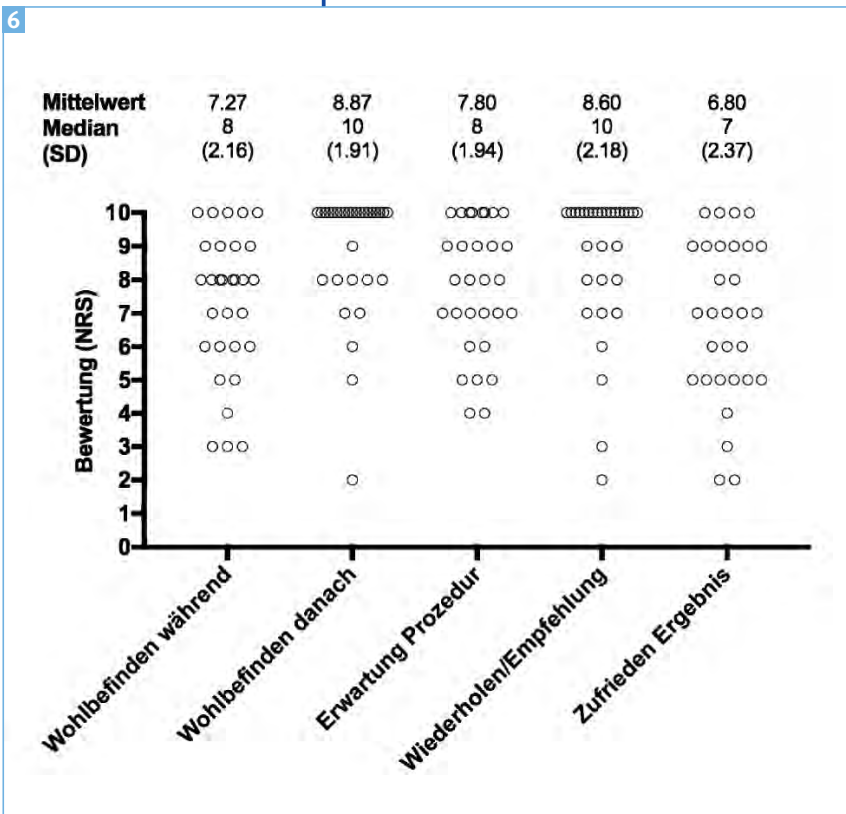


Abbildung 6

Die Patienten wurden mit einem Fragebogen gebeten, die SRT anhand verschiedener Parameter zu evaluieren.

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 im Jahr 1999 die Anerkennung als Facharzt und im Jahr 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.



Dr. med. Mahdy Ranjbar, Jahrgang 1984, ist seit 2016 als stellv. Klinikdirektor und leitender Oberarzt an der Univ.-Augenklinik Lübeck tätig. Dr. Ranjbar studierte Medizin an der Freiburger Albert-Ludwigs-Universität und promovierte dort zum Thema »Gezielte photodynamische Therapie mit in kationischen Liposomen enkapsuliertem Verteporfin im Laser-CNV-Mausmodell«. Nach seiner Approbation zum Arzt im Jahr 2010 begann er seine Facharztausbildung an der Univ.-Augenklinik Lübeck und erhielt hier 2015 seine Anerkennung als Facharzt für Augenheilkunde. Der wissenschaftliche Schwerpunkt seiner Arbeitsgruppe liegt zum einen in dem Einsatz stammzellbasierter Therapien für das Auge

sowie zum anderen in dem Verständnis und der Behandlung pathophysiologischer Angiogenese.



Dr. med. Mahdy Ranjbar

Klinik für Augenheilkunde
Campus Lübeck
Ratzeburger Allee 160 (Haus 30)
23538 Lübeck
E-Mail: mahdy.ranjbar@uksh.de

KONTAKT



Komplementsystem Veränderungen und Apoptose Mechanismen in Glaukom Modellen

DR. SABRINA REINEHR, DR. SANDRA KÜHN, DR. TERESA TSAI,
 PROF. DR. H. BURKHARD DICK, PRIV.-DOZ. DR. MED. STEPHANIE C. JOACHIM

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

Einer der häufigsten Erblindungsursachen, sowohl in Deutschland als auch weltweit, ist das Glaukom [1]. Obwohl die Krankheit häufig mit einem erhöhten Augeninnendruck assoziiert ist, erkranken ca. 30% der Patienten unabhängig davon [2]. Hieraus resultiert, dass neben der aktuellen Therapie mittels Drucksenkung für einen Großteil der Glaukompatienten eine effektive Behandlung fehlt. Daher versuchen Forscher mögliche Mechanismen, die zum Zelltod in der Retina und im Sehnerv führen, genauer zu verstehen, um neue Therapieansätze entwickeln zu können. Zu diesen Mechanismen zählen zum Beispiel Durchblutungsstörungen, toxische Komponenten, aber auch die Beteiligung des Immunsystems. So konnten bei Glaukompatienten veränderte Antikörpermuster im Serum und Kammerwasser identifiziert

werden [3–5]. Um zu klären, ob diese Antikörper am Zelltod beteiligt sind, wurde das Experimentelle Autoimmune Glaukommodell (EAG) entwickelt. In diesem Modell können mögliche immunologische Pathomechanismen, die unabhängig vom Augeninnendruck auftreten, analysiert werden. Einen Verlust der retinalen Ganglienzellen und die Degeneration des Sehnervens, beide Prozesse treten beim Glaukom auf, konnten in diesem EAG-Modell frühestens vier Wochen nach Immunisierung beobachtet werden [6]. Zusätzlich fand man, ähnlich wie bei Glaukompatienten, auch Ablagerungen von Antikörpern in der Retina [6]. Es ist möglich, dass durch diese Antikörper das Immunsystem, genauer gesagt das Komplementsystem, aktiviert wird und dieses dann zur Zellschädigung führt.

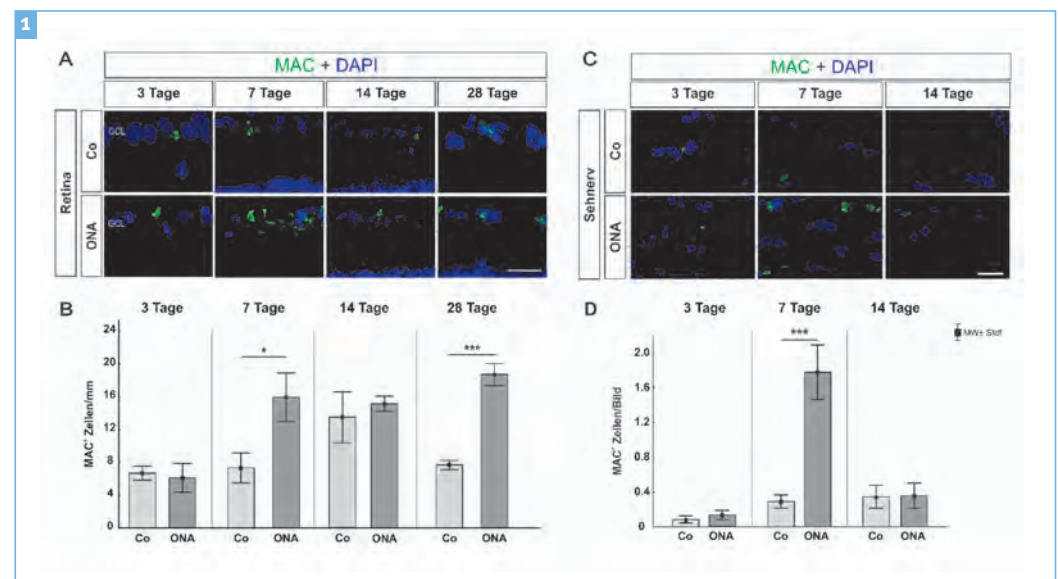


Abbildung 1

■ Aktivierung des terminalen Membranangriffskomplexes in Retina und Sehnerv.

A) Der Membranangriffskomplex (MAC) wurde auf retinalen Querschnitten in grün markiert. In blau sind die Zellkerne (DAPI) zu sehen. **B)** 7 Tage nach der ONA Immunisierung kam es zu einer ersten signifikanten Vermehrung von Signalen des Membranangriffskomplexes (MAC, grün) in der Retina im Vergleich zur Kontrolle (Co; $p=0,03$). Während nach 14 Tagen keine Unterschiede detektiert werden konnten, kam es zu einem erneuten Anstieg der MAC-Signale nach 28 Tagen ($p=0,003$). **C)** Auch im Sehnerven wurden die MAC⁺ Zellen in grün markiert und die Zellkerne mit DAPI in blau. **D)** Nach Auswertung der Signale konnten 7 Tage nach Immunisierung signifikant mehr MAC⁺ Zellen im Sehnerv detektiert werden ($p=0,001$). Nach 3 und 14 Tagen kam es jeweils zu keinen Unterschieden zwischen der Immunisierungs- und der Kontrollgruppe. Die Werte sind Mittelwerte±Standardfehler, Maßstab=20 μ m. Abkürzung: GCL= Ganglienzellschicht [Reinehr et al., 2016].

Das Komplementsystem selbst ist Teil des angeborenen Immunsystems und kann über drei verschiedene Wege initiiert werden. Auch wenn der Beginn der Komplementkaskaden unterschiedlich ist, zum Schluss führen alle drei Wege zusammen über die Proteine C3 und C5 zum sogenannten Membranangriffskomplex (MAC). Dieser Komplex aus verschiedenen Proteinen ist in der Lage eine Pore in die Zelle zu integrieren. Dadurch kommt es zu einem übermäßigen Wassereinstrom, wodurch die Zelle zerstört wird. Die mögliche Beteiligung des Komplementsystems an der Entstehung des Glaukoms sollte nun im EAG-Modell untersucht werden. Dazu wurden verschiedene Zeitpunkte analysiert, um einen Zeitverlauf identifizieren zu können [7]. Es wurde nachgewiesen, dass es im EAG-Modell zu vermehrten Ablagerungen der Komplementproteine C3 und MAC, sowohl in der Retina als auch in den Sehnerven, 7 Tage nach Immunisierung kommt (**Abb. 1**). Diese frühe Aktivierung der terminalen Komponenten des Komplementsystems könnte beim späteren Zelluntergang eine wichtige Rolle spielen. 14 Tage nach Immunisierung wurden keine Unterschiede mehr detektiert, jedoch nahm die Anzahl von C3⁺ und MAC⁺ Zellen nach 28 Tagen wieder signifikant zu. Dies könnten Hinweise auf eine Art wellenförmige Aktivierung sein, das heißt dass die Komplementkaskade immer wieder neu initiiert und der Schaden somit verstärkt wird. Weitere Untersuchungen der einzelnen Komplementsystemwege zeigten interessanterweise keine Veränderungen in Bezug auf C1q, einer Komponente des klassischen Weges, wohingegen es zu einer Aktivierung von MASP2, welches zum Lektin-Weg gehört, kam. Somit scheint dem Lektinweg eine Schlüsselrolle zuzukommen.

Es lässt sich festhalten, dass es im EAG-Modell zu einer frühen und simultanen Aktivierung von Komponenten des Komplementsystems sowohl in der Retina als auch im Sehnerven kommt. Interessanterweise geschieht dies noch bevor ein eigentlicher Schaden an den beim Glaukom betroffenen Zelltypen detektiert werden konnte.

Neben der Aktivierung des Komplementsystems scheint der Zelltod beim Glaukom mit unterschiedlichsten degenerativen Prozessen, wie dem oxidativen Stress [8] oder hypoxischen Mechanismen [9], einherzugehen. All dies führt dabei auch zur Aktivierung des programmierten Zelltodes, der Apoptose.

Diese degenerativen Prozesse werden von unserer Arbeitsgruppe auf vielfältige Weise untersucht, u.a. anhand des bereits erwähnten EAG Modells, aber auch mit Hilfe eines N-Methyl-D-Aspartat (NMDA)-Tiermodells oder eines organotypischen Modells der Schweineretina (**Abb. 2 A**). Ein großer Vorteil der Schweineretinaorgankultur ist, dass die Augen des Schweines eine hohe Ähnlichkeit zum menschlichen Auge aufweisen. So sind die

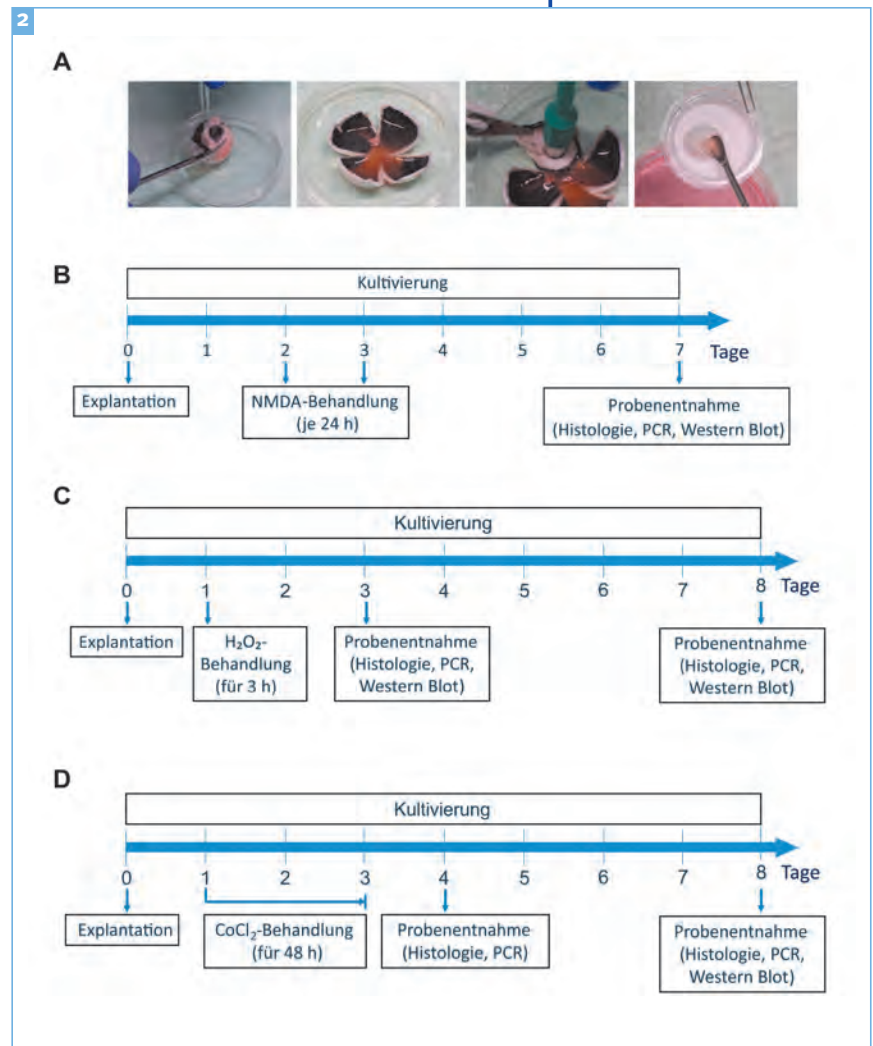


Abbildung 2

■ **Herstellung der Schweineretinaorgankultur sowie der zeitliche Ablauf der drei Degenerationsmodelle**

A) Die Präparation der Schweineretinaorgankultur erfolgt über das Öffnen des Auges, die Herstellung einer Kleeblattstruktur, dem Ausstanzen der Retina bis hin zum Überführen dieser auf einen Filter. Anschließend kann die Retina im Neurobasal A Medium kultiviert und mit toxischen und protektiven Substanzen behandelt werden.

B) Ablauf des NMDA-Degenerationsmodells. Die Behandlung mit NMDA erfolgte an Tag 2 und 3 für jeweils 24 h und nach 7 Tagen wurden die Proben histologisch sowie mittels PCR und Western Blot Analysen untersucht. **C)** Ablauf des H₂O₂-Degenerationsmodells. Die Behandlung mit H₂O₂ erfolgte an Tag 1 für 3 h und nach 3 und 8 Tagen wurden die Proben histologisch sowie mittels PCR und Western Blot Analysen untersucht. **D)** Ablauf des CoCl₂-Degenerationsmodells. Die Behandlung mit CoCl₂ erfolgte an Tag 1 für 48 h und nach 4 und 8 Tagen wurden die Proben histologisch sowie mittels PCR und Western Blot Analysen untersucht.

Augen von beiden Spezies etwa gleich groß und besitzen ein ähnliches Gefäßsystem [10]. Zusätzlich können durch die Größe des Schweineauges aus einem Tier mehrere Proben gewonnen und analysiert werden. In der Organkultur ist es möglich die zerstörerischen Mechanismen, die bei Erkrankungen wie dem Glaukom auftreten, chemisch zu simulieren und anschließend die daraus resultierenden Auswirkungen zu untersuchen.

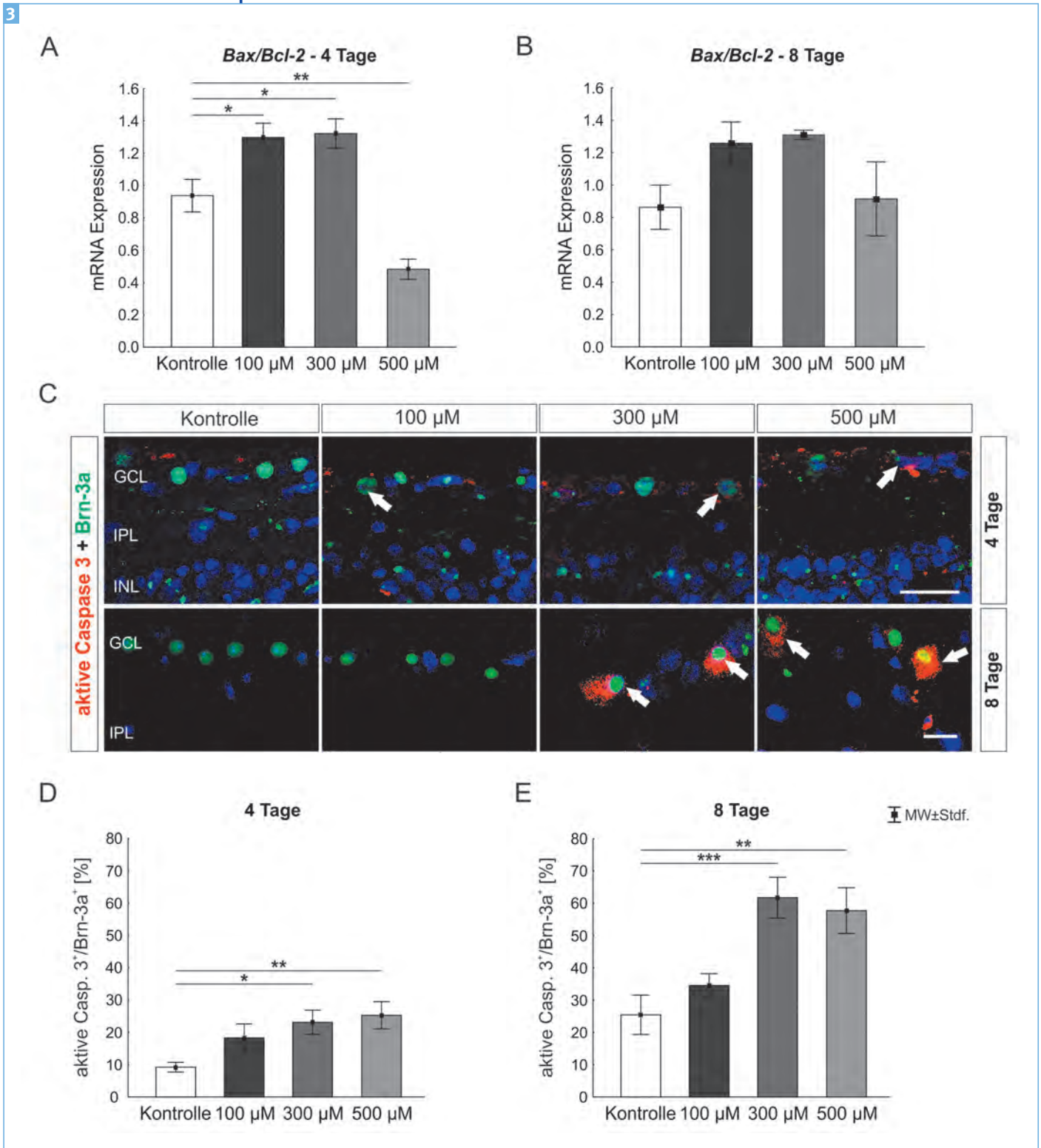


Abbildung 3

■ **Aktivierung verschiedener Zelltodmechanismen in der Kobaltchlorid-behandelten Schweineretinaorgankultur**

A) Das *Bax/Bcl-2* Verhältnis wurde auf mRNA Ebene nach 4 Tagen untersucht. Nur die 100 und 300 μM CoCl_2 Gruppe wiesen eine Erhöhung von *Bax/Bcl-2* auf (beide: $p < 0,05$). In der 500 μM Gruppe war das Verhältnis sogar runterreguliert ($p < 0,01$). **B)** Nach 8 Tagen konnte kein Unterschied zwischen den Gruppen gemessen werden. **C)** Der Ganglienzellmarker *Brn-3a* (grün) wurde immunhistologisch in Kombination mit der aktiven Caspase 3 (rot) und einem Zellkernmarker (DAPI, blau) angefärbt. **D)** Nach 4 Tagen waren mehr Ganglienzellen in der 300 μM ($p < 0,05$) und 500 μM CoCl_2 Gruppe ($p < 0,01$) apoptotisch. **E)** Der Anteil an apoptotischen retinalen Ganglienzellen erhöhte sich noch in beiden Gruppen nach 8 Tagen (300 μM : $p < 0,001$; 500 μM : $p < 0,01$). Die Werte sind Mittelwerte \pm Standardfehler, Maßstab = 20 μM , Abkürzungen: GCL=Ganglienzellschicht, IPL=innere plexiforme Schicht, INL=innere nukleäre Schicht [Kuehn et al., 2017].

Insgesamt wurden durch unsere Arbeitsgruppe, in Kooperation mit der Universitäts-Augenklinik Tübingen (AG Schnichels), drei Degenerationsprozesse, welche häufig bei Augenerkrankungen auftreten, nachgestellt. Dazu zählen exzitotoxische Signale mittels des Glutamatanalogs N-Methyl-NMDA (**Abb. 2 B**) [11], oxidativer Stress mittels Wasserstoffperoxid (**Abb. 2 C**) [12] und Hypoxie mittels Kobaltchlorid (CoCl_2) [13] (**Abb. 2 D**). Bei allen drei Modellen wurden Zelltodmechanismen beobachtet, die auch bei Glaukompatienten auftreten [14]. Im Rahmen der Schädigung mit CoCl_2 wurden drei unterschiedliche Konzentrationen in der Organkultur eingesetzt: 100, 300 und 500 μM . Nach 4 und 8 Tagen wurden mögliche Anzeichen für eine Degeneration untersucht. Der Hypoxie-induzierte Faktor 1 alpha (HIF-1 α) war an beiden untersuchten Zeitpunkten erhöht [13]. Es konnte nur zum frühen Zeitpunkt und das auch nur bei den beiden niedrigeren Konzentrationen eine Aktivierung der intrinsischen Apoptose gemessen werden (**Abb. 3 A**). Nach 8 Tagen war kein Unterschied zwischen den behandelten Gruppen und der Kontrollgruppe mehr messbar (**Abb. 3 B**). Des Weiteren wurde eine verstärkte Kolo-kalisation der aktiven Caspase 3 mit einem Ganglienzellmarker, Brn-3a, festgestellt (**Abb. 3 C**). Auch hierfür galt, dass eine verstärkte Apoptoserate der Ganglienzellen nach 4 Tagen beobachtet wurde (**Abb. 3 D**) und dies sogar noch nach 8 Tagen zunahm (**Abb. 3 E**). Es wurde also ein Modellsystem etabliert, welches chemisch über die Wirkung von CoCl_2 eine Hypoxie nachahmt. Die niedrigeren CoCl_2 -Dosen induzieren dabei verschiedene Apoptosewege, jedoch ist nur der intrinsische Weg zum früheren Zeitpunkt messbar. Die hohe Konzentration von CoCl_2 hingegen hat eine so starke Wirkung, dass nur spätere Apoptose-Mechanismen aktiviert wurden. Somit kann dieses Modell für das Screening von neuen Therapeutika genutzt werden. So lässt sich damit ausschließen, dass neue Medikamente toxisch für die Retina sind. Weiterhin kann sich die optimale Dosis einer Substanz bestimmt werden, bevor sie *in-vivo* eingesetzt wird.

Die Ergebnisse beider Modelle könnten zu neuen Therapiestrategien für das Glaukom führen. Dazu könnte in nachfolgenden Studien das Komplementsystem und/oder die Apoptosekaskade inhibiert werden. Sollte es dadurch gelingen, die Degeneration von retinalen Ganglienzellen und den Sehnerven aufzuhalten, wäre dies ein möglicher neuer Therapieansatz für Glaukompatienten.

LITERATUR

1. EGS. Terminology and guidelines for glaucoma. 2014; 4th Edition.
2. Sommer A., Tielsch J.M., Katz J., et al. Relationship between intraocular pressure and primary open angle glaucoma among white and black Americans. The Baltimore Eye Survey. Arch Ophthalmol 1991; 109: 1090–1095.
3. 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.
4. Grus F.H., Joachim S.C., Hoffmann E.M., Pfeiffer N. Complex autoantibody repertoires in patients with glaucoma. Mol Vis 2004; 10: 132–137.
5. Wax M.B., Yang J., Tezel G. Serum autoantibodies in patients with glaucoma. J Glaucoma 2001; 10: S22–24.
6. Laspas P., Gramlich O.W., Muller H.D., et al. Autoreactive antibodies and loss of retinal ganglion cells in rats induced by immunization with ocular antigens. Invest Ophthalmol Vis Sci 2011; 52: 8835–8848.
7. Reinehr S., Reinhard J., Gandej M., et al. Simultaneous Complement Response via Lectin Pathway in Retina and Optic Nerve in an Experimental Autoimmune Glaucoma Model. Front Cell Neurosci 2016; 10: 140.
8. Tezel G., Yang X., Luo C., et al. Oxidative stress and the regulation of complement activation in human glaucoma. Invest Ophthalmol Vis Sci 2010; 51: 5071–5082.
9. Arjamaa O., Nikinmaa M. Oxygen-dependent diseases in the retina: role of hypoxia-inducible factors. Exp Eye Res 2006; 83: 473–483.
10. Guduric-Fuchs J., Ringland L.J., Gu P., Delleff M., Archer D.B., Cogliati T. Immunohistochemical study of pig retinal development. Mol Vis 2009; 15: 1915–1928.
11. Kuehn S., Hurst J., Jashari A., et al. The novel induction of retinal ganglion cell apoptosis in porcine organ culture by NMDA – an opportunity for the replacement of animals in experiments. Altern Lab Anim 2016; 44: 557–568.
12. Hurst J., Kuehn S., Jashari A., et al. A novel porcine ex vivo retina culture model for oxidative stress induced by H_2O_2 . Altern Lab Anim 2017; 45: 11–25.
13. Kuehn S., Hurst J., Rensinghoff F., et al. Degenerative effects of cobalt-chloride treatment on neurons and microglia in a porcine retina organ culture model. Exp Eye Res 2017; 155: 107–120.
14. Kerrigan L.A., Zack D.J., Quigley H.A., Smith S.D., Pease M.E. TUNEL-positive ganglion cells in human primary open-angle glaucoma. Arch Ophthalmol 1997; 115: 1031–1035.



PD 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. Joachim das Forschungslabor an der Universitäts-Augenklinik in Bochum, wo sie 2014 habilitierte. Der wissenschaftliche Fokus ihrer Arbeitsgruppe liegt auf der Untersuchung degenerativen Erkrankungen der Retina, insbesondere im Bereich Glaukom, retinale Ischämie und diabetische

Retinopathie. Die möglichen Mechanismen dieser Erkrankungen werden durch verschiedene Tiermodelle, sowie durch primäre Organkulturen und Zellkulturen untersucht.

FÖRDERUNGEN UND AUSZEICHNUNGEN

PD Dr. Joachim ist Sprecherin der Arbeitsgruppe Young DOG der Deutschen Ophthalmologischen Gesellschaft und vertritt die Young DOG auch im Bündnis Junge Ärzte (BJÄ). Sie ist Mitglied des European Leadership Development Programme (EuLDP) und Koordinatorin »OphthalamoCampus« des Karger Kompass Ophthalmologie. Ihre Forschungsprojekte wurden mehrfach ausgezeichnet, u. a. 2017 mit dem AECOS European Research Award, 2013 mit dem Glaukom-Forschungspreis des Bundesverband Auge e. V., 2011 mit dem Förderpreis der Sophia & Fritz Heinemann-Stiftung sowie im gleichen Jahr mit dem Wissenschaftspreis des Vereins Rheinisch-Westfälischer Augenärzte. Ihre Projekte werden u. a. durch die Deutsche Forschungsgemeinschaft, die set Stiftung, die Mercator Stiftung und FoRUM Förderungen unterstützt. Fr. Joachim ist Gutachterin für zahlreiche internationale wissenschaftliche Fachzeitschriften und für Drittmittelanträge.

KONTAKT



PD Dr. med. Stephanie Joachim

Forschungslabor
 Universitäts-Augenklinik
 Ruhr-Universität Bochum
 In der Schornau 23-25
 44892 Bochum
 Telefon: 0234 2993156
 Telefax: 0234 2993157
 E-Mail: stephanie.joachim@rub.de

Johnson & Johnson VISION



Schaffen Sie dauerhaft
exzellente Ergebnisse
bei Ihren Presbyopie Patienten.

Beginnen Sie bei MIR.

Johnson & Johnson Vision

TECNIS und TECNIS Symphony sind Markenzeichen von oder lizenziert für Abbott Medical Optics Inc., deren Tochtergesellschaften oder angeschlossenen Firmen.

AMO Germany GmbH • Rudolf-Plank-Str. 31 • 76275 Ettlingen • Germany
©2017 Abbott Medical Optics Inc. PP2017CT0958

TECNIS
Symphony[®]
IOL für den erweiterten Sehbereich

Elektrische Netzhautstimulation: Grundlagen, Optimierung und klinische Anwendung

KIM SCHAFFRATH, ANNA-MARINA VAN DER MEER, M.SC.,
DR. MED. TIBOR LOHMANN, DR. MED. HANNAH SCHIMITZEK,
DR. RER. NAT. SANDRA JOHNNEN, PRIV.-DOZ. DR. MED. GERNOT RÖSSLER,
PROF. DR. MED. PETER WALTER

Klinik für
Augenheilkunde,
Uniklinik
RWTH Aachen

In weit fortgeschrittenen Stadien einer Rezeptor-degeneration besteht eine verfügbare Option in der elektrischen Stimulation von noch lebenden postrezeptoralen Neuronen in der Retina. Die elektrische Stimulation wird über implantierbare Multielektrodenarrays (MEAs) vermittelt, wobei die Stimulationspulse in Abhängigkeit von der visuellen Information generiert werden. Unsere Arbeitsgruppe beschäftigt sich mit Untersuchungen zur elektrischen Stimulation der dystrophen Netzhaut, mit möglichen Optimierungsschritten dieses Therapiekonzeptes und mit der klinischen Anwendung.

1. GRUNDLAGEN DER ELEKTRISCHEN STIMULATION

Untersuchungen der spontanen elektrischen Aktivität am rd10 Mausmodell haben ergeben, dass der Verlust der Photorezeptoren zu Veränderungen der Funktion retinaler Ganglienzellen (RGCs) führt. In der Wildtypretina zeigt sich eine homogene Entladung der RGCs in Form von Aktionspotentialen (APs). Diese APs sind in der dystrophischen Netzhaut oft in Gruppen (sog. Bursts) nachweisbar und von langsamen Oszillationen überlagert [1]. Die Oszillationen haben höchstwahrscheinlich ihren Ursprung in der Kopplung von Amakrinen, Bipolaren und RGCs und deren fehlendem Input aus der äußeren Netzhaut. Die resultierende pathologische RGC Aktivität geht mit einer reduzierten elektrischen Stimulierbarkeit einher. Eine Modifikation der elektrischen Stimulationsparameter sowie eine pharmakologische Modulation der elektrischen Aktivität soll die Stimulierbarkeit dieser abnormen Netzhäute verbessern.

Für Experimente mit implantierbaren Sehprothesen wird ein chirurgisch gut zugängliches Modell einer Netzhautdegeneration bei Kaninchen benötigt. Ein verfügbares genetisches Modell hat verschiedene praktische Nachteile, so dass wir uns vor allem mit pharmakologisch induzierten Modellen beschäftigt haben. Sowohl Iodacetat [2] als auch Methylnitrosoharnstoff (MNU) führen bei

systemischer Gabe zu einer Photorezeptorendegeneration allerdings mit zum Teil erheblichen systemischen Nebenwirkungen. Die intravitreale Gabe von Iodacetat hat ein starkes inflammatorisches Potential. Die Gabe von MNU intravitreal kann stellenweise sehr gute Degenerationsareale erzeugen [3]. Die Degeneration ist aber nicht durchgängig, das Löseverhalten von MNU im Glaskörper ist problematisch und die Substanz ist auch für die Experimentatoren sehr toxisch und karzinogen. Der experimentelle Aufwand ist erheblich. Wir entwickeln derzeit ein standardisiertes und gut realisierbares Modell einer Rezeptor-degeneration auf der Basis einer UV Bestrahlung. Mit definierten Bestrahlungsintensitäten wird ein reproduzierbarer Verlust der Rezeptoren induziert, der morphologisch und funktional durchaus mit dem rd10 Modell vergleichbar ist. Dieses Modell soll jetzt von der Maus auf das Kaninchen übertragen werden, um ein chirurgisch zugängliches System zur Verfügung zu haben.

2. OPTIMIERUNG VON IMPLANTATSCENARIEN

Die pathologische Aktivität der Ganglienzellen macht eine Optimierung bisher angewendeter Stimulationsalgorithmen notwendig. Hierzu gehört, die Integration von Sensoren in künftige implantierbare Stimulatoren. Der erste Schritt hierzu ist die Realisierung bidirektionaler Implantate, mit denen nicht nur stimuliert werden kann, sondern die auch zur Registrierung der RGC Aktivität eingesetzt werden können. Die Analyse der Registrierungen dient der Modifikation der Stimulationspulse so dass eine optimierte Stimulation ermöglicht wird [4].

Ein zweiter Aspekt ist die Größe des Stimulators. Gegenwärtig werden Stimulatoren eingesetzt, die lediglich einen kleinen Bereich in der Makula oder nahe der Makula stimulieren. Zur Wiederherstellung von Orientierungsvermögen scheinen aber größere Implantate wünschenswert, die einen größeren Gesichtsfeldbereich reaktivieren

Förderung:

DFG WA 1472/6-3,
WA 1472/6-1,
WA 1472/10-1
BMBF 16SV5322K
Jackstädt Stiftung VLARS
Pro Retina Stiftung
IZKF Aachen

können. Solche flexiblen Implantate auf Polyimidbasis wurden von unserer Gruppe in Zusammenarbeit mit dem Institut für Werkstoffe der Elektrotechnik der RWTH Aachen hergestellt und im Kaninchen implantiert [5]. Gleichzeitig wurde die kortikale Aktivierung mittels intrakortikal implantierter Multielektrodenarrays abgeleitet. Trotz ihrer Größe lassen sich diese Strukturen zuverlässig implantieren und auf die Netzhaut aufbringen. Die kortikalen Ableitungen zeigen eine differentielle Aktivierung des visuellen Kortex in Abhängigkeit vom Ort der Stimulation.

3. KLINISCHE ANWENDUNG

Neben den experimentellen Arbeiten zur elektrischen Netzhautstimulation implantiert unsere Gruppe bei blinden RP Patienten das ARGUS II Retinaprothesensystem sowie eigene Prototypen von Netzhautstimulatoren (EPIRET III) [6, 7]. Dabei optimiert unsere Gruppe die operativen Schritte zur Implantation und beschäftigt sich mit der Rehabilitation der Patienten.

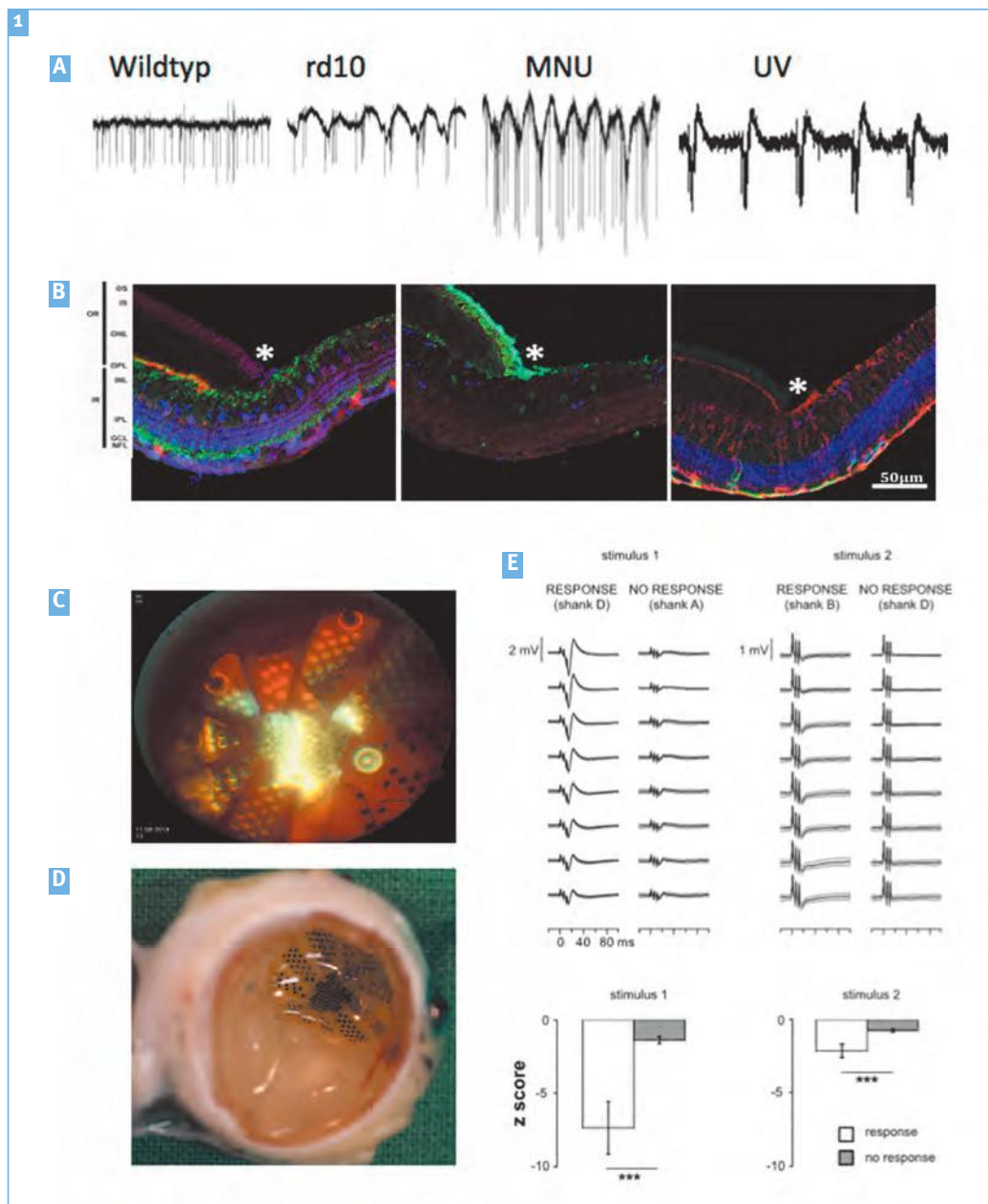


Abbildung 1

A. RGC Spontanaktivität der Wildtypmausretina, der rd10 Maus, der Maus nach MNU intravitreal und nach UV Bestrahlung. Man erkennt in den pathologischen Situationen jeweils Oszillationen und gruppierte Aktionspotentiale (bursts). **B.** Immunhistochemie der Mausretina nach UV Bestrahlung. Links der Markierung sieht man die nicht bestrahlte Netzhaut, rechts der Markierung die UV behandelte Netzhaut. Die Fotorezeptoren fehlen völlig, die Struktur der inneren Netzhaut ist nur wenig verändert. **C.** Fundusbild nach Implantation eines großflächigen Netzhautstimulators. **D.** Post mortem Situation. **E.** Kortikale Feldpotentiale bei Stimulation an weit entfernten Netzhautorten.

LITERATUR

1. Biswas S., Haselier C., Mataruga A., Thumann G., Walter P., Müller F. Pharmacological analysis of intrinsic neuronal oscillations in rd10 retina. *PLoS ONE*. 2014; 9 (6): e99075.
2. Rösch S., Johnen S., Mazinani B., Müller F., Pfarrer C., Walter P. The effects of iodoacetic acid on the mouse retina. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 2014 May 15.
3. Rösch S., Werner C., Müller F., Walter P. Photoreceptor degeneration by intravitreal injection of N-methyl-N-nitrosourea (MNU) in rabbits: a pilot study. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 2017 Feb; 255 (2): 317–31.
4. Walter P. A fully intraocular approach for a bi-directional retinal prosthesis. In: Gabel VP (Ed). *Artificial Vision - A clinical guide*. Springer; 2016. pp. 151–160.
5. Waschkowski F., Hesse S., Rieck A.C., Lohmann T., Brockmann C., Laube T., et al. Development of very large electrode arrays for epiretinal stimulation (VLARS). *Bio-med Eng Online*. 2014; 13 (1): 11.
6. Schimitzek H., Roessler G., Walter P. [Clinical Results after Implantation of Epiretinal Visual Prostheses]. *Klin Monbl Augenheilkd*. 2016 Sep 27.
7. Roessler G., Laube T., Brockmann C., Kirschkamp T., Mazinani B., Goertz M., et al. Implantation and explanation of a wireless epiretinal retina implant device: observations during the EPIRET3 prospective clinical trial. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2009 Jun; 50 (6): 3003–8.



Prof. Dr. Peter Walter hat in Köln Medizin studiert und 1990 am Institut für Physiologie der Kölner Universität mit einer Arbeit zu elektrischer Aktivität und oxidativen Stoffwechselprozessen in der Retina promoviert. Nach einer Arzt-im-Praktikum-Phase in der gynäkologisch-geburtshilflichen Abteilung des Evangelischen Krankenhauses Köln-Kalk be-

gann er 1991 die Weiterbildung zum Augenarzt an der Kölner Universitäts-Augenklinik. Nach der Facharztprüfung 1995 war er Oberarzt an dieser Klinik und 1999 erhielt er die *venia legendi* für Augenheilkunde. Von 1999 bis 2000 leitete er die Kölner Klinik für Netzhaut- und Glaskörperchirurgie kommissarisch. Seit 2003 ist er Direktor der Klinik für Augenheilkunde der Uniklinik RWTH Aachen. Er beschäftigt sich seit 1995 mit dem Test und der Entwicklung implantierbarer Sehprothesen. Seine Gruppe hat weltweit den ersten vollständig intraokularen telemetrischen Retina Stimulator bei blinden RP Patienten implantiert. Prof. Walter war zwischen 2006 und 2009 Prodekan der Medizinischen Fakultät der RWTH Aachen und ist seit 2009 Sprecher des Interdisziplinären Zentrums für klinische Forschung IZKF Aachen.

KONTAKT



Prof. Dr. Peter Walter
 Klinik für Augenheilkunde
 Uniklinik RWTH Aachen
 Pauwelsstraße 30
 52074 Aachen
 Telefon: 0241 8088191
 Telefax: 0241 8082408
 E-Mail: pwalter@ukaachen.de

DOG 2018

Ophthalmologie 4.0
27.-30.9. Bonn



dog-kongress.de

Prophylaktischer Ansatz gegen Proliferative Vitreoretinopathie: PRIVENT-Studie

DR. FRIEDERIKE SCHAUB¹, PRIV.-DOZ. DR. ROBERT HÖRSTER²,
PROF. DR. SASCHA FAUSER^{1,3}, PROF. DR. BERND KIRCHHOF¹

1 **Zentrum für Augenheilkunde,**
Universität zu Köln,
Köln, Deutschland

2 **MVZ Augenärztliches Diagnostik- und Therapiezentrum Mönchengladbach/ Erkelenz GmbH,**
Erkelenz, Deutschland

3 **F. Hoffmann – La Roche AG,**
Basel, Schweiz

Die Proliferative Vitreoretinopathie (PVR) ist die Hauptursache für das postoperative Versagen nach vitreoretinaler Chirurgie bei rhegmatogener Amotio. Fibrovaskuläre Narben führen zu sekundären traktiven Netzhautablösungen, die häufig mehrere umfangreiche chirurgische Eingriffe erfordern, um eine Netzhautwiederanlage zu erreichen [1, 2]. Derzeit gibt es noch keine Standardtherapie, um die PVR zu verhindern.

In der Vergangenheit wurden bereits vielfach Versuche mit intravitrealen Chemotherapeutika wie 5-Fluorouracil (5-FU) in Kombination mit niedermolekularem Heparin (Engl. »low molecular weight heparin« – LMWH) oder Daunomycin unternommen, um die PVR zu behandeln, aber auch prophylaktische Ansätze wurden untersucht [3–6]. Betrachtet man die bisherige Datenlage, so zeigt sich, dass der Einsatz von Adjuvantien bei manifester PVR keinen Benefit bringt [4], der unselektierte prophylaktische Einsatz bei primärer Vitrektomie ebenfalls nicht vorteilhaft zu sein scheint [6], die Anwendung bei selektierten Risikoaugen für eine PVR jedoch von Nutzen ist [3, 5]. Bislang

wurde jedoch keines dieser Chemotherapeutika in die klinische Routine eingeführt [3, 6–8].

In der multizentrischen PRIVENT-Studie (»Prophylactic Intravitreal 5-Fluorouracil + Heparin to Prevent PVR in High-risk Patients with Retinal Detachment«) wird nun der Nutzen einer adjuvanten Behandlung mit 5-FU und LMWH bei Patienten mit primärer rhegmatogener Netzhautablösung mit hohem Risiko für PVR-Entwicklung placebo-kontrolliert untersucht. Mittels präoperativer Laser-Flare Photometrie wird die PVR-Risikogruppe identifiziert. Diese Überlegung basiert u.a. auf Daten von Schroeder et al, welche belegen, dass in Augen mit rhegmatogener Amotio begleitet von einem präoperativen Laser-Flare Wert ≥ 15 photon counts (pc)/ms das Risiko der PVR-Bildung signifikant erhöht ist [9]. Die Sensitivität und Spezifität der Flare-Messung bei einem Cut-off-Wert von 15 pc/ms beträgt nach Hörster et al. 83,3% bzw. 76% [9, 10]. Erst kürzlich konnte die Arbeitsgruppe um Conart et al. bestätigen, dass der präoperative Laser-Flare Wert eine prädiktive Bedeutung für die PVR-Entwicklung hat [11].

Tabelle 1

■ Die Eckdaten der PRIVENT-Studie im Überblick

Studiendesign	AMG, Phase III, Interventionsstudie multizentrisch doppel-blind randomisiert in 2 Behandlungsarme placebo-kontrolliert
Sponsor der Studie	Universität zu Köln
Leiter der klinischen Prüfung	Prof. Dr. Bernd Kirchhof Zentrum für Augenheilkunde, Universität zu Köln
Projektmanagement, Monitoring, Datenmanagement, Safetymanagement	Zentrum für Klinische Studien Medizinische Fakultät der Universität zu Köln
Statistik	Institut für Medizinische Statistik, Informatik und Epidemiologie (IMSIE), Universität zu Köln
Apotheke	Apotheke des Universitätsklinikums Erlangen
Finanzierung	Deutsche Forschungsgemeinschaft (DFG FA 441/4-1)
Unterstützung	Retina NET
EudraCT Nummer	2015-004731-12
Clinical Trials.gov	NCT02834559
Ansprechpartnerin/ Studienkoordination	Dr. Friederike Schaub Zentrum für Augenheilkunde, Universität zu Köln

RATIONALE

Das Ziel und die primäre Motivation der PRIVENT-Studie ist die Reduktion der Inzidenz von PVR nach primär rhegmatogener Amotio in Hochrisikoaugen für PVR.

RAHMENBEDINGUNGEN UND STUDIENDESIGN

PRIVENT ist eine Phase III Studie nach dem Arzneimittelgesetz (AMG). Multizentrisch in bis zu 18 deutschen Prüfzentren wird der Effekt von 5-FU und Heparin als adjuvante Behandlung bei primär rhegmatogener Amotio in PVR-Risikoaugen geprüft. Die Prüfung erfolgt doppelblind und placebo-kontrolliert. Insgesamt 560 Patienten sollen in 2 Behandlungsarme gleichermaßen randomisiert werden (50% Placebo vs. 50% Verum). Die Studienlaufzeit für jeden randomisierten Patienten beträgt 12 Wochen. Seit Oktober 2016 befindet sich die PRIVENT-Studie in aktiver Rekrutierung.

Begleitet wird die Studie durch ein »Data Monitoring und Safety Board«; die Endpunktbewertung erfolgt durch ein »Endpunkt-Komitee« aus mindestens 3 unabhängigen Bewertern.

DAS PRÜFPRODUKT

Das Prüfprodukt (Engl. »Investigational medicinal product« – IMP) in der PRIVENT-Studie besteht aus niedermolekularem Heparin (LMWH), welches die postoperative Fibrinbildung reduziert und an Fibronectin und Wachstumsfaktoren bindet [12], sowie 5-FU, welches die DNA-Synthese inhibiert und somit die Proliferation der Fibroblasten hemmt [13]. In Kombination soll durch das Heparin die frühe Phase der PVR Bildung unterbunden werden, während das 5-FU die späte Phase inhibiert, sodass wir uns einen synergistischen Effekt versprechen [5]. Für die intravitreale Anwendung während der Vitrektomie werden diese beiden Komponenten (5-FU und LMWH) in die intraokulare BSS (Balanced Salt Solution) -Spüllösung gegeben mit folgender resultierender Konzentration in BSS: 200 µg/ml 5-FU und 5 IU/ml Heparin. Die maximale Anwendungsdauer beträgt 60 Minuten.

ENDPUNKTE

Der primäre Endpunkt der Studie ist das Auftreten einer

- PVR Grad CP 1 [14] oder höher [ja/nein] innerhalb von 12 Wochen.

Sekundäre Endpunkte umfassen:

- PVR Grad CP 1 oder höher [ja/nein] innerhalb von 6 Wochen
- PVR Grad CA 1 oder höher [ja/nein] innerhalb von 6 und 12 Wochen
- Grad der PVR (PVR Grad CA 1–12, PVR Grad CP 1–12 (in Uhrzeiten)) innerhalb von 6 und 12 Wochen
- Best korrigierter Visus (Engl. »Best corrected visual acuity« – BCVA) gemessen mittels ETDRS-Charts innerhalb von 6 und 12 Wochen
- Netzhautwiederanlage nach primärer Vitrektomie [ja/nein] innerhalb von 6 und 12 Wochen
- Anzahl der Netzhautwiederablösungen und wenn auftretend durch PVR begründet [ja/nein] innerhalb von 6 und 12 Wochen
- Anzahl und Ausmaß der notwendigen chirurgischen Eingriffe zum Erreichen der Netzhautwiederanlage innerhalb von 12 Wochen
- Auftreten von mindestens einem unerwünschten Ereignis im Studienauge innerhalb von 12 Wochen, das auf das Prüfpräparat zurückgeführt wird [ja/nein]

EIN- UND AUSSCHLUSSKRITERIEN

Eingeschlossen werden Patienten, die folgende Kriterien (des Studienauges) erfüllen:

1. Primäre rhegmatogene Netzhautablösung (< 4 Wochen)
2. Vorliegende Indikation zur Pars plana Vitrektomie (PPV) zur Netzhautwiederanlage ohne kombinierte Kataraktchirurgie
3. Erhöhte Laser-Flare-Wert (≥ 15 pc/ms)

4. Männliche und weibliche Patienten ≥ 18 Jahre
5. Schriftliches Einverständnis

Zu den **wichtigsten** Ausschlusskriterien (bezogen auf das Studienauge) zählen:

1. Traumatische Netzhautablösung
2. Riesenriss (Größe > 3 Uhrzeiten)
3. Sichtbare bereits vorhandene PVR Grad C
4. Retinale Dystrophien
5. Chronisch inflammatorische Erkrankungen
6. Aktive retinale vaskuläre Erkrankungen
7. Vorausgegangene intraokulare Eingriffe, ausgenommen der unkomplizierten Kataraktextraktion
8. Unkontrolliertes Glaukom oder okuläre Hypertension (Augeninnendruck ≥ 30 mmHg trotz antiglaukomatöser Therapie)
9. Positiver Urin-Schwangerschaftstest, Schwangerschaft oder Stillzeit.

STUDIENABLAUF

Patienten mit rhegmatogener Amotio stellen sich zumeist als Notfall in den Ambulanzen der Kliniken vor. Es ist somit kaum planbar wann oder wieviele Patienten für die Studie in Frage kommen, sodass ein »Pre-Screening« in der Regel bereits in der Ambulanz erfolgen muss. Dieses Pre-Screening beinhaltet insbesondere die Diagnosestellung der primär rhegmatogenen Amotio, sowie die Einstufung in die PVR-Risikogruppe mittels Laser-Flare-Photometrie. Hierbei ist zu beachten, dass nur ca. 10% der Patienten zur Risikogruppe (erhöhter Laser-Flare Wert) gehören. Erst bzw. spätestens bei Vorliegen dieser wichtigsten Einschlusskriterien erfolgt die Übergabe an die Studienteams, Einholung des schriftlichen Einverständnisses, sowie das »Screening«. Während der PPV wird die Prüfmedikation (Verum oder Placebo) über die intraokulare Infusion verabreicht. Die Endotamponade sowie die weiteren intraoperativen Verfahren zur Retinopexie können je nach Befund und Maßgabe des Operateurs gewählt werden. Lediglich intravitreale Steroide und ein kombiniertes Vorgehen mit Kataraktoperation sind nicht zugelassen.

Im Studienprotokoll sind 3 postoperative Visiten innerhalb von 12 Wochen (Follow-up 1-3) vorgesehen, welche sich sowohl im Zeitfenster, als auch im Untersuchungsspektrum kaum von der Routine nach Amotiochirurgie unterscheiden. Lediglich die Aufnahme von Fundus-Fotos nach 6 und 12 Wochen (zur Endpunktbestimmung), sowie zusätzliche Blutuntersuchungen zählen zum studienrelevanten Mehraufwand.

ZUSAMMENFASSUNG

Die PRIVENT-Studie untersucht einen prophylaktischen Ansatz zur Vermeidung der PVR in Risikogruppen mit rhegmatogener Netzhautablösung. Zum Einsatz kommen 5-FU und niedermolekulares

Heparin während der primären Vitrektomie in einem multizentrischen, placebo-kontrollierten, randomisierten und doppel-blinden Studiensetting. Derzeit befindet sich die PRIVENT-Studie in aktiver Rekrutierung, eine Teilnahme weiterer Studienzentren ist möglich.

LITERATUR

1. Glaser B.M., Cardin A., Biscoe B. Proliferative vitreoretinopathy. The mechanism of development of vitreoretinal traction. *Ophthalmology* 1987; 94: 327–32.
2. Pastor J.C., Fernandez I., Coco R.M., Sanabria M.R., Rodriguez d.I.R., Pinon R.M. et al. Variations in Functional and Anatomical Outcomes and in Proliferative Vitreoretinopathy Rate along a Prospective Collaborative Study on Primary Rhegmatogenous Retinal Detachments: The Retina 1 Project-Report 4. *ISRN Ophthalmol* 2012; 2012: 206385.
3. Asaria R.H., Kon C.H., Bunce C., Charteris D.G., Wong D., Khaw P.T. et al. Adjuvant 5-fluorouracil and heparin prevents proliferative vitreoretinopathy: Results from a randomized, double-blind, controlled clinical trial. *Ophthalmology* 2001; 108: 1179–83.
4. Charteris D.G., Aylward G.W., Wong D., Groenewald C., Asaria R.H., Bunce C. A randomized controlled trial of combined 5-fluorouracil and low-molecular-weight heparin in management of established proliferative vitreoretinopathy. *Ophthalmology* 2004; 111: 2240–5.
5. Sundaram V., Barsam A., Virgili G. Intravitreal low molecular weight heparin and 5-Fluorouracil for the prevention of proliferative vitreoretinopathy following retinal reattachment surgery. *Cochrane Database Syst Rev* 2013; 1: CD006421.
6. Wickham L., Bunce C., Wong D., McGurn D., Charteris D.G. Randomized controlled trial of combined 5-Fluorouracil and low-molecular-weight heparin in the management of unselected rhegmatogenous retinal detachments undergoing primary vitrectomy. *Ophthalmology* 2007; 114: 698–704.
7. Asaria R.H., Kon C.H., Bunce C., Charteris D.G., Wong D., Luthert P.J. et al. How to predict proliferative vitreoretinopathy: a prospective study. *Ophthalmology* 2001; 108: 1184–6.
8. Wiedemann P., Hilgers R.D., Bauer P., Heimann K. Adjuvant daunorubicin in the treatment of proliferative vitreoretinopathy: results of a multicenter clinical trial. *Daunomycin Study Group. Am J Ophthalmol* 1998; 126: 550–9.
9. Schroder S., Muether P.S., Caramoy A., Hahn M., Abdelsalam M., Diestelhorst M. et al. Anterior chamber aqueous flare is a strong predictor for proliferative vitreoretinopathy in patients with rhegmatogenous retinal detachment. *Retina* 2012; 32: 38–42.
10. Hoerster R., Hermann M.M., Rosentreter A., Muether P.S., Kirchhof B., Fauser S. Profibrotic cytokines in aqueous humour correlate with aqueous flare in patients with rhegmatogenous retinal detachment. *Br J Ophthalmol* 2013; 97: 450–3.
11. Conart J.B., Kurun S., Ameloot F., Trechot F., Leroy B., Berrod J.P. Validity of aqueous flare measurement in predicting proliferative vitreoretinopathy in patients with rhegmatogenous retinal detachment. *Acta Ophthalmol* 2016; 95: e278–e283.
12. Blumenkranz M.S., Hartzler M.K., Iverson D. An overview of potential applications of heparin in vitreoretinal surgery. *Retina* 1992; 12: S71–S74.
13. Blumenkranz M., Hernandez E., Ophir A., Norton E.W. 5-fluorouracil: new applications in complicated retinal detachment for an established antimetabolite. *Ophthalmology* 1984; 91: 122–30.
14. Macherer R., Aaberg T.M., Freeman H.M., Irvine A.R., Lean J.S., Michels R.M. An updated classification of retinal detachment with proliferative vitreoretinopathy. *Am J Ophthalmol* 1991; 112: 159–65.



■ Dr. Friederike Schaub



Prof. Dr. Bernd Kirchhof ist seit 2001 Direktor der Abteilung für vitreo-retinale Chirurgie an der Universität zu Köln. Seine Ausbildung hat er an der Augenklinik der Universität zu Köln absolviert. 1979 erhielt er seine Approbation und 1985 das Facharztexamen.

Seine berufliche Laufbahn begann er an der Universität zu Köln. Dort arbeitete er bis 1971 in der Pathologie. Nach seinem Facharztexamen (1985), verbrachte er ein Jahr an der University of Southern California, Doheny Eye Institute in Los Angeles, CA, USA (Forschungsaufenthalt).

1996 erfolgte die Berufung an den Lehrstuhl Augenheilkunde an der Universität Aachen. Dort blieb er bis zu seiner Berufung 2001 an den Lehrstuhl der Abteilung für vitreo-retinale Chirurgie, an der Universität zu Köln. Herr Prof. Dr. Kirchhof war von 2003 bis 2010 Herausgeber des *Graefes Archive for Clinical and Experimental Ophthalmology*. 2008 gründete er das *Video-Repository Eyemoviepedia* und 2011 die *GMS open access Case report Zeitschrift Augenheilkunde*, bei der er bis 2015 auch Herausgeber war.

KONTAKT



Kontakt PRIVENT-Studie
Prof. Dr. Bernd Kirchhof
Dr. Friederike Schaub
 Zentrum für Augenheilkunde
 Universität zu Köln
 Kerpener Str. 62
 50924 Köln
 Telefon: 0221 478-86041
 Telefax: 0221 478-86052
 E-Mail: friederike.schaub@uk-koeln.de

Heidelberg Engineering Mit SPECTRALIS® blicken Sie beruhigt in die Zukunft

Mit der Anschaffung eines SPECTRALIS® entscheiden Sie sich für eine hochwertige Bildgebungsplattform, die flexibel mit Ihren verändernden Anforderungen wächst und Ihnen die Sicherheit einer langfristigen Investition bietet.

Ob Sie sich auf neue Praxisanforderungen einstellen oder auf innovative Technologien wie die OCT-Angiografie aufrüsten möchten, das erweiterbare SPECTRALIS und Heidelberg Engineering als vertrauenswürdiger Partner unterstützen Sie dabei.

Blieben Sie flexibel mit SPECTRALIS

SPECTRALIS als modulare Plattform bietet Ihnen vier verschiedene Basismodelle. Ob Sie mit dem günstigen Einsteigermodell SPECTRALIS OCT starten oder gleich auf das Kombigerät SPECTRALIS HRA+OCT setzen, bestimmt sich nach Ihrem Bedarf. Sie können Zusatzmodule entweder direkt beim Kauf oder zu einem späteren Zeitpunkt erwerben. Die Konfigurationsmöglichkeiten sind zahlreich und lassen sich von Ihnen individuell anpassen.

Mehr als ein Produkt

Wir als Heidelberg Engineering unterstützen Sie als Anbieter von flexiblen Lösungen sowohl vor als auch nach der Kaufentscheidung. Wir stehen Ihnen mit dem umfangreichen Schulungsangebot der Heidelberg Engineering Academy sowie mit Praxismarketing-Materialien und einem kompetenten Service & Support stets zur Seite.

Kennen Sie die Heidelberg Engineering Business Lounge?

Registrierten Nutzern bietet die Business Lounge unter www.he-lounge.com exklusiven Zugang zu Premium-Inhalten aus der Augenheilkunde. Bestandskunden erhalten zudem einen direkten umfassenden Service & Support rund um ihre Heidelberg Engineering Produkte:

- Vertiefende Produktinformationen
- Prismarketing-Materialien
- Klinische Bücher im E-Book-Format
- Ausgewählte Handbücher und Software
- Umfangreiche Schulungsmaterialien inklusive E-Learning-Angebote
- Technischer Support und vieles mehr.



KONTAKT



Max-Jarecki-Straße 8
69115 Heidelberg
Tel.: 06221 6463-0
Fax: 06221 6463-62
info@HeidelbergEngineering.com
www.HeidelbergEngineering.com



	OCT SPECTRALIS	HRA+OCT SPECTRALIS
Netzhaut	■	■
Glaukom	■	■
Vorderabschnitt	optional	optional
Nsite Analytics	optional	optional
Glaukom Modul Premium Edition	optional	optional
OCT2 Modul (85,000 Hz)	optional	optional
Infrarot Reflexion	■	■
BluePeak	optional	■
MultiColor	optional	optional
Schwenkbare Kamera	optional	■
Weitwinkel-Bildgebung (Fundus & OCT)	optional	optional
Fluoreszein-Angiografie		■
ICG-Angiografie		optional
Ultra-Weitwinkel Angiografie		optional
OCT-Angiografie	optional	optional

Manche Optionen können nachträglich hinzugefügt werden, manche sind nur bei der initialen Bestellung möglich.

Ophthalmologische Epidemiologie und Versorgungsforschung – Bevölkerungsstudien helfen Sehbehinderung und Erblindung zu verhüten

DR. ALEXANDER K. SCHUSTER, DR. STEFAN NICKELS,
PROF. DR. NORBERT PFEIFFER

Augenklinik und
Poliklinik,
Universitätsmedizin
Mainz

Die bedarfsgerechte Versorgung der Bevölkerung mit medizinischen Leistungen stellt eine große Herausforderung dar, nicht zuletzt in der Augeneheilkunde. Denn viele Augenerkrankungen sind mit dem Alter zum Teil exponentiell zunehmende Volkskrankheiten. Obwohl es weltweit einige Bevölkerungsstudien gibt, war in Deutschland die Datenlage hierzu vergleichsweise schlecht. In den letzten Jahren wurden verschiedene Bevölkerungsstudien mit augenärztlicher Beteiligung begonnen, so beispielsweise die SHIP-Studie in Greifswald, die LIFE-Studie in Leipzig, die AUGUR-Studie in Regensburg oder kürzlich die Rheinlandstudie in Bonn. Diese Studien zeichnen sich durch verschiedene Schwerpunkte (z. B. Fokussierung auf Makula-Erkrankungen) und ein unterschiedliches Altersspektrum aus. In der Region Mainz wurde bereits im Jahr 2007 die Gutenberg-Gesundheitsstudie gestartet, in welcher unter anderem die Altersverteilung von bestehenden und neu-aufretenden Augenerkrankungen in einer repräsentativen Stichprobe von 15.010 Personen mit einer Altersspanne von 35 bis 85 Jahren regelmäßig alle 5 Jahre untersucht wird. Dabei wird betrachtet wie hoch die Belastung der Bevölkerung durch Augenerkrankungen ist und mit welchen Faktoren deren Auftreten zusammenhängt. Dies wird durch einen interdisziplinären Ansatz in Zusammenarbeit von Kardiologie, Labormedizin, Psychosomatik, Medizinischer Biometrie, Epidemiologie und Informatik, sowie der Augenklinik der Unimedizin Mainz ermöglicht.

GUTENBERG GESUNDHEITSSTUDIE

REFRAKTIONSFEHLER

Die Ergebnisse der Gutenberg-Gesundheitsstudie zeigen unter anderem, dass bei der Mehrheit der Bevölkerung im Alter von 35 bis 74 Jahren ein Refraktionsfehler besteht: Myopie lag bei 35,1% vor (**Abbildung 1**), Astigmatismus bei 32,3% und Anisometropie bei 13,5% [10]. Brillen als Korrekturmaßnahmen waren in der großen Mehrzahl bei den Betroffenen vorhanden, lediglich 3,5% der Befragten hatten laut eigener Aussage keine. In Bezug auf die Stärke der Myopie zeigte sich ein

Zusammenhang zwischen höherer Schulbildung und höherem Brechkraftfehler, unabhängig von Alter, Geschlecht oder genetischer Prädisposition [3]. Bei Betrachtung möglicher Zusammenhänge zwischen kognitiver Funktion und Kurzsichtigkeit zeigte sich eine Abhängigkeit, diese konnte durch die unterschiedliche Dauer der Bildung (Schulbildung, Hochschulbildung) erklärt werden [4].

MAKULADEGENERATION

Betrachtungen des Augenhintergrundes auf Fundusfotografien zeigten in der Gutenberg-Gesundheitsstudie, dass die Prävalenz von altersassoziiertes Makuladegeneration (AMD) schon im Altersbereich von 35 beginnt und bis zum Alter von 74 Jahren deutlich zunimmt [1]. Obwohl nach Lehrbuchmeinung die AMD erst nach dem 50. Lebensjahr aufzutreten scheint, fanden wir frühe AMD-typische Veränderungen in 3,8% der 35- bis 44-Jährigen. Fortgeschrittene Veränderungen wie geographische Atrophie oder neovaskuläre AMD zeigten sich sehr selten, lediglich bei 0,3% bzw. 0,4% der 65- bis 74-Jährigen fanden sich solche Pathologien. Unser als Längsschnitt konzipiertes Studiendesign wird ermöglichen die Personen langfristig zu beobachten um mögliche Risikofaktoren für ein Neuauftreten oder eine Progression der AMD zu identifizieren.

DIABETISCHE RETINOPATHIE

Auch Veränderungen im Sinne einer diabetischen Retinopathie nehmen mit dem Alter zu. 7,5% der Bevölkerung in und um Mainz im Alter von 35 bis 74 Jahren hatten einen diagnostizierten Diabetes mellitus, davon wiederum zeigten 21,7% eine diabetische Retinopathie und 2,3% eine diabetische Makulopathie. Eine das Sehen bedrohende Erkrankung wurde bei 5% dieser Personen festgestellt [6]. Bei 2,1% der Studienteilnehmer zeigte sich ein erstmals im Studienzentrum detektierter Diabetes. Erstaunlicherweise war bei 13,0% dieser Personen schon eine diabetische Retinopathie sichtbar, meist in ihrer milden Form (**Abbildung 2**), aber auch proliferative Veränderungen

wurden gefunden [5]. Interessanterweise zeigten sich Zeichen einer Retinopathie auch bei Personen, die eine Vorstufe des Diabetes (HbA_{1c}-Wert: 5,7-6,4%) hatten. Diese Stoffwechselveränderungen wiesen immerhin 22,4% der deutschen Bevölkerung auf und bei 8,1% von diesen stellten wir Anzeichen einer diabetischen Retinopathie fest, die Mehrzahl wies Veränderungen einer milden Form auf [2].

KATARAKT

Daten der »Blue Mountain Eye Study« aus Australien legen zudem nahe, dass Linsentrübungen eine Volkskrankheit sind: bei Untersuchungen an Personen ab 50 Jahren hatten 47% von diesen eine Katarakt, insbesondere im hohen Alter. Auch Daten aus der Region Mainz stützen diese Annahme: 13% der deutschen Bevölkerung im Alter von 65 bis 74 Jahren unterzogen sich bereits einer Katarakt-Operation, bei 9% wurden schon beide Augen operiert, während bei 4% bisher eine einseitige Operation erfolgte [9]. Während die Prävalenz von Pseudophakie im Alter von 35 bis 44 Jahren niedrig erscheint, lässt der Anstieg der Pseudophakie-Prävalenz in höherem Alter eine gute ophthalmologische Versorgung der älteren Bevölkerung in Deutschland vermuten. In Zeiten von Phakoemulsifikation mit Intraokularlinsenimplantation als Therapie der Wahl in der Kataraktchirurgie ist Aphakie ein seltener Befund in Deutschland (0,15%), und zeigt sich vor allem nach Bulbustramata in der Kindheit [9].

LEBENSQUALITÄT

Untersuchungen zur Lebensqualität gewinnen ein immer stärkeres Maß an Bedeutung für oder gegen die Durchführung einer therapeutischen Intervention. Hierfür berechneten wir Normwerte der visuellen Lebensqualität für die deutsche Bevölkerung und betrachteten Alters- und Geschlechtsabhängigkeiten sowie den Zusammenhang mit selbstberichteten Augenerkrankungen. Auch therapeutische Interventionen lassen sich damit bewerten: so zeigten sich nach beidseitiger Intraokularlinsenimplantation beispielsweise vergleichbare Messwerte hinsichtlich der visuellen Lebensqualität mit denen von Personen ohne Katarakt-Operation [9]. Demnach wiesen nur einseitig operierte Personen eine schlechtere visuelle Lebensqualität auf.

KINDER- UND JUGENDGESUNDHEITSSURVEY

Nicht nur bei Erwachsenen, sondern auch bei Kindern zeigt sich ein Einfluss von Augenerkrankungen auf die Lebensqualität. Hierfür analysierten wir in Zusammenarbeit mit der Abteilung Pädiatrische Epidemiologie am Institut für Medi-

zinische Biometrie, Epidemiologie und Informatik aus Mainz entsprechende Daten des Robert-Koch-Instituts (RKI). Das RKI führt regelmäßige Gesundheitssurveys und bevölkerungsrepräsentative Studien als Bestandteil des bundesweiten kontinuierlichen Gesundheitsmonitorings im Auftrag des Bundesministeriums für Gesundheit durch. Hierfür wurden in den Jahren 2003 bis 2006 erstmals umfassende und repräsentative Daten zum Gesundheitszustand von Kindern und Jugendlichen im Alter von 0 bis 17 Jahren (KiGGS-Studie) erhoben, einschließlich Erhebungen zur Gesundheit der Augen. An dieser Studie nahmen insgesamt 17.640 Kinder und Jugendliche aus 167 für Deutschland repräsentativen Städten und Gemeinden teil.

In der KiGGS-Studie zeigte sich, dass Schielen eine häufige und mit dem Alter zunehmende chronische Augenerkrankung mit einer Bevölkerungsprävalenz von 4,1% ist. Schielen tritt gehäuft bei Frühgeburtlichkeit auf und ist mit Behinderung assoziiert, sowie mit mütterlichem Rauchen in der Schwangerschaft und Gesundheitsproblemen in den ersten vier Lebenswochen [7]. Bei schielenden Kindern zeigt sich zudem, dass eine geringere gesundheitsbezogene Lebensqualität in der Interaktion mit Freunden besteht, wohingegen andere, die Lebensqualität charakterisierende Merkmale (wie z.B. schulische oder familiäre Komponenten) von Schielen nicht beeinflusst werden.

Durch die Daten der KiGGS-Studie konnten wir erstmals repräsentativ für Deutschland die Prä-



Abbildung 2

■ Nichtmydriatische Fundusaufnahme eines Teilnehmers der Gutenberg-Gesundheitsstudie mit bisher unbekanntem Diabetes mellitus und einer milden nichtproliferativen Retinopathie. Mit weißen Pfeilen sind zwei retinale Blutungen markiert.

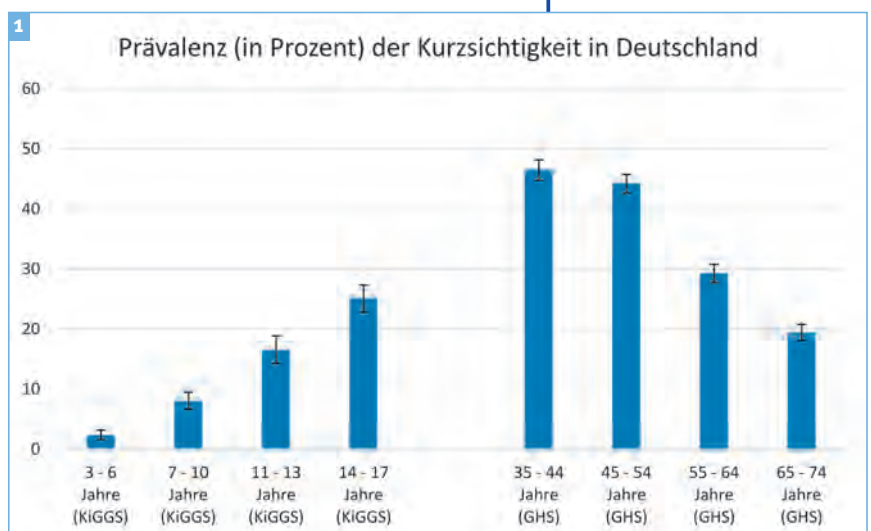


Abbildung 1

■ Prävalenz von Kurzsichtigkeit in Deutschland. Die Abbildung wurde erstellt aus Daten zur brillenversorgten selbstberichteten Kurzsichtigkeit aus dem Kinder- und Jugendgesundheitsurvey (KiGGS) und der Gutenberg Gesundheitsstudie (GHS: Myopie über -0,5 Dioptrien in der objektiven Refraktion [10]). Zukünftige Untersuchungen der Gutenberg Gesundheitsstudie werden auch den Altersbereich 20 bis 35 Jahre beinhalten um die Zunahme der Myopie mit dem Alter und Bildungsverhalten näher zu betrachten.

valenz von Kurzsichtigkeit bei 3–17 jährigen Kindern und Jugendlichen schätzen (**Abbildung 1**). Die Punktschätzer lagen bei 11,0% bei Jungen und bei 15,6% bei Mädchen [8]. Mit zunehmendem Alter nahm die Prävalenz für brillenkorierte Kurzsichtigkeit bei Jungen von 2,4% (3 bis 6 Jahre) auf 20,5% (14 bis 17 Jahre) zu, bei Mädchen entsprechend von 2,1% auf 29,7%. Ähnlich wie oben in der Gutenberg-Gesundheitsstudie bei Personen im Erwachsenenalter beschrieben, fanden wir einen Zusammenhang mit Bildung: der Besuch des Gymnasiums war mit einer Zunahme von Myopie verbunden.

Die altersabhängige Zunahme der Myopie lässt höhere Kosten für die Brillenversorgung in Deutschland erwarten. Dieser Effekt könnte sich noch erhöhen, wenn sich auch in Deutschland ein steigender zeitlicher Trend der Myopieprävalenz zeigt. Auch die Prävalenz der hohen Myopie scheint weltweit zuzunehmen, hier werden Analysen der Gutenberg Gesundheitsstudie zeigen, ob dies auch für Deutschland zutrifft und wie man dem entgegenwirken kann um Myopie-bedingte Sehbehinderung und Blindheit zu mindern.

VERSORGUNGSFORSCHUNG

Die kontinuierlichen Untersuchungen, z. B. in der Gutenberg Gesundheitsstudie, werden aufzeigen, inwieweit die Versorgung in der Augenheilkunde, insbesondere bei den Volkskrankheiten Katarakt, altersassoziierter Makuladegeneration, Glaukom und Brechkraftfehler, durch den demographischen Wandel beeinflusst wird. Hieraus werden sich neue Versorgungsmodelle ableiten lassen. Wir werden einerseits auf Daten aus unterschiedlichen Bevölkerungsstudien zurückgreifen, andererseits aber auch augenärztliche Abrechnungsdaten nutzen, um eine bedarfsgerechte Versorgung der Bevölkerung mit augenärztlichen Gesundheitsleistungen zu gewährleisten.



Dr. med. Alexander K. Schuster studierte Medizin und Medizinische Physik an der Medizinischen Fakultät Mannheim der Universität

Heidelberg. Er schloss seine Promotion am Mannheimer Institut für Public Health mit »summa cum laude« ab. Anschließend begann er seine Weiterbildungszeit in der Ophthalmologie an der Unimedizin Mannheim und setzte diese an der Universitätsmedizin Mainz fort. Dort forscht er in der ophthalmologischen Epidemiologie und Versorgungsforschung über das Auftreten von Augenerkrankungen und deren Risikofaktoren in der allgemeinen Bevölkerung und betrachtet die augenärztlichen Versorgungsstrukturen näher. Berufsbegleitend studiert er Epidemiologie an der Johannes Gutenberg-Universität Mainz.

KONTAKT



Dr. Alexander K. Schuster

Augenklinik und Poliklinik
Universitätsmedizin Mainz
Langenbeckstraße 1
55131 Mainz
Telefon: 06131 17-8213
Telefax: 06131 17-6620
E-Mail:
alexander.schuster@unimedizin-mainz.de

LITERATUR

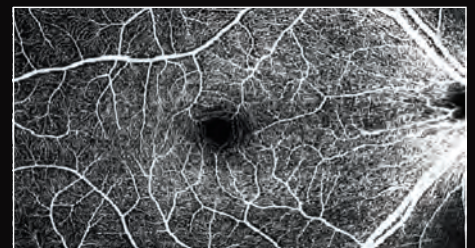
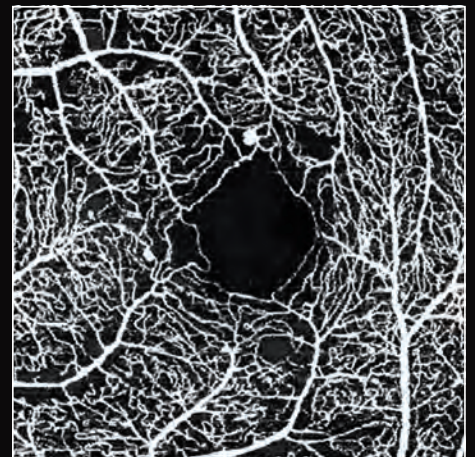
1. Korb C. A., Kottler U. B., Wolfram C. et al. (2014) Prevalence of age-related macular degeneration in a large European cohort: results from the population-based Gutenberg Health Study. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 252: 1403–1411.
2. Lamparter J., Raum P., Pfeiffer N. et al. (2014) Prevalence and associations of diabetic retinopathy in a large cohort of prediabetic subjects: the Gutenberg Health Study. *J Diabetes Complications* 28: 482–487.
3. Mirshahi A., Ponto K. A., Hoehn R. et al. (2014) Myopia and level of education: results from the Gutenberg Health Study. *Ophthalmology* 121: 2047–2052.
4. Mirshahi A., Ponto K. A., Laubert-Reh D. et al. (2016) Myopia and Cognitive Performance: Results From the Gutenberg Health Study. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 57: 5230–5236.
5. Ponto K. A., Koenig J., Peto T. et al. (2016) Prevalence of diabetic retinopathy in screening-detected diabetes mellitus: results from the Gutenberg Health Study (GHS). *Diabetologia* 59: 1913–1919.
6. Raum P., Lamparter J., Ponto K. A. et al. (2015) Prevalence and Cardiovascular Associations of Diabetic Retinopathy and Maculopathy: Results from the Gutenberg Health Study. *PLoS One* 10: e0127188.
7. Schuster A. K., Elfle H. M., Pokora R. et al. (2017) [Childhood strabismus in Germany: Prevalence and risk groups: Results of the KiGGs survey]. *Bundesgesundheitsblatt Gesundheitsforschung Gesundheitsschutz*.
8. Schuster A. K., Elfle H. M., Pokora R. et al. (2017) [Prevalence and Risk Factors of Myopia in Children and Adolescents in Germany - Results of the KiGGs Survey]. *Klin Padiatr* 229: 234–240.
9. Schuster A. K., Pfeiffer N., Schulz A. et al. (2017) The impact of pseudophakia on vision-related quality of life in the general population – The Gutenberg Health Study. *Aging (Albany NY)* 9: 1030–1040.
10. Wolfram C., Hohn R., Kottler U. et al. (2014) Prevalence of refractive errors in the European adult population: the Gutenberg Health Study (GHS). *Br J Ophthalmol* 98: 857–861.



SPECTRALIS®

OCT2 Modul und OCT-Angiografie Modul

OCT-Angiografie



Das **SPECTRALIS®** ist eine ophthalmologische Bildgebungsplattform mit einem erweiterbaren und modularen Aufbau.

Das **OCT2** ist das OCT-Modul der nächsten Generation für die SPECTRALIS Plattform.

Es bietet eine verbesserte Bildqualität über die gesamte Bildtiefe bei einer deutlich erhöhten Aufnahmegeschwindigkeit und stellt damit die passende Plattform für neuartige Anwendungen wie die **OCT-Angiografie** dar.

Das 4F-Peptid als potentieller Wirkstoff bei AMD

DR. MED. ARMIN MIR MOHI SEFAT, PRIV.-DOZ. DR. MED. MARTIN RUDOLF

Klinik für
Augenheilkunde
Universität zu Lübeck

Die altersbedingte Makuladegeneration (AMD) ist in den Industrienationen, unter der älteren Bevölkerung, der häufigste Grund für eine Erblindung im Sinne des Gesetzes.

Erhöhtes Alter und ein Zusammenspiel aus genetischen und Umweltfaktoren sind als Risikofaktoren für die Entwicklung der AMD anzusehen. Daraus resultieren bereits im Frühstadium der Erkrankung Ablagerungen im zentralen Netzhautbereich [1]. Klinisch zeigen sich diese Veränderungen als Drusen im Makulabereich und sind assoziiert mit einer chronischen, subklinischen Entzündungsreaktion in tieferen Netzhautschichten, welche zur Ablagerung von Cholesterinestern und Cholesterin, oxidierten Phospholipiden, Kohlenhydraten und diversen Proteinen im Bereich der Bruch-Membran führen [2, 3] (**Abbildung 1**).

Diese Veränderungen, die den Ablagerungen der Gefäßintima bei Arteriosklerose ähneln [4], sind wahrscheinlich verantwortlich für die sich später entwickelnden atrophischen und neovaskulären Formen der Erkrankung. Eine attraktive Therapieform sollte deshalb im frühen Stadium AMD und bei den Ablagerungen eingreifen, um die hierauf basierenden später eintretenden Komplikationen zu vermeiden.

Aktuelle Studien aus der Arterioskleroseforschung befassen sich mit der Auflösung solcher Ablagerungen. Vielversprechend zeigten sich Untersuchungen mit dem synthetisch hergestellten Peptid 4F [5–7]. Dieses amphiphile Peptid ist der α -Untereinheit des Apolipoprotein-AI nachempfunden, welche als eine funktionelle Gruppe des »high density lipoprotein« (HDL) den Abtransport von Cholesterin, Phospholipiden und Fettsäuren aus der Peripherie in die Leber bewirkt [8]. Es imitiert diverse biologische Eigenschaften des HDL und ist in verschiedenen tier-experimentellen Modellen untersucht worden. Es hat eine hohe Affinität zu oxidierten Lipiden und Phospholipiden und führt zur Reduktion des oxidativen Stresses durch Abbau von oxidierten LDL Partikeln [9]. Außerdem kann es proinflammatorische HDL Partikel zu antiinflammatorischen prä- β -HDL umwandeln, den Cholesterin-Efflux erhöhen und die Makrophagen Chemotaxis inhibieren.

Das 4F Peptid wurde bereits in Phase II Studien am Menschen getestet und weder eine Toxizität noch andere unerwünschte Nebenwirkungen gezeigt [10–13].

Vor dem Hintergrund, dass es sich bei der AMD um eine chronische Entzündungsreaktion handelt bei dem oxidativer Stress und Lipidakkumulation eine

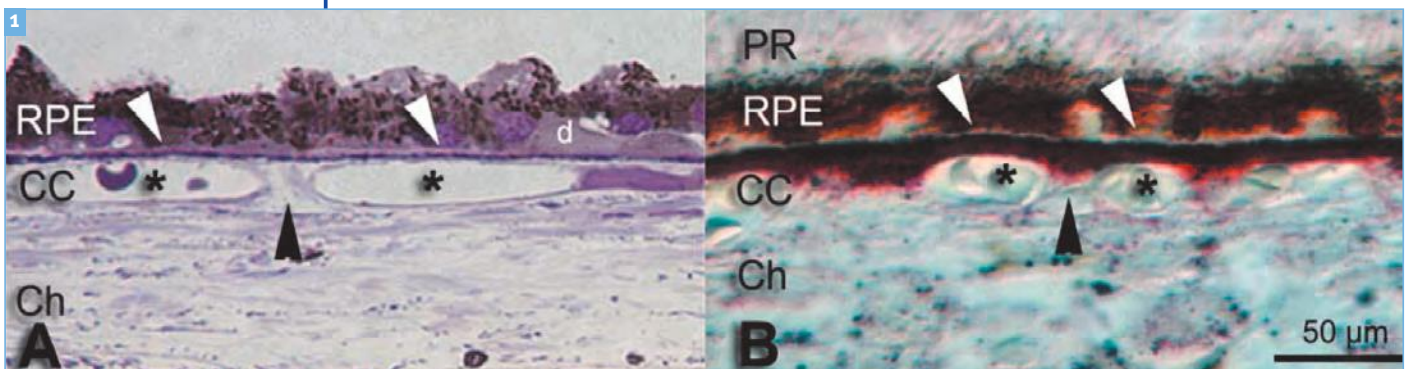
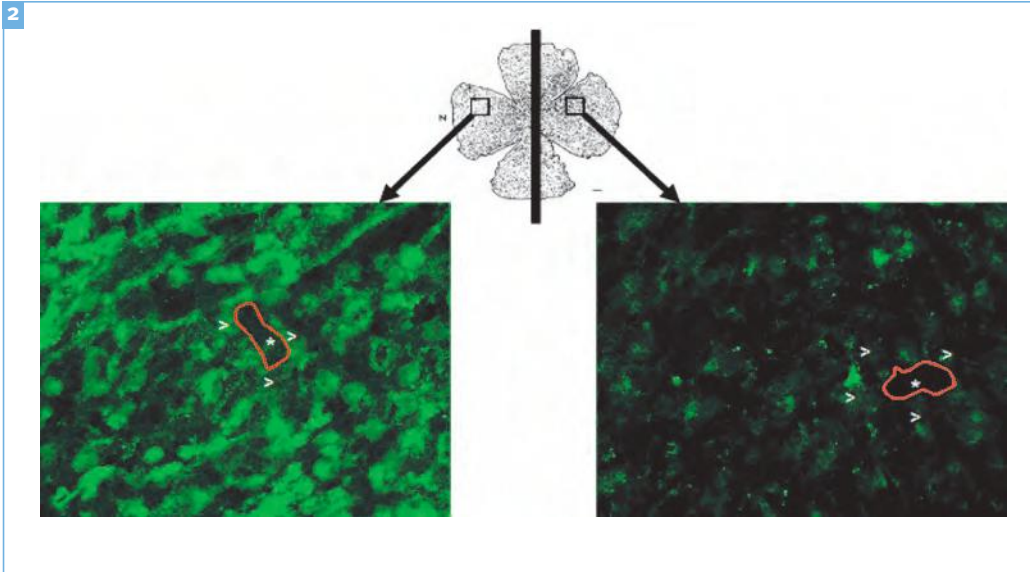


Abbildung 1

■ RPE-Bruch-Membran-Chorioidea-Komplex; Ch: Chorioidea; CC: Choriokapillaris; **weiße Pfeile:** Bruch-Membran; **schwarze Pfeile:** interkapilläres Stützgewebe; RPE: retinales Pigmentepithel; PR: Photorezeptoren; **d:** Druse; *choriokapilläres Lumen
A) Histologie eines 73-jährigen Patienten mit beginnender Drusenformierung (d); **B)** In der Bruch-Membran eines 82-jährigen Patienten lässt sich eine massive Ansammlung von neutralen Lipiden nachweisen, die hier mittels Oil red O (rot) visualisiert wurde.

Aus »Rudolf M. et al. Esterified cholesterol is highly localized to Bruch's membrane, as revealed by lipid histochemistry in wholemounts of human choroid« J Histochem Cytochem 2009; 57 (8): 731–739.



wichtige Rolle spielen [14], ist das Peptid 4F hochinteressant als zukünftige Behandlungsoption bereits in frühen Krankheitsstadien.

Wir haben die Verteilung und den Einfluss von 4F auf Cholesterinablagerungen der Bruch-Membran nach intravitrealer Injektion in einem Mausmodell untersucht. Um die Lipidakkumulation fluoreszenzmikroskopisch nachweisen und nachverfolgen zu können entwickelten wir einen speziellen Cholesterinesterfarbstoff (PFO/D4-GFP), der auf ein Bakterientoxin Perfringolysin O (PFO) basiert [15]. Mit dieser Technik lassen sich feinste Lipidablagerungen in der 500 nm dicken Bruch-Membran von Mäusen nachweisen.

Die Wirksamkeit des 4F Peptids wurde nach intravitrealer Injektion in ApoE^{null} Mäusen untersucht. Diese zeichnen sich durch eine massive Akkumulation von Lipiden im Bereich der Bruchmembran aus.

Nach Injektion und 30-tägiger Wirkzeit erfolgte Flächenpräparation und Darstellung von Cholesterinestern (**Abbildung 2**).

Es zeigte sich eine deutliche Reduktion von Cholesterinestern in der Bruch-Membran bei ApoE^{null} Mäusen durch die einmalige Gabe des Apo-AI-Mimetikums 4F zwischen dem behandelten und unbehandelten Auge (**Abbildung 3**).

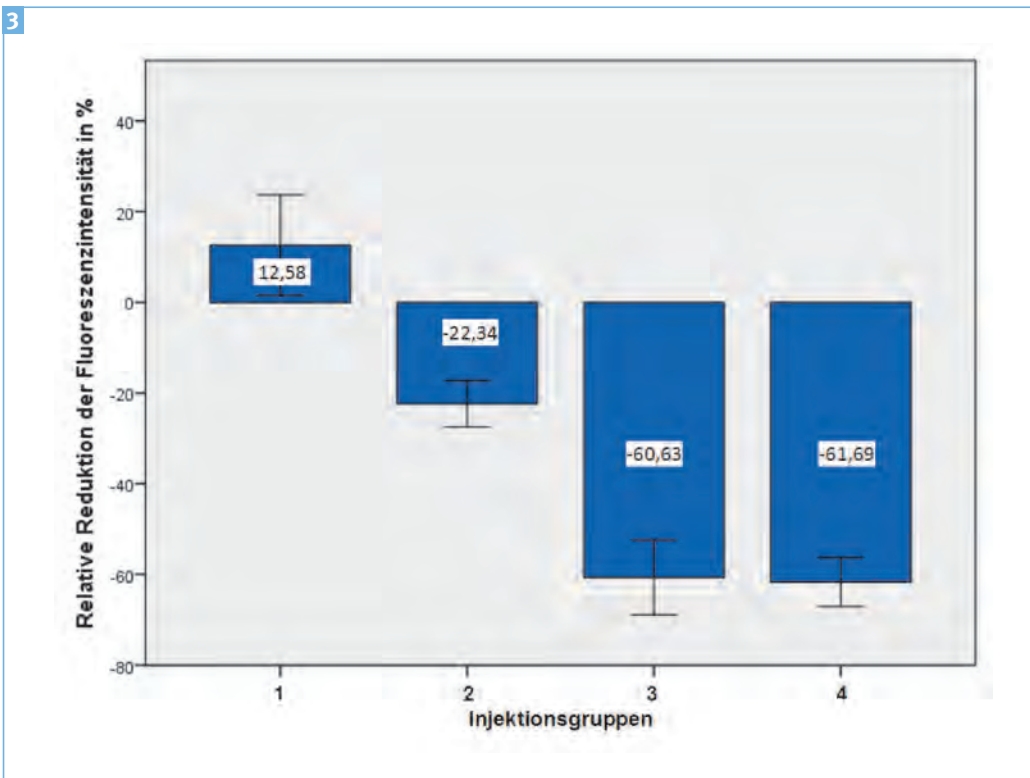


Abbildung 2

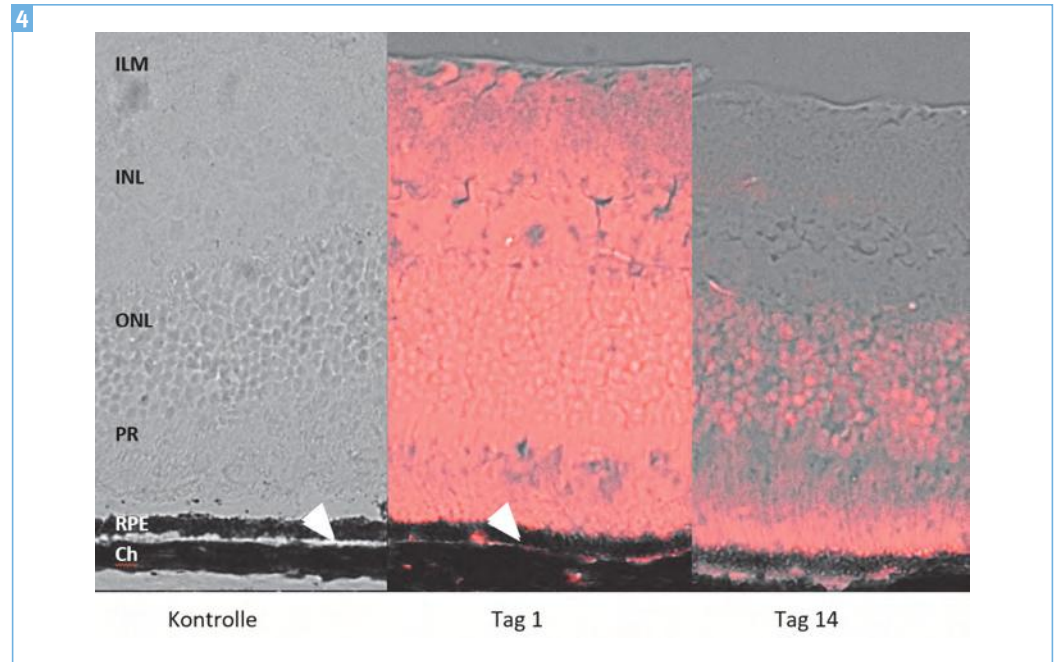
■ Ausmessung der Fluoreszenzintensität der Bruch-Membran am Flächenpräparat
Oben: Schematische Darstellung eines Flächenpräparates
Rechts: Fluoreszenzmikroskopisches Bild eines Flächenpräparates eines unbehandelten Auges
Links: Fluoreszenzmikroskopisches Bild eines Flächenpräparates eines behandelten Auges
 > Choriokapilläres Stützgewebe; * Lipidablagerungen in der BrM; **Markierung:** ROI (Freihandauswahl)

Abbildung 3

■ Mittelwert der relativen Reduktion der Fluoreszenzintensität in % innerhalb jeder Gruppe aus behandeltem und unbehandeltem Auge, (pro Gruppe n=8).
Gruppe 1 = NaCl-Lösung;
Gruppe 2 = 0,6 µg D-4F;
Gruppe 3 = 1,2 µg D-4F;
Gruppe 4 = 2,4 µg D-4F

Abbildung 4

■ **Histologische Schnitte der Netzhaut von ApoE^{null} Mäusen nach intravitrealer Gabe von FITC-Markiertem-4F bei Tag 1 und 14 nach Injektion. Gegenübergestellt Kontrollgruppe. Pfeil: Bruch-Membran; ILM: internal limiting membrane; INL: inner nuclear layer; ONL: outer nuclear layer; PR: Photorezeptor; RPE: Retinal-Pigmentepithelium; Ch: Choroidea**



Die pharmakodynamischen Untersuchungen ergaben, dass bereits nach einem Tag der Wirkstoff die gesamte Retina durchwandert hat und in der Choroidea nachzuweisen ist (**Abbildung 4**). Während die Fluoreszenzintensität in den äußeren Retinaschichten über die Zeit abnimmt, bleibt sie im Bereich der Choroidea relativ stabil (**Abbildung 5**).

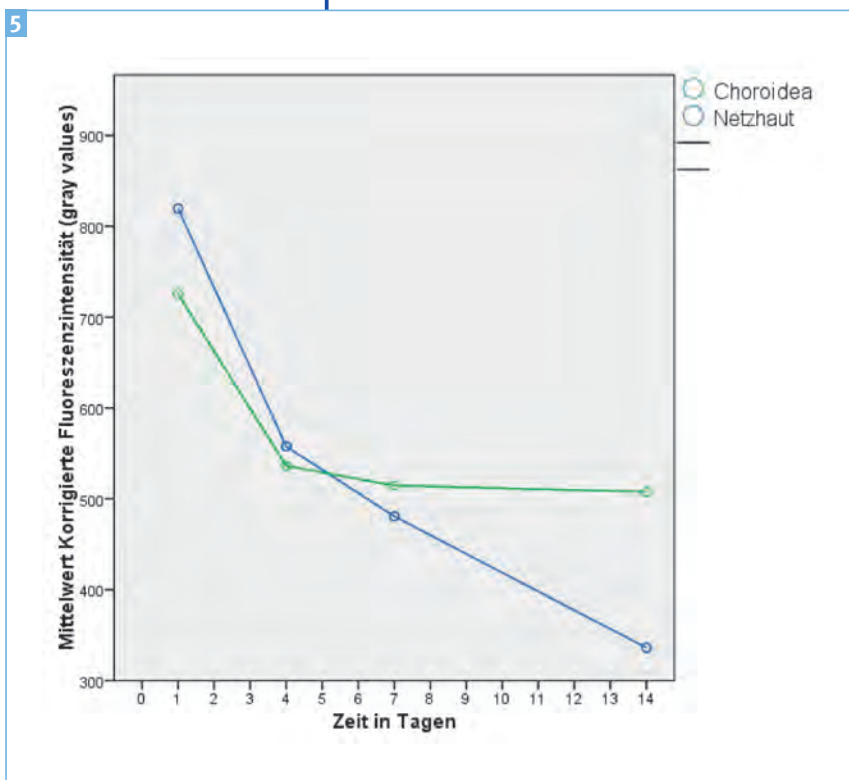
Die vorliegenden Studien zeigen, dass im Mausmodell Lipidablagerungen in der Bruch-Membran durch das Apo-AI-Mimetikum 4F nach intravitrealer Gabe aufgelöst werden können. Zudem haben

wir das 4F Peptid bereits vielversprechend nach oraler Gabe im Mausmodell und intravitrealer Gabe im Primatenmodell getestet.

Durch die Reduktion der subretinalen Lipide wird die Grundlage der komplexen und multifaktoriellen Pathogenese der AMD entscheidend beeinflusst.

Abbildung 5:

■ **Vergleich des Medikamentennachweises über 14 Tage innerhalb der Netzhaut und Choroidea**

**LITERATUR**

1. Ambati J., Ambati B.K., Yoo S.H., Ianchulev S., Adamis A.P. Age-related macular degeneration: etiology, pathogenesis, and therapeutic strategies. *Survey of ophthalmology* 2003; 48: 257–93.
2. Curcio C.A., Presley J.B., Malek G., Medeiros N.E., Avery D.V., Kruth H.S. Esterified and unesterified cholesterol in drusen and basal deposits of eyes with age-related maculopathy. *Experimental eye research* 2005; 81: 731–41.
3. Suzuki M., Kamei M., Itabe H., et al. Oxidized phospholipids in the macula increase with age and in eyes with age-related macular degeneration. *Molecular vision* 2007; 13: 772–8.
4. Mullins R.F., Russell S.R., Anderson D.H., Hageman G.S. Drusen associated with aging and age-related macular degeneration contain proteins common to extracellular deposits associated with atherosclerosis, elastosis, amyloidosis, and dense deposit disease. *Faseb J* 2000; 14: 835–46.
5. Ohashi R., Mu H., Wang X., Yao Q., Chen C. Reverse cholesterol transport and cholesterol efflux in atherosclerosis. *Qjm* 2005; 98: 845–56.
6. Navab M., Anantharamaiah G.M., Hama S., et al. Oral administration of an Apo A-I mimetic Peptide synthesized from D-amino acids dramatically reduces atherosclerosis in mice independent of plasma cholesterol. *Circulation* 2002; 105: 290–2.

7. Datta G., Chaddha M., Hama S., et al. Effects of increasing hydrophobicity on the physical-chemical and biological properties of a class A amphipathic helical peptide. *Journal of lipid research* 2001; 42: 1096–104.
8. Navab M., Anantharamaiah G. M., Reddy S. T., et al. Human apolipoprotein A-I and A-I mimetic peptides: potential for atherosclerosis reversal. *Current opinion in lipidology* 2004; 15: 645–9.
9. Navab M., Anantharamaiah G. M., Reddy S. T., et al. Oral D-4F causes formation of pre-beta high-density lipoprotein and improves high-density lipoprotein-mediated cholesterol efflux and reverse cholesterol transport from macrophages in apolipoprotein E-null mice. *Circulation* 2004; 109: 3215–20.
10. Van Lenten B. J., Wagner A. C., Anantharamaiah G. M., et al. Apolipoprotein A-I mimetic peptides. *Current atherosclerosis reports* 2009; 11: 52–7.
11. Van Lenten B. J., Wagner A. C., Jung C. L., et al. Anti-inflammatory apoA-I-mimetic peptides bind oxidized lipids with much higher affinity than human apoA-I. *Journal of lipid research* 2008; 49: 2302–11.
12. Bloedon L. T., Dunbar R., Duffy D., et al. Safety, pharmacokinetics, and pharmacodynamics of oral apoA-I mimetic peptide D-4F in high-risk cardiovascular patients. *Journal of lipid research* 2008; 49: 1344–52.
13. Watson C. E., Weissbach N., Kjems L., et al. Treatment of patients with cardiovascular disease with L-4F, an apoA-I mimetic, did not improve select biomarkers of HDL function. *Journal of lipid research* 2011; 52: 361–73.
14. Rudolf M., Curcio C. A. Esterified cholesterol is highly localized to Bruch's membrane, as revealed by lipid histochemistry in wholemounts of human choroid. *The journal of histochemistry and cytochemistry: official journal of the Histochemistry Society* 2009; 57: 731–9.
15. Mohi A., Rudolf M., Dettbarn M. C., et al. Detection of esterified cholesterol in murine Bruch's membrane wholemounts with a perfringolysin O-based cholesterol marker. *Investigative ophthalmology & visual science* 2014; 55: 4759–67.

Dr. med. Armin Mir Mohi Sefat, Jahrgang 1984, ist seit 2016 als Funktions-Oberarzt an der Univ.-Augenlinik Lübeck tätig. Nach der Schulausbildung in Wolfhagen studierte Dr. Mohi an der Lübecker Universität Medizin und promovierte im Jahr 2015 mit einer Doktorarbeit zur Verteilung und Wirkung von Apolipoprotein-Mimetikum 4F auf subretinale Lipidablagerungen im Mausmodell. Seitdem arbeitet er in der Forschungsgruppe für translationale AMD Forschung der Augenlinik zu Lübeck an weiteren Projekten zum Einsatz

von Apolipoproteinmimetika im Bereich der Augenheilkunde.

Dr. med. Armin Mir Mohi Sefat

Universitätsklinikum Schleswig-Holstein
Klinik für Augenheilkunde
Campus Lübeck
Ratzeburger Allee 160 (Haus 30)
23538 Lübeck
Telefon: 0451 500-43916
Telefax: 0451 500-43914
E-Mail: Armin.Mohi@uksh.de

Priv.-Doz. Dr. med. Martin Rudolf, Jahrgang 1973, ist seit 2016 als stellv. Klinikdirektor und Oberarzt an der Univ.-Augenlinik Lübeck tätig. Nach seiner Schulausbildung in Rostock studierte Dr. Rudolf in Rostock und Kiel Humanmedizin. Er promovierte in Rostock mit einer Doktorarbeit zur Astigmatismusentwicklung nach Phakoemulsifikation der Linse und nach konventioneller ECCE-Technik. 2006 erhielt Herr Dr. Rudolf seine Anerkennung zum Facharzt und habilitierte 2010 an der Universität zu Lübeck. Seine wissenschaftlichen Schwerpunkte liegen in der Erforschung und Therapie der Altersabhängigen Makulade-

generation, für die er zahlreiche Preise und Förderungen erhielt.

Priv.-Doz. Dr. Martin Rudolf

Universitätsklinikum Schleswig-Holstein
Klinik für Augenheilkunde
Campus Lübeck
Ratzeburger Allee 160 (Haus 30)
23538 Lübeck
Telefon: 0451 500-43910
Telefax: 0451 500-43914
E-Mail: Martin.Rudolf@uksh.de



KONTAKT



KONTAKT



Intrastromale Refraktive Chirurgie mit dem Femtosekundenlaser

UNIV.-PROF. DR. MED. WALTER SEKUNDO¹, PROF. DR. MED. MARCUS BLUM²,
 PROF. DR. DR. FARHAD HAFEZI^{3,4,5}, DR. SABINE KLING³,
 APOSTOLOS LAZARIDIS^{1,6}, DIPL.-ING. ANKE MESSERSCHMIDT-ROTH¹,
 BOGDAN SPIRU¹

1 **Universitäts-Augenklinik Marburg am UKGM und Philipps Universität Marburg**

2 **Augenklinik, Helios Klinikum Erfurt**

3 **Laboratory of Ocular Cell Biology, Center for Applied Biotechnology and Molecular Medicine, Universität Zürich, Schweiz**

4 **ELZA-Institute, Dietikon, Schweiz**

5 **University of Southern California, Los Angeles, USA**

6 **Eye Institute Cleveland Clinic Abu Dhabi, VAE**

Einer der wichtigen wissenschaftlichen Schwerpunkte der Marburger Universitäts-Augenklinik seit 2005 bestand in der Entwicklung der intrastromalen cornealen refraktiven Hornhautchirurgie. In diesem kurzen Assay gehe ich auf die wichtigsten jüngsten Arbeiten unserer Arbeitsgruppe ein, die entweder bereits publiziert oder sich im Prozess der Publikation bzw. Einreichung befinden.

HISTORISCHES & EINFÜHRUNG

Zusammen mit Marcus Blum (Erfurt) und Fa. Carl Zeiss Meditec habe ich die intrastromale refraktive Femtosekundenlaser-Chirurgie (also ohne Excimerlaser) bis zur klinischen Reife gebracht. Der erste Schritt war die Etablierung der Femtosekunden-Lentikel-Extraktion (FLEX), eines Verfahrens, bei dem sowohl der Flap als auch die zu entfernende Gewebelinse (»Lentikel«) alleinig mittels Femtosekundenlaser erzeugt wird [1]. Durch die weitere Entwicklung konnten wir zum ersten Mal auf das Schneiden eines Flaps verzichten und diesen durch zwei, zunächst noch je 5 mm große Schnitte ersetzen: Das war die Geburtsstunde der flaplosen intrastromalen Laserchirurgie, was das Verfahren radikal von der damals weit verbreiteten LASIK-Operation unterschied, die ohne Flap nicht funktionieren kann [2]. Diese neue OP, bei der der Zugang immer kleiner wurde und heute in erfahrenen Händen zwischen 2 und 3mm liegt, hat dann

von dem Laserhersteller einen werbewirksamen Namen bekommen: »SMILE«. Dabei steht das Akronym für »Small Incision Lenticule Extraction«, also im Gegensatz zu FLEX, für eine Lentikel-Extraktion durch einen kleinen Schnitt (**Abb. 1**). Nun ist das Verfahren für die Behandlung der Myopie und myopen Astigmatismus längst etabliert. Mit der FDA-Zulassung Ende 2016 hat diese OP die letzte Hürde genommen und ist tatsächlich weltweit vorhanden. Die Zahlen sprechen für sich: nach Herstellerangaben liegt die Zahl der registrierten Operationen zum Zeitpunkt der Erscheinung dieses Hefts bei rund einer Million operierten Augen. Nach dem Erscheinen eines Lehrbuchs auf Chinesisch liegt seit über einem Jahr auch ein internationales englischsprachiges Lehrbuch vor [3].

Gegenüber der nach wie vor verbreiteten Lasik bzw. Femtolasik scheint die SMILE-Methode 2 wichtige Vorteile zu haben:

- 1) Durch den geringeren Schnitt wird weniger corneales Nervengewebe geschädigt, sodass die postoperative neutrophe Keratopathie, die zur transienten Sicca-Symptomatik führt, weniger ausgeprägt ist und
- 2) Durch die Erhaltung der anterioren Hornhautlamellen soll die biomechanische Stabilität der Hornhaut weniger beeinträchtigt sein als bei lamellären, flaphaltigen Verfahren (Lasik, Femtolasik, FLEX). Insbesondere die letztere These ist nicht ganz unumstritten gewesen, so lag ihr lediglich eine theoretisch-mathematische Berechnung zugrunde [4].

Wenngleich wir in einer 5-Jahres-Studie zeigen konnten, dass die Langzeitergebnisse von SMILE denen der Lasik-Operation in nichts nachstehen [5] wird als ein gegenwärtiger Schwachpunkt der neuen Technologie die Tatsache wahrgenommen, dass SMILE lediglich für Kurzsichtigkeitsbehandlung verwendet wird und die ersten Behandlungen der Weitsichtigkeit enttäuschende Ergebnisse brachten [6].

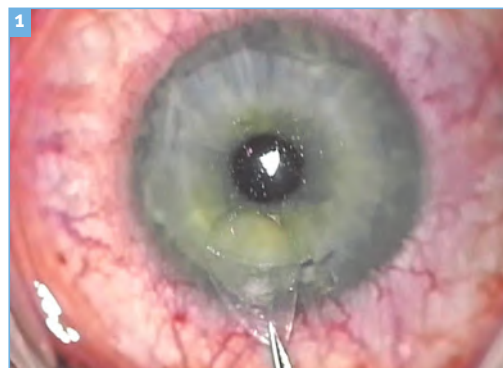


Abbildung 1

■ Ein Videoausschnitt: der vom Femtosekundenlaser geschnittene Lentikel (von »lenticula« = Linse) wird nach erfolgter manueller Separation mit einer Pinzette durch eine kleine Inzision entfernt.

AKTUELLE ARBEITEN ZU DEN OBEN GENANNTEN THEMEN

BIOMECHANIK DER HORNHAUT NACH SMILE

In enger Zusammenarbeit mit der Arbeitsgruppe Kling und Hafezi (Zürich/Schweiz) führten wir folgende experimentelle Arbeiten durch:

In der ersten Arbeit »Biomechanische Unterschiede zwischen FLEx und SMILE an Schweinehornhäuten gemessen mit der 2-D-Extensiometrie« publiziert in Investigative Ophthalmology and Visual Sciences (IOVS) haben wir 3 Gruppen mit je 15 Augen gebildet. Zwei Gruppen erhielten eine FLEx bzw. eine SMILE-Korrektur mit -14 dpt, während die dritte Gruppe als Kontrollgruppe diente. Die **Abb. 2** zeigt den Stresswiderstand. Dieser war bei unbehandelten Hornhäuten 402 ± 30 kPa, nach SMILE erwartungsgemäß geringer mit 392 ± 19 kPa. Wird im Rahmen einer Korrektur jedoch ein Flap geschnitten, in unserem Fall bei der FLEx-OP, schwächt dieser die Hornhaut zusätzlich und deren Resistenz liegt bei 370 ± 36 kPa. Somit wurde zum ersten Mal auch ein experimenteller Nachweis geliefert, dass SMILE – verglichen mit flapbasierten Verfahren – zu einer geringeren Destabilisierung der Hornhaut beiträgt [7].

In einer zweiten Studie widmeten wir uns der Frage welche Nachbehandlungsmethode nach einer SMILE-OP die Stabilität am wenigsten beeinträchtigt und in wie weit eine Vernetzung im Rahmen einer refraktiven Laseroperation zu der Festigkeit beiträgt. Hierfür behandelten wir 96 Schweinehornhäute und bildeten 6 Gruppen. 34 Augen dienten als Kontrolle, während 28 Augen eine »Lasik-Konversion« und 19 Augen eine PRK auf das Cap bekommen haben. Bei 15 weiteren Augen wurde eine Re-SMILE simuliert. Außerdem haben wir nach der Testung sowohl die Kontroll-

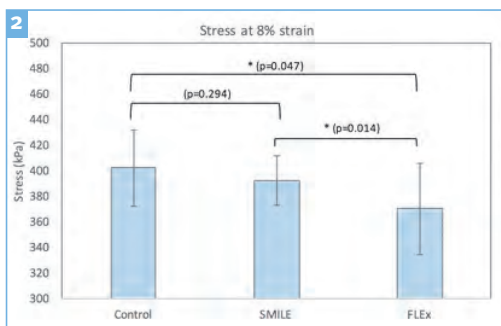
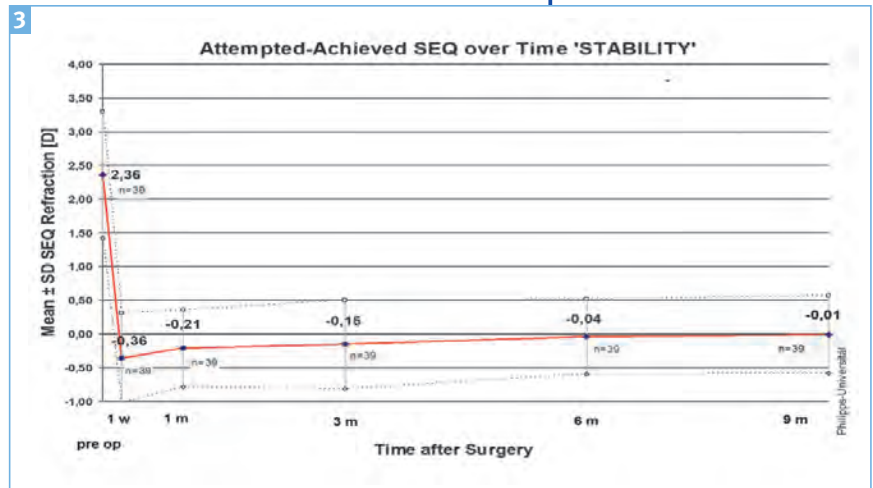


Abbildung 2
 ■ Stresswiderstand getesteter Schweinehornhäute. Dabei zeigen unbehandelte Hornhäute die höchste Festigkeit gefolgt von mit SMILE behandelten Hornhäuten. Das Schlusslicht bilden Hornhäute, die mit einem flapbasierten Verfahren FLEx korrigiert wurden.



gruppe als auch die Flap-Gruppe über 10 Minuten mit 9 mW vernetzt. Die Ergebnisse entsprachen voll und ganz unseren Erwartungen. Sowohl für den Stresswiderstand als auch für das Elastizitätsmodul schnitten die vernetzten Hornhäute am besten ab, gefolgt von den unbehandelten Kontroll-Corneae. Eine RE-SMILE hatte einen geringeren Einfluss auf die Festigkeit als die PRK nach SMILE. Die Erzeugung eines Flaps hingegen hat zu einer weiteren Destabilisierung beigetragen [8]. Gegenwärtig wiederholen wir diese Versuche an humanen Hornhäuten.

Abbildung 3
 ■ Stabilität der erzielten Refraktionsänderung bei Femtosekundenlaser-Hyperopiebehandlung (FLEx).

Auch in der Frage der Weitsichtigkeitsbehandlung mittels Femtosekundenlaser sind wir ein gewaltiges Stück vorangekommen. In einer engen Kooperation mit Marcus Blum (Erfurt) wurden zwei Studien durchgeführt. Zunächst haben wir zusammen mit den Physikern der Fa. Carl Zeiss Meditec AG die Laserprofile geändert um das Problem der

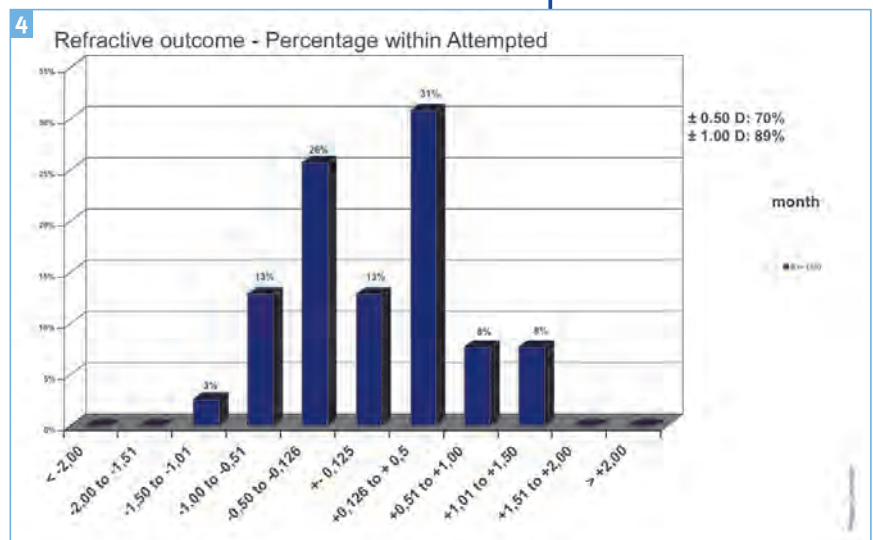


Abbildung 4
 ■ Vorhersagbarkeit der FLEx-Hyperopie-Operation nach 9 Monaten mit 89 % der Augen innerhalb 1 dpt um die Zielrefraktion.

Regression in den Griff zu bekommen. Hierfür wurde eine große, an die Stärke der Korrektur angepasste dynamische Übergangszone entwickelt. Wie bereits bei der Etablierung der Myopie-Behandlung haben wir im ersten Schritt die Profile als FLEx-Behandlung getestet. Diese Einstellungen wurden in einer Pilotstudie an 9 Augen mit sphärischer Hyperopie erfolgreich getestet [9]. Unter Berücksichtigung der aus der Pilotstudie gewonnenen Erkenntnisse behandelten wir 39 Augen mit Weitsichtigkeit und Astigmatismus. Das Ergebnis lässt sich wahrhaftig sehen. Die **Abbildung 3** zeigt eine Stabilität über 9 Monate, die dem Excimerlaser in nichts nachsteht. Auch die Vorhersagbarkeit (**Abb. 4**) kommt den modernen Excimergeräten sehr nahe. Diese Resultate zusammen mit den Erkenntnissen aus den ersten hyperopen SMILE-Behandlungen in Nepal [10] führten zu einer im Sommer 2017 begonnenen Multicenter-Zulassungsstudie für hyperope SMILE. Wir sind zuversichtlich innerhalb weniger Jahre auch die Behandlung der Hyperopie zu etablieren. Für sehr hohe Hyperopie und Astigmatismuswerte bietet sich auch eine Lentikeltransplantation an [11].



KONTAKT



Univ.-Prof. Dr. med. Walter Sekundo
 Universitätsklinikum Gießen
 und Marburg GmbH
 und
 Philipps-Universität Marburg
 Baldinger Straße
 35043 Marburg
 Telefon: 06421 586-6275
 Telefax: 06421 586-5678
 E-Mail: sekundo@med.uni-marburg.de

LITERATUR

1. Sekundo W., Kunert K., Russmann C., Gille A., Bissmann W., Stobrawa G., Sticker M., Bischoff M., Blum M. First efficacy and safety study of femtosecond lenticule extraction for the correction of myopia: six-month results. *J Cataract Refract Surg.* 2008; 34: 1513–20.
2. Sekundo W., Kunert K.S., Blum M. Small incision corneal refractive surgery using the small incision lenticule extraction (SMILE) procedure for the correction of myopia and myopic astigmatism: results of a 6 month prospective study. *Br J Ophthalmol.* 2011; 95: 335–9.
3. Sekundo W. (Hrsgb.) Small Incision Lenticule Extraction. Principles, Techniques, Complication management and Future Concepts. Springer 2015.
4. Reinstein D.Z., Archer T.J., Randleman J.B. Mathematical model to compare the relative tensile strength of the cornea after PRK, Lasik, and Small incision lenticule extraction. *J Refract Surg* 2013; 29: 454–460.
5. Blum M., Täubig K., Gruhn C., Sekundo W., Kunert K.S. Five-year results of Small Incision Lenticule Extraction (ReLEx SMILE). *Br J Ophthalmol* 2016; 100: 1192–1195.
6. Blum M., Kunert K.S., Voßmerbäumer U., Sekundo W. Femtosecond lenticule extraction (ReLEx) for correction of hyperopia – first results. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol.* 2013 Jan; 251 (1): 349–55.
7. Spuru B., Kling S., Hafezi F., Sekundo W. Biomechanical Differences Between Femtosecond Lenticule Extraction (FLEx) and Small Incision Lenticule Extraction (SMILE) Tested by 2D-Extensometry in Ex Vivo Porcine Eyes. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2017; 58: 2591–2595.
8. Kling S., Spuru B., Hafezi F., Sekundo W. Biomechanical Weakening of Different Re-treatment Options After Small Incision Lenticule Extraction (SMILE). *J Refract Surg.* 2017; 33: 193–198.
9. Sekundo W., Reinstein D.Z., Blum M. Improved lenticule shape for hyperopic femtosecond lenticule extraction (ReLEx FLEx): a pilot study. *Lasers Med Sci.* 2016; 31: 659–64.
10. Reinstein D.Z., Pradhan K.R., Carp G.I., Archer T.J., Gobbe M., Sekundo W., Khan R., Dhungana P. Small Incision Lenticule Extraction (SMILE) for Hyperopia: Optical Zone Diameter and Spherical Aberration Induction. *J Refract Surg.* 2017; 33: 370–376.
11. Lazaridis A., Messerschmidt-Roth A., Sekundo W., Schulze S. Refractive Lenticule Implantation for Correction of Ametropia: Case Reports and Literature Review. *Klin Monbl Augenheilkd.* 2017; 234: 77–89.

InFo Instant Focus[®] – die Premium IOL für zufriedene Patienten und zufriedene Ärzte

Eine Linse aus der Schweiz setzt neue Maßstäbe im Premium IOL Markt. Die Intraokularlinse (IOL) InFo Instant Focus[®] wurde im Dezember 2015 CE-zertifiziert und verleiht Patienten aufgrund ihres einzigartigen Designs sofort ein perfektes Sehvermögen.

Die patentgeschützte EDOF-Technologie (Extended Depth Of Focus), ersetzt die natürliche Akkommodation der Augenlinse. Im Zentrum der Linse sitzt ein asphärischer Teil, durch den ein pseudo nicht diffraktiver Lichtstrahl (PNDB) übertragen wird. Dieses sogenannte Axikon Prinzip erhöht die Tiefenschärfe und ermöglicht eine hohe Auflösung und Lichtintensität. Das Gehirn wird nicht durch mehrere Brennpunkte irritiert und passt sich somit schneller und ohne visuelle Beeinträchtigung an das neue Sehvermögen an.

Im vergangenen Jahr erhielt der Hersteller positive Rückmeldungen aus der Schweiz, Italien, Frankreich, Belgien, Hong Kong und Südafrika. Auch in Deutschland wurde die Linse vielfach implantiert. Ärzte und Patienten zeigen sich äußerst zufrieden mit den Resultaten. Selbst unter schwierigen Bedingungen weist die Linse hervorragende Abbildungs-

erscheinungen auf und ist in der Lage, die optische Qualität ohne Einschränkungen des Auflösungsvermögens sofort zu verbessern. Halo-Phänomene sind mit der InFo IOL sehr selten und eine sofortige Brillunenabhängigkeit (Ferne, Intermediär und Nähe) ist garantiert. InFo Instant Focus[®] ist momentan die einzige Premium Linse, die eine gute Sehkraft auf alle Entfernungen, ohne optischen Nebenwirkungen, ermöglicht und den Patienten die Sehkraft eines gesunden 20-Jährigen zurückgibt.

Für operierende Ärzte ist die InFo Instant Focus[®] im Vergleich zu anderen Premium IOLs deutlich einfacher zu handhaben. Die hydrophile IOL entfaltet sich langsam und zeichnet sich insbesondere durch eine gute Zentrierung aus. Die IOL ist in zwei Größen (10,8 mm und 12,4 mm), in einem Bereich von 5 Dpt. bis 30 Dpt. erhältlich und kann bei einer Schnittbreite ab 2,2 mm implantiert werden.

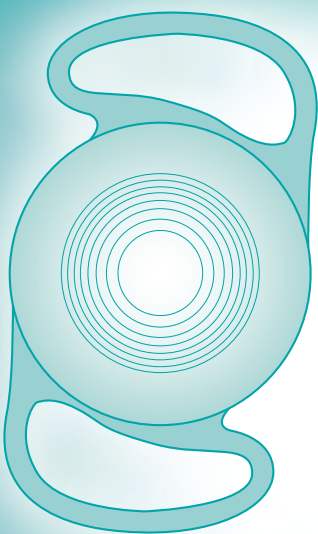
Die **Eye-Concept GmbH** mit Sitz in Falkensee, bei Berlin, ist der exklusive Vertriebspartner des Implantats in Deutschland und Österreich.

KONTAKT

eye concept GmbH
Falkenhagener Straße 1
14612 Falkensee
info@eye-concept.de
www.eye-concept.de

InFo Instant Focus[®]

Revolution im Premium IOL Bereich mit patentierter EDOF Technologie



- » **Perfektes** Sehvermögen
- » Vergleichbare Werte mit denen eines 20-Jährigen
- » Gute Sehkraft auf alle Entfernungen
- » **Ohne** optische Nebenwirkungen
- » Erhältlich in einem Bereich von **5 Dpt. bis 30 Dpt.**
- » Implantation bei Schnittbreite von **2,2 mm**
- » **Exklusivrechte** für den Vertrieb in Deutschland und Österreich

Jetzt
NEU!



Molekulare Grundlagen des Keratokonus – Veränderungen des Harnstoff-Zyklus als Ursache verminderter Kollagenstabilität

M.SC. TANJA STACHON¹, DR. LORENZ LATTA¹, PROF. DR. BERTHOLD SEITZ¹,
PROF. DR. ACHIM LANGENBUCHER², PROF. DR. NORA SZENTMÁRY^{1,3}

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

2 Experimentelle Ophthalmologie,
Universität des Saarlandes UKS, Homburg/Saar, Deutschland

3 Klinik für Augenheilkunde,
Simmelweis Universität, Budapest, Ungarn

Keratokonus ist eine progressive Erkrankung der Hornhaut mit Hornhautverdünnung und -vorwölbung. Im Laufe der Zeit nimmt die Hornhaut eine konische Form an. Etwa 1/2000 aus der Bevölkerung ist von der Erkrankung betroffen, die in der Regel im Teenageralter auftritt [1].

Als therapeutische Maßnahme werden zunächst formstabile Kontaktlinsen zur Visus Korrektur verwendet [2]. Bei einem Teil der Patienten wird das Riboflavin-UVA Crosslinking (CXL) angewendet, um die Kollagenfasern im Stroma zu stabilisieren, oder intrakorneale Ringsegmente (ICRS) verwendet, um eine stadiengerechte Therapie zu gewährleisten [3]. In fortgeschrittenem Stadium der Krankheit wird die perforierende Keratoplastik zur Sehschärfenverbesserung durchgeführt [4].

Für die Behandlung des Keratokonus wäre es von entscheidender Bedeutung, mehr über die Krankheitsentstehung zu wissen, um möglicherweise die Entstehung des Keratokonus zu vermeiden und geeignete Therapiemöglichkeiten noch im Frühstadium der Krankheit zu verwenden.

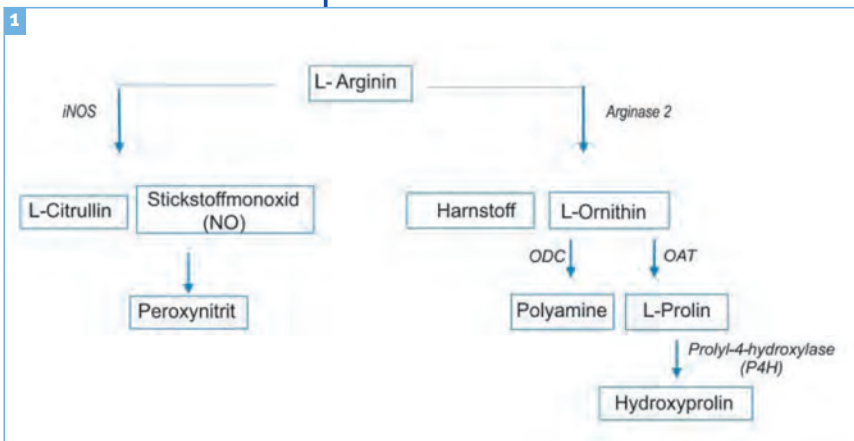
Die Ursachen des Keratokonus sind bis heute weitgehend ungeklärt. Genetische Ursachen, metabolische Veränderungen oder mechanische Ursachen, wie z. B. Augenreiben werden diskutiert [5, 6]. Der Keratokonus wird mit zahlreichen anderen Erkrankungen in Verbindung gebracht, so

haben Patienten mit Down Syndrom eine 10-300-mal höhere Prävalenz einen Keratokonus zu entwickeln, als Gesunde [1]. In Genomweiten Assoziationsstudien (GWAS) wurden Patienten mit Keratokonus untersucht, die nicht verwandt sind, und in deren Familien nur sporadisch die Erkrankung auftritt. Die Ergebnisse weisen auf eine komplexe Erkrankung mit einer niedrigen Genotyp-Phänotyp Korrelation hin [7]. Während man früher davon ausgegangen ist, dass der Keratokonus eine nicht-entzündliche Erkrankung ist, gibt es mittlerweile Hinweise auf eine entzündliche Komponente. So wurden erhöhte IL-4, -5 und -6 Konzentrationen in Tränenfilm von KC-Patienten nachgewiesen, sowie eine erhöhte Konzentration an reaktiven Sauerstoffspezies (ROS), die ebenfalls mit einer Entzündungsreaktion in Verbindung gebracht werden [8, 9].

So wird also eine Vielzahl an Faktoren mit der Abnahme der Hornhautdicke und der nachlassenden Kollagenstabilität in Verbindung gebracht. Durch das Riboflavin-UVA Crosslinking (CXL) werden zwischen Kollagenfasern kovalente Bindungen hervorgerufen, die so zu einer erhöhten Festigkeit der Hornhaut führen [10]. Ein entscheidender Faktor für die Stabilität der Kollagenfasern ist die Aminosäure Hydroxyprolin [11]. Es wird durch Hydroxylierung als posttranslationale Modifikation von Prolin-Molekülen gebildet (**Abbildung 1**). Das Ausgangssubstrat zur Synthese von Prolin und Hydroxyprolin ist L-Arginin. L-Arginin wird mithilfe des Enzyms *Arginase* zu Harnstoff und Ornithin umgewandelt. Ornithin wird weiter zu Proline konvertiert, welches dann mit Hilfe der *Prolyl-4-Hydroxylase (P4H)* zu Hydroxyprolin transformiert wird.

Abbildung 1

■ *Arginin Metabolismus in Keratozyten. Arginase-2, ein zytoplasmatisches Enzym katalysiert die Umwandlung von L-Arginin zu Harnstoff und L-Ornithin. In weiteren enzymatischen Schritten wird Prolin mithilfe der Prolyl-4-Hydroxylase (P4H) zu Hydroxyprolin hydroxyliert. Stickstoffmonoxid (NO) ist das Produkt der enzymatischen Umwandlung von iNOS von L-Arginin.*



Als kompetitives Enzym agiert die Stickstoffmonoxidsynthase (*NOS = nitric oxide synthase*), welche ebenfalls L-Arginine als Substrat nutzt und Stickstoffmonoxid (NO) synthetisiert. Ein funktionierendes Gleichgewicht zwischen den L-Arginin verbrauchenden Enzymen ist entscheidend für die Kollagensynthese (**Abbildung 1**) [12].

Um diesen Mechanismus bei Patienten mit Keratokonus zu analysieren, haben wir folgende Experimente durchgeführt.

In einer initialen Studie haben wir das Kammerwasser von 100 Patienten mit diagnostiziertem Keratokonus (KC) und 100 Patienten mit Katarakt als Kontrollgruppe untersucht. Hier konnten wir nachweisen, dass die Harnstoffkonzentration in der KC-Gruppe unabhängig von Alter und Geschlecht signifikant erniedrigt ist [13].

Diese Ergebnisse sind in Übereinstimmung mit der Studie von McKay, die ebenfalls erniedrigte Harnstoffkonzentrationen im Speichel von Patienten mit KC nachweisen konnte [14]. Die Gruppe um Jäger et al. zeigte, dass erniedrigte Harnstoffkonzentrationen in Tränenflüssigkeit beim trockenen Auge zu finden sind [15]. Bei etwa 20% der Patienten mit Keratokonus kann auch ein trockenes Auge nachgewiesen werden [16].

In einer weiteren Studie untersuchten wir die Harnstoffkonzentrationen in Zelllysaten von KC-Keratozyten, und fanden auch dort erniedrigte Werte im Vergleich zu normalen Zellen (**Abbildung 2**). Die Tatsache, dass erniedrigte Harnstoffkonzentrationen bei KC-Keratozyten in der Zellkultur nach einigen Passagen immer noch nachgewiesen werden können, obwohl das Milieu optimal auf die Bedürfnisse der Zellen ausgerichtet ist, spricht für eine genetische Komponente der Krankheitsentstehung.

Neben den veränderten Harnstoffwerten konnten wir in weiteren Experimenten eine erniedrigte *Arginase*-Aktivität und erniedrigte Hydroxyprolin

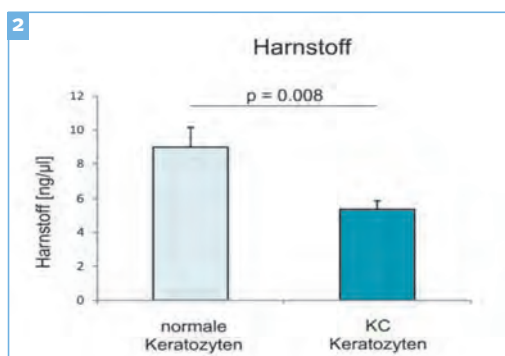


Abbildung 2

■ Harnstoffkonzentration in Zelllysaten von KC-Keratozyten und normalen Kontrollproben [16].

Konzentrationen von KC-Keratozyten im Vergleich zu normalen Keratozyten nachweisen (**Abbildungen 3 und 4**) [17].

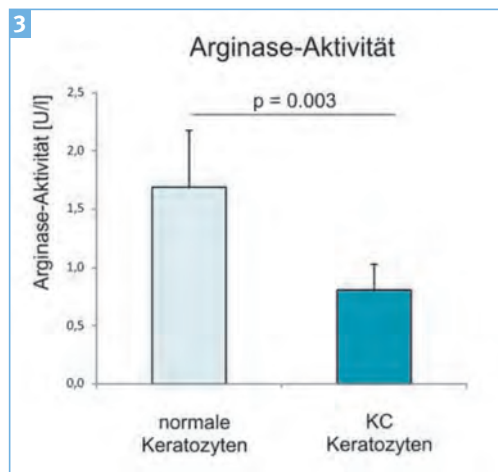


Abbildung 3

■ Arginase-Aktivität in Zelllysaten von KC-Keratozyten und normalen Kontrollproben [16].

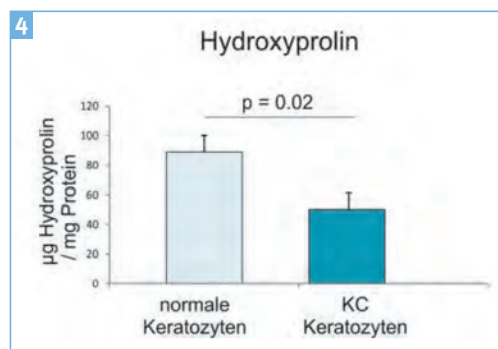


Abbildung 4

■ Hydroxyprolinkonzentration im Zellkulturüberstand von KC-Keratozyten und normalen Kontrollproben [16].

Aufgrund dieser Ergebnisse haben wir den Arginin Metabolismus der KC-Keratozyten näher untersucht. Die Hypothese war, dass durch einen geringeren Umsatz des Arginins durch *Arginase* weniger Harnstoff, damit möglicherweise weniger Ornithin, und weiter folgend weniger Prolin und Hydroxyprolin synthetisiert werden.

Die Stickstoffmonoxid-Synthase (NO-Synthase, *NOS*), als kompetitives Enzym zur *Arginase* sollte dann mehr Arginin zu Stickstoffmonoxid umwandeln. Dies haben wir in unseren Experimenten ebenfalls nachgewiesen. *Arginase* liegt in 2 Isoformen vor. *Arginase 1* kommt hauptsächlich in Leberzellen vor, während *Arginase 2* in vielen anderen Geweben zu finden ist. In Keratozyten konnten wir *Arginase 2*, jedoch nicht *Arginase 1* nachweisen.

Von der NO-Synthase liegen 3 Isoformen vor: die endotheliale NO-Synthase (*eNOS*), die neuronale NO-Synthase (*nNOS*) und die induzierbare NO-Synthase (*iNOS*). Während *eNOS* und *nNOS* konstitutiv exprimiert werden, wird *iNOS* durch inflammatorische Proteine und Lipopolysaccharide induziert [18, 19]. In KC-Keratozyten konnten wir ausschließlich *iNOS* nachweisen.

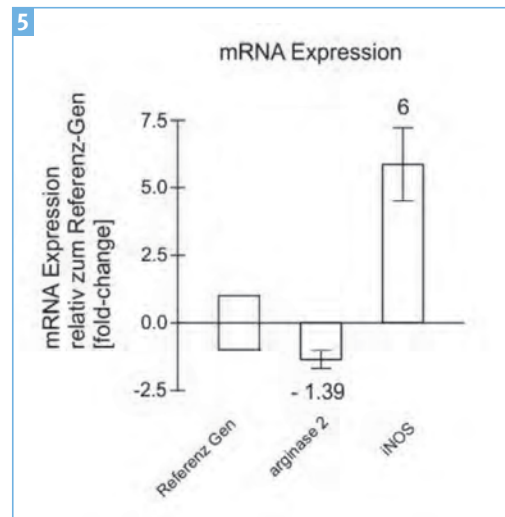


Abbildung 5

■ *qPCR Experiment von KC-Keratozyten und normalen Kontrollproben. KC-Keratozyten zeigen im Vergleich zu Kontrollzellen eine 6-fach höhere Expression der iNOS-mRNA, während die Expression der Arginase-mRNA unverändert ist [19].*

Die mRNA-Expression von Arginase 2 bei KC-Keratozyten zeigte keine messbaren Unterschiede in der qPCR, im Vergleich zu den Kontrollzellen (**Abbildung 5**). Die *iNOS* mRNA der KC-Keratozyten zeigte dahingegen eine 6-fach erhöhte Expressionsrate gegenüber der Kontrollgruppe (**Abbildung 5**) [20]. Auch die Konzentration an Nitrite (ein stabiles Abbauprodukt des Stickstoffmonoxids) war in den KC-Keratozyten signifikant erhöht (**Abbildung 6**) [20].

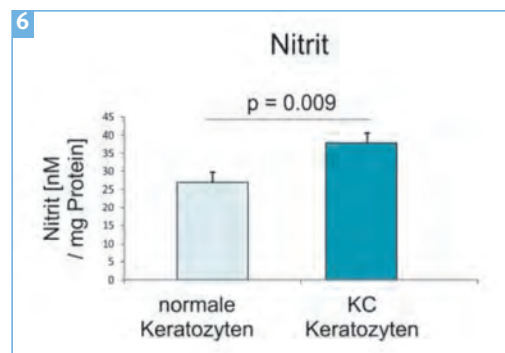


Abbildung 6

■ *Nitrit-Messung nach Griess aus dem Zellkulturüberstand von KC-Keratozyten und Kontrollproben [19].*

Dagegen ist *Prolin-4-Hydroxylase (P4H)*, welche Prolinreste im Kollagenmolekül hydroxyliert, in den KC-Keratozyten signifikant erniedrigt, im Vergleich zu den Kontrollzellen (**Abbildung 7**) [20].

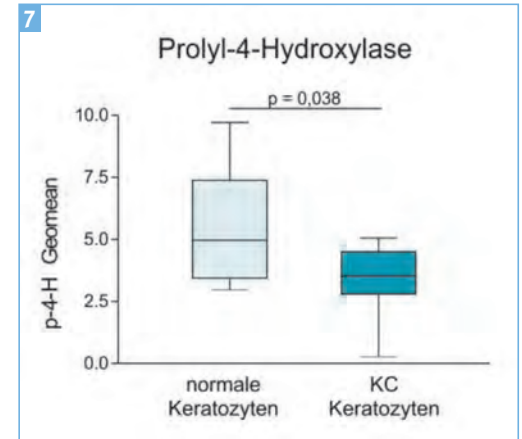


Abbildung 7

■ *Durchflusszytometrische Messung der Prolyl-4-Hydroxylase (P4H) [19].*

Das könnte mehrere Gründe haben. Zum einen liegen von der *P4H* mehrere Isoformen vor (*Kollagen-P4H*, *HIF-P4H* und *Transmembran-P4H*). Die *Kollagen-P4H* hydroxyliert die Prolinreste im Kollagenmolekül und ist damit maßgeblich an der Stabilität der Kollagenfibrillen beteiligt [11].

Der Hypoxie Induced Factor 1 α (*HIF-1 α*) dient als Substrat für die *HIF-P4H* und die *Transmembran-P4H (TM-P4H)*. Unter normalen Sauerstofflevels wird *HIF-1 α* degradiert. *HIF-1 α* wird durch eine Entzündungsreaktion (IL-6 und IFN- γ) exprimiert. Liegt eine Hypoxie vor, hydroxyliert die *HIF-P4H* das *HIF-1 α* Protein, welches sich mit dem *HIF-1 β* bindet und aktiv als Transkriptionsfaktor die Transkription von z. B. *iNOS* startet [21].

Eine erhöhte Transkriptionsrate von *iNOS* lässt daher auch auf eine veränderte Sauerstoffregulation im kornealen Stroma schließen. Weitere Experimente sind erforderlich, um mehr über die Sauerstoffregulation der KC-Keratozyten zu lernen und damit mehr über die Entstehung der Erkrankung. Diese Ergebnisse können ebenfalls in Richtung Beteiligung des oxidativen Stresses oder gar auf eine entzündliche Co-Genese des KC verweisen.

Die Entstehung des Keratokonus ist komplex. Zusammengefasst zeigen unsere molekularbiologischen und biochemischen Experimente Veränderungen im Arginin Metabolismus bei KC-Keratozyten. Um eine geeignete Therapie zu entwickeln müssen die genetischen und metabolischen Prozesse besser erforscht werden. Das Verständnis um die Pathogenese hat eine hohe klinische Relevanz.

LITERATUR

- Rabinowitz Y.S. (1998) Keratoconus. *Surv Ophthalmol* 42: 297–319.
- Kluhspies U., Grunder A., Goebels S., Schirra F., Seitz B. (2013) Keratoconus lenses: the small correction miracle. *Ophthalmologe* 110: 830–836, 838.
- El-Husseiny M., Daas L., Langenbacher A., Seitz B. (2016) Intracorneal Ring Segments to treat keratectasia – interim results and potential complications. *Klin Monbl Augenheilkd* 233: 722–726.
- Seitz B., Cursiefen C., El-Husseiny M., Viestenz A., Langenbacher A., Szentmary N. (2013) DALK and penetrating laser keratoplasty for advanced keratoconus. *Ophthalmologe* 110: 839157–848.
- Nowak D.M., Gajicka M. (2011) The genetics of keratoconus. *Middle East Afr J Ophthalmol* 18: 2–6.
- Wojcik KA, Blasiak J, Szaflik J, Szaflik JP (2014) Role of biochemical factors in the pathogenesis of keratoconus. *Acta Biochim Pol* 61: 55–62.
- Abu-Amero K.K., Al-Muammar A.M., Kondkar A.A. (2014) Genetics of keratoconus: where do we stand? *J Ophthalmol* 2014: 641708.
- Galvis V., Sherwin T., Tello A., Merayo J., Barrera R., Acera A. Keratoconus: an inflammatory disorder? *Eye (Lond)* 2015; 29: 843–59.
- Karamichos D., Hutcheon A.E.K., Rich C.B., Trinkaus-Randall V., Asara J.M., Zieske J.D. (2014) In vitro model suggests oxidative stress involved in keratoconus disease. *Sci Rep* 4: 4608.
- Wollensak G., Sporn E., Seiler T. (2003) Treatment of keratoconus by collagen cross linking. *Ophthalmologe* 100: 44–49.
- Holmgren S.K., Taylor K.M., Bretscher L.E., Raines R.T. (1998) Code for collagen's stability deciphered. *Nature* 392: 666–667.
- Morris, Sidney M. J (2007) Arginine metabolism: boundaries of our knowledge. *J Nutr* 137: 1602S–1609.
- Stachon T., Stachon A., Hartmann U., Seitz B., Langenbacher A., Szentmáry N. (2017) Urea, uric acid, prolactin and fT4 concentrations in aqueous humor of keratoconus patients. *Curr Eye Res* 42: 842–846.
- McKay T.B., Hjortdal J., Sejerssen H., Asara J.M., Wu J., Karamichos D. (2016) Endocrine and metabolic pathways linked to keratoconus: implications for the role of hormones in the stromal microenvironment. *Sci Rep* 6: 25534.
- Jager K., Kielstein H., Dunse M., Nass N., Paulsen F., Sel S. (2013) Enzymes of urea synthesis are expressed at the ocular surface, and decreased urea in the tear fluid is associated with dry-eye syndrome. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 251: 1995–2002.
- Zemova E., Eppig T., Seitz B., Toropygin S., Arnold S., Langenbacher A., Gräber S., Szentmary N. (2014) Interaction between topographic/tomographic parameters and dry eye disease in keratoconus patients. *Curr Eye Res* 39: 1–8.
- Stachon T., Kolev K., Flasko Z., Seitz B., Langenbacher A., Szentmary N. (2017) Arginase activity, urea, and hydroxyproline concentration are reduced in keratoconus keratocytes. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 255: 91–97.
- Wong V., Lerner E. (2015) Nitric oxide inhibition strategies. *Futur Sci* 1: pii.FSO035.
- Gould A., Naidoo C., Candy G.P. (2009) Arginine metabolism and wound healing. *Wound Heal South Africa* 1: 48–50.
- Stachon T., Latta L., Langenbacher A., Seitz B., Szentmáry N. (2017) Arginase, P4H and iNOS expression and the effect of iNOS inhibitor 1400W on urea, hydroxyproline and nitrite formation of keratoconus keratocytes. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 58: ARVO E-Abstract 3557.
- Gorres K.L., Raines R.T. (2010) Prolyl 4-hydroxylase. *Crit Rev Biochem Mol Biol* 45: 106–124.

Tanja Stachon ist Master of Science und wissenschaftliche Mitarbeiterin und leitet seit 2010 das biologische Labor der Klinik für Augenheilkunde in Homburg/Saar. Sie studierte Molecular Life Sciences an der Hoogeschool Arnhem in Nijmegen. Sie arbeitet u. a. an Forschungsprojekten über die Entstehung des Keratokonus.

PREISE UND AUSZEICHNUNGEN

Im Jahr 2012 ist Frau Stachon mit dem Posterpreis der DOG ausgezeichnet worden und erhielt 2016 den 1. Vortragspreis der Tagung der Rhein-Mainischen Augenärzte.

M. Sc. Tanja Stachon

Klinik für Augenheilkunde
und Hochschulambulanz
Universitätsklinikum des Saarlandes
Kirrberger Straße 100
66424 Homburg/Saar
Telefon: 06841 16-22325
Telefax: 06841 16-22400
E-Mail:
tanja.stachon@uniklinikum-saarland.de



KONTAKT





Berthold Seitz, since 2016

ICO Fellowship Program



INTERNATIONAL
COUNCIL of
OPHTHALMOLOGY

The ICO Fellowships Program is an educational initiative of the International Council of Ophthalmology. Since 2001, it was organized to support promising young ophthalmologists from developing countries to improve their practical skills and broaden their perspectives in Ophthalmology during either a three-months or a one-year stay. Fellows are expected to take the acquired knowledge and skills back to their home countries and take part in programs such as **VISION 2020**.

Cordula Gabel-Obermaier is serving as Executive for ICO Fellowships, and she is supporting the program well with her vast experience (e-mail: fellowship@icoph.org).



Peter Gabel, 2006 - 2016

The ICO Fellowships program started off 16 years ago as a good idea and it has grown to be an outstandingly successful, high-profile program that has increased the skills and proficiency of **more than 1000 ICO Fellows from around the world**. There is much competition for these very prestigious Fellowships that enable the Fellows to spend time with the world's leaders in Ophthalmology.

We strongly feel that not only the guest Fellows benefit from these exchanges, but the entire hosting staff is rewarded by both the professional and social interaction. The resulting long-standing professional and personal friendships contribute to long-term benefits on both sides.

Thanks to substantial activities of hosts and sponsors we are able to contribute to enhancing eyecare delivery in developing countries around the world. With the help of our generous and committed cooperation partners, the ICO Fellowships Program has developed to be one of the most sustainable programs to preserve vision and prevent blindness in poor countries.

The International Council of Ophthalmology wholeheartedly would like to thank all Hosts and their great teams from around the world for their availability to open their institutions for young intelligent colleagues from developing countries. This is the sound fundament in which the ICO Fellowships Program stands. **Help to Self-help!** Without these **nearly 100 generous celebrities of Ophthalmology** the entire Fellowships Program would finally cease.

*Yours
B. Seitz*

Prof. Dr. Berthold Seitz ML, FEBO
Director ICO Fellowships



Balder Gloor, 2001 - 2006



International Ophthalmological Fellowship Foundation e.V.

The growing financial support for the Program in Germany made it necessary to found a Germany-based charitable association and so the **International Ophthalmological Fellowship Foundation IOFF** was founded in March 2007. Under the leadership of Prof. Dr. Dr. h.c. mult. Gottfried O.H. „Fritz“ Naumann and Prof. Dr. Peter Gabel, more than US\$ 500.000 have been raised since then.

If you wish to support the ICO Fellowships Program, please email fellowship@icoph.org.

Bank details:
IOFF e.V.
Deutsche Bank
IBAN: DE74 7507 0013 0311 0228 00
SWIFT/BIC: DEUTDEMM750



Thank you very much.

PRAXISEFFIZIENZ

▶ **optomap® Bildgebung** in weniger als einer Sekunde
Ihre Praxiseffizienz steigern

Das EINZIGE 200° Netzhautbild mit nur einer Aufnahme

Die nicht-mydratische **optomap** Ultra-Weitwinkel Technologie liefert in weniger als einer halben Sekunde detaillierte, hochaufgelöste 200° Bilder.

Schnellere Netzhaut-Bildgebung beschleunigt Klinikabläufe und lässt Ihnen mehr Zeit für andere wichtige Aufgaben.

Der Einsatz von **optomap** kann Ihren Patientendurchsatz um 3–5 Patienten pro Tag erhöhen.

Kontaktieren Sie uns für eine unverbindliche Anfrage unter (0)800 72 36 805 oder ics@optos.com

▶ **Besuchen Sie uns an unserem Stand E.02**



A Nikon Company

 **optos®**
Building *The* Retina Company

Visual Analytics in der Augenheilkunde

PROF. DR. RER. NAT. OLIVER STACHS¹, PROF. DR. MED. ANSELM JÜNEMANN¹,
PROF. DR.-ING. HEIDRUN SCHUMANN², M. SC. MARTIN RÖHLIG²

1 Augenklinik
Universitätsmedizin
Rostock

2 Institut für Informatik
Universität Rostock

Die rasante Entwicklung von bildgebenden Methoden in der Medizin bietet einzigartige Möglichkeiten in der Diagnostik, erhöht aber auch gleichzeitig die Komplexität des zu analysierenden Daten- und Bildmaterials. Es wird zunehmend zu einer Herausforderung für Hard- und Softwareentwickler dieses Material derart aufzubereiten und zu visualisieren, dass die behandelnden Ärzte schnell und zielorientiert diagnostizieren können.

Ein Beispiel hierfür ist die optische Kohärenztomographie (OCT). Die OCT als laserbasiertes bildgebendes in vivo Verfahren eröffnet der klinischen Augenheilkunde völlig neue Möglichkeiten bei der Diagnose von Netzhaut- und Sehnervenerkrankungen. Die dynamische Entwicklung dieser Methode hinsichtlich der Bildqualität, insbesondere bezogen auf die axiale und laterale Auflösung (**Abb. 1**), erhöht zwangsläufig die zu analysierende Datenmenge, bietet aber gleichzeitig die einmalige Möglichkeit einer Unterscheidung von Substrukturen der Netzhaut und des angrenzenden Gewebes.

Die Auswertung eines einzelnen OCT-Schnittes ist bildanalytisch zunächst trivial, dies ändert sich jedoch bei Einbeziehung der dritten Dimension hinsichtlich zu analysierender Datenvolumina und Übersichtlichkeit. Im Allgemeinen ist eine dedizierte Datenanalyse solch großer Datenmengen schwierig. Manuelle Auswertungen sind sehr zeit-

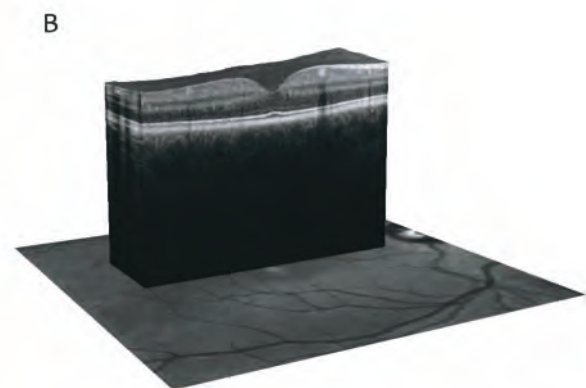
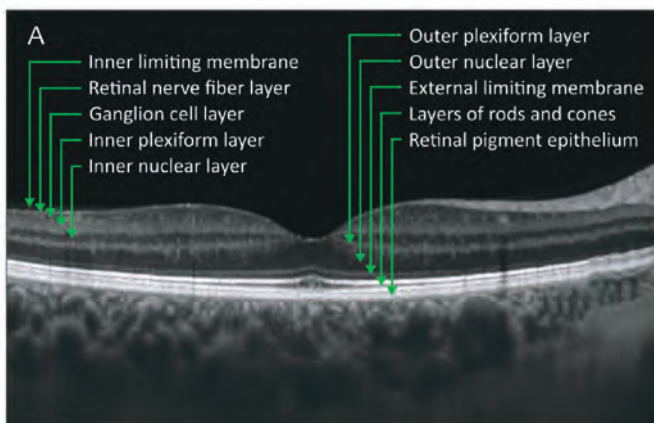
aufwändig und zudem subjektiv geprägt. Deshalb wurden verschiedene automatisierte Verfahren entwickelt [1, 2].

Diese in der Vergangenheit zur Analyse der unterschiedlichen Netzhautkompartimente eingesetzten Algorithmen waren aber nur in der Lage, die gesamte Netzhaut zu segmentieren und daraus die Gesamtnetzhautdicke zu bestimmen. Dies stellt dem Kliniker zwar einen Quantifizierungsparameter zur Verfügung, jedoch haben Untersuchungen gezeigt, dass diese Messwerte unspezifisch sein können. Unterschiedliche Krankheitsbilder manifestieren sich nicht zwingend in der Gesamtnetzhautdicke, sondern zunächst nur in unterschiedlichen Substrukturen und ggf. auch nur lokal. Substrukturveränderungen treten insbesondere beim Glaukom [3, 4], aber auch bei anderen neurodegenerativen Erkrankungen oder der altersabhängigen Makuladegeneration auf. Erst im fortgeschrittenen Stadium dieser Erkrankungen wirken sich Degenerationen auf die Gesamtnetzhautdicke aus.

Dies war ein Grund für die Entwicklung von Verfahren, die eine automatische Segmentierung von individuellen Netzhautschichten in OCT-Aufnahmen ermöglichen [5]. Im Ergebnis derartiger Segmentierungen entstehen sehr große Datenmengen, deren Visualisierung und Analyse eine besondere Herausforderung darstellen. Deshalb

Abbildung 1

■ *Optische Kohärenztomographie des hinteren Augenabschnittes mit Substrukturierung der Netzhaut (A) und Volumendarstellung fusioniert mit Fundusabbildung (B).*



sind heutige Analysemethoden stark vereinfacht und wenig ortsspezifisch. Zudem ist es schwierig, mögliche Korrelationen zu anderen klinischen Parametern, wie beispielsweise Gesichtsfeldausfällen, abzuleiten.

Abbildung 2 zeigt die OCT-Aufnahme eines Normalprobanden und die Segmentierung aller Netzhautschichten (**A**) und als Quantifizierungsbeispiel (**B**) ein ausgewähltes Netzhautprofil (retinale Nervenfaserschicht). Die Dickenprofile liegen räumlich für alle 11 segmentierfähigen Netzhautschichten vor, was prinzipiell eine 3D-Analyse aller Substrukturen der Netzhaut ermöglicht. Auf Grund der Komplexität dieses Datenmaterials wird gegenwärtig aber die Information des Gesamtvolumens auf ringförmig um die Fovea angeordnete Segmente reduziert (**C**). Für diese stark vereinfachten Segmente werden Schichtdicken bzw. Volumina der segmentierfähigen Netzhautschichten berechnet, die für vergleichende Analysen genutzt werden können.

Diese signifikante Reduktion der Daten sowie die sehr vereinfachte Analysestrategie kann unbefriedigend sein, wenn minimale, vor allem lokale Netzhautveränderungen vorliegen. Diese werden durch die etablierten Algorithmen übersehen. Allerdings sind sie momentan ohne Alternative, um dem Arzt klinisch einfach handhabbare Informationen zu liefern.

Unser Ziel ist es nun, visuell-interaktive Analysemethoden einzubinden, die basierend auf den gesamten aus der klinischen OCT-Untersuchung ermittelten Informationen eine gezielte Daten-selektion und -reduktion unterstützen. Damit wird es möglich, relevante Substrukturen im Detail zu analysieren. Dieses Vorgehen lässt entscheidende Fortschritte hinsichtlich einer individualisierten patientenspezifischen Diagnostik erwarten.

Derartige Methoden ordnen sich in das neue Forschungsgebiet *Visual Analytics* ein, einem Spezialgebiet der Informatik [10]. Das Ziel von Visual-Analytics-Methoden ist es, die Analyse von großen und komplexen Datensätzen durch eine Kombination von automatischen Berechnungsverfahren, visueller Präsentation und interaktiver Exploration zu unterstützen. Der Ansatz kombiniert also die Stärken einer automatischen Datenanalyse mit den Fähigkeiten des Menschen, Muster oder Trends visuell schnell zu erfassen. Hieraus ergibt sich ein großer Mehrwert für ein breites Anwendungsspektrum. Diesem Aspekt wurde von der Deutschen Forschungsgemeinschaft (DFG) mit dem von 2008–2016 geförderten Schwerpunktprogramm 1335 »Scalable Visual Analytics« Rechnung getragen. Im Rahmen dieses Projektes wurden von der Arbeitsgruppe Schumann neue Lösungen entwickelt, die sich, entsprechend erweitert und angepasst, sehr gut für die visuelle Exploration und Reduktion von Re-

Förderung

Die Grundlagen für die Bearbeitung des Projektes wurden im DFG-SPP 1335 »Scalable Visual Analytics« im Teilprojekt VASSiB von der Arbeitsgruppe Schumann erarbeitet. Die hier vorgestellten Arbeiten werden weiterhin durch die Deutsche Forschungsgemeinschaft im Rahmen des Erkenntnistransfer-Projektes VIES (SCHU 887/19-1 und STA 543/7-1) gefördert.

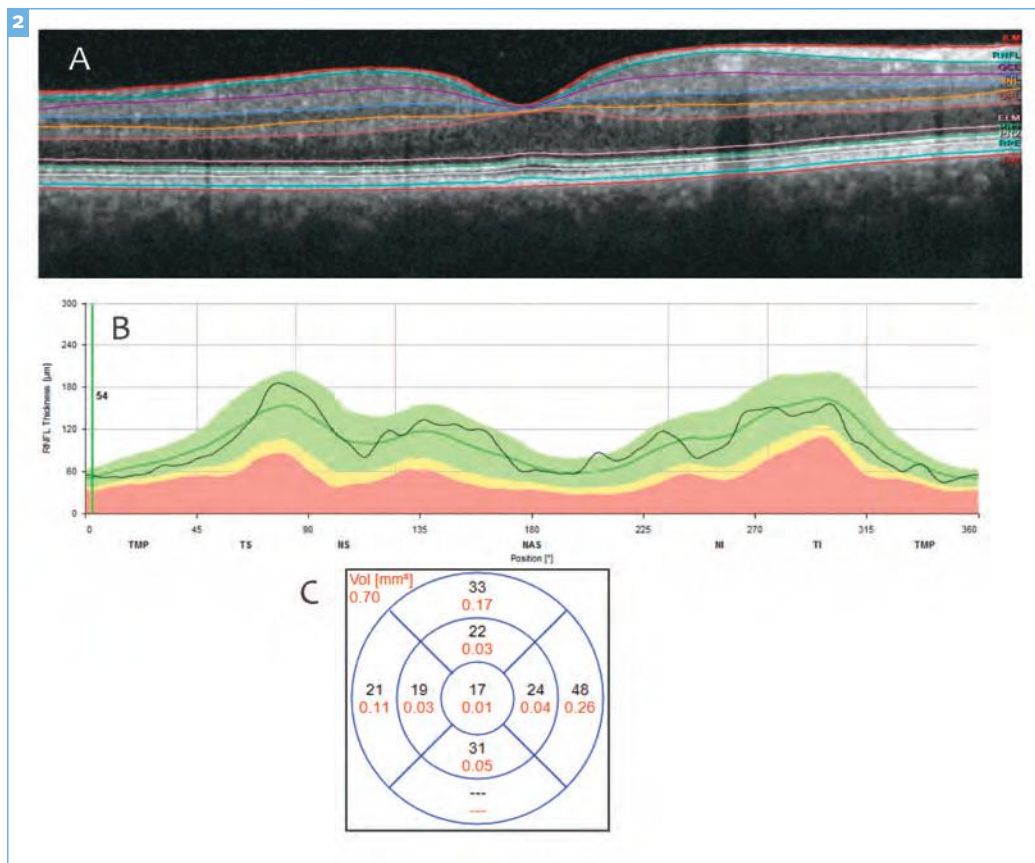
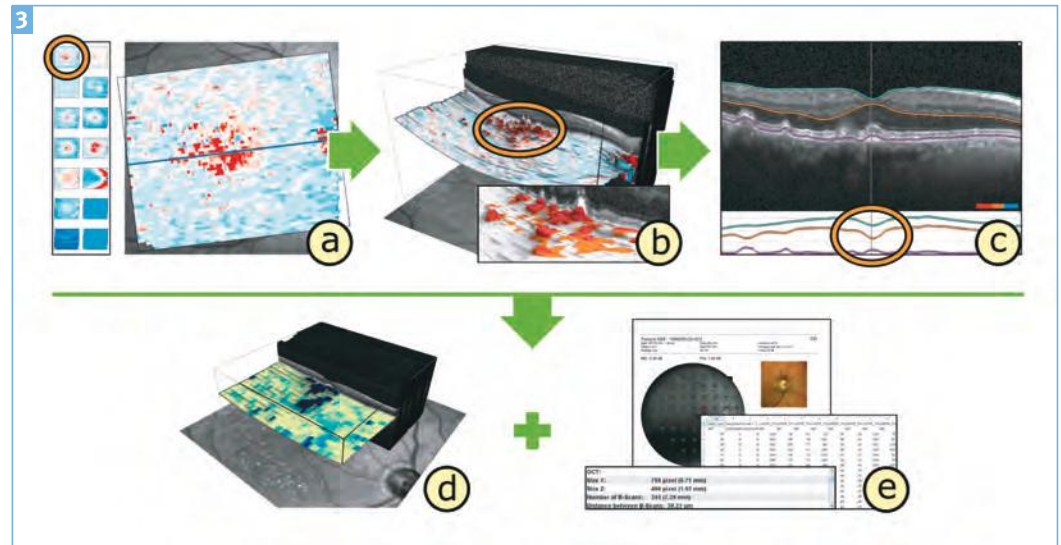


Abbildung 2

OCT-Aufnahme eines gesunden Probanden mit automatisch segmentierten Netzhautschichten (**A**) sowie das Dickenprofil der retinalen Nervenfaserschicht (**B**) und die signifikante Reduktion des Datenmaterials durch vereinfachte Darstellung des Volumens der retinalen Nervenfaserschicht (**C**).

Abbildung 3

■ Beispiel für einen Visual Analytics getriebenen Analyseverlauf mit gezielter Selektion relevanter Informationen (a, b, c) und Vergleich mit weiteren Untersuchungsergebnissen (d, e).

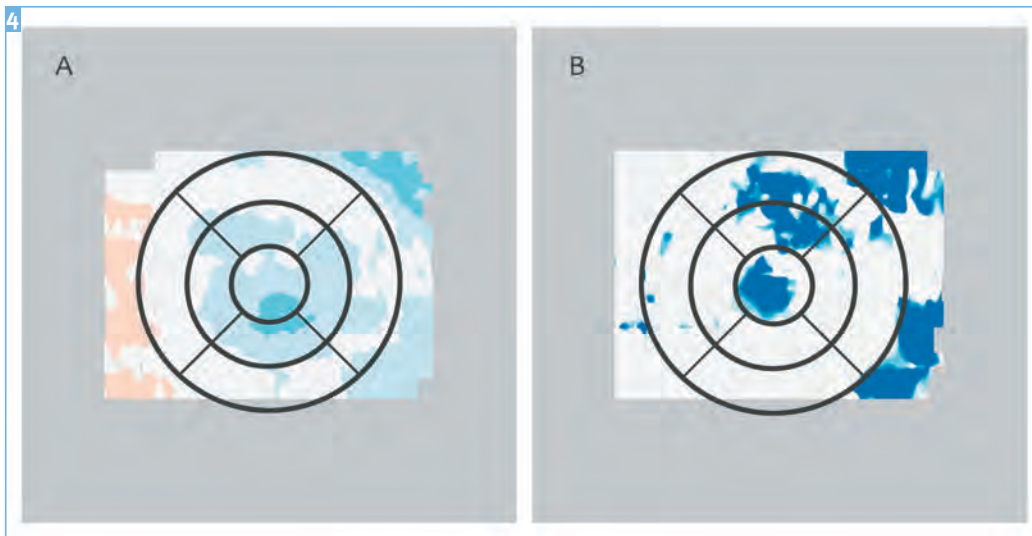


tinadaten eignen. Dazu gehören Ansätze zur Darstellung von Daten, den damit verbundenen Unsicherheiten und Parametereinstellungen, zur Multi-Skalen-Darstellung großer Datenmengen sowie zur Extraktion und zeitlichen Verfolgung von Features aus 3-dim. Datensätzen [11], [12]. Multi-Skalen-Ansätze, die die Daten auf unterschiedlichen Abstraktionsstufen repräsentieren, können auch in der Analyse von OCT-Daten gewinnbringend eingesetzt werden. Die Visualisierung höherer Abstraktionsstufen unterstützt z. B. die Untersuchung von grundlegenden Eigenschaften, während die Darstellung von Daten auf feinaufgelösten Skalen die Analyse kleinerer Details ermöglicht.

Neben so einer Multi-Skalen-Darstellung der Daten, ist aber auch die gezielte Extraktion und Visualisierung sogenannter Features für eine klinisch akzeptable Analyse interessant. Derartige Features beschreiben charakteristische Eigenschaften und erlauben damit die Reduktion der komplexen Datenmengen auf die für eine medizinische Fragestellung wesentlichen Details. Sie unterstützen zudem einen direkten Vergleich mit weiteren Informationen und diagnostischen Methoden. **Abbildung 3** demonstriert so einen Analyseverlauf an einem Beispiel aus dem aktuellen DFG-Projekt der Autoren »ViES: Visuell-interaktive Exploration zur individualisierten Selektion relevanter Datenbereiche«. Anhand einer Übersicht abgeleiteter Dickenkarten wird eine Netzhautschicht mit auffälligem Charakteristikum ausgewählt (**Abb. 3a**). In der Vergrößerung lassen sich zentral abnorme Veränderungen (rot) in der Dickenkarte erkennen. Die Darstellung in 3D erlaubt den Vergleich der Dickenwerte mit der räumlichen Struktur der selektierten Netzhautschicht und der Volumendarstellung der Rohdaten (**Abb. 3b**). Dies begünstigt die Eingrenzung eines Datenbereichs von Interesse. Zur Detailanalyse des Bereichs werden einzelne OCT-Schnitte und

Dickenprofile abgerufen (**Abb. 3c**). Die gewonnenen Erkenntnisse können daraufhin direkt mit weiteren OCT-Aufnahmen (**Abb. 3d**) sowie mit Ergebnissen anderer Untersuchungsmethoden (**Abb. 3e**) verglichen werden. Die Anwendung einer derartigen Analyseprozedur unterstützt eine informierte Reduktion komplexer OCT-Daten zu diagnoserelevanten Informationen [13]. Dies ist das zentrale Anliegen unseres Projektes.

Aus medizinischer Sicht ist damit das Ziel verbunden, strukturelle Veränderungen der Netzhaut zu analysieren, welche in einem sehr frühen Krankheitsstadium einer Primärerkrankung auftreten können und die sich sekundär an der Netzhaut manifestieren. Verursacht werden können derartige Veränderungen beispielsweise durch ein Glaukom, Diabetes oder durch neurodegenerative Erkrankungen. Statistisch analysiert werden müssen dabei minimale ggf. lokal manifestierte strukturelle Veränderungen individueller Netzhautschichten bei unterschiedlichsten Kohorten. In diesem Zusammenhang ist es eine Herausforderung, die Daten inhärent statistisch aufzuarbeiten und Features herauszuarbeiten, welche später ggf. als Biomarker genutzt werden können. Üblicherweise sind derartige Analysen relativ aufwendig und schnell unübersichtlich. Hier wird im Rahmen des Projektes an Werkzeugen gearbeitet, welche es ermöglichen, visuell und intuitiv Gruppenvergleiche oder Vergleiche von Einzelbefunden mit normativen Daten durchzuführen. Beispielfhaft ist in **Abbildung 4** ein Teilergebnis einer Studie an einer Kohorte von pädiatrischen Patienten mit Typ 1 Diabetes im Vergleich zu einer gesunden Kontrollgruppe gezeigt. Farbkodiert dargestellt ist die Abweichung der Dicke der retinalen Nervenfaserschicht im Bereich der Fovea bei einem Gruppenvergleich mit jeweils $n=15$ krank gegen gesund (**Abb. 4a**) sowie der Vergleich eines diabetischen Individuums gegen die Kontrollgruppe (**Abb. 4b**). Differenzen außerhalb des

**Abbildung 4**

■ 2D Differenzkodierung der retinalen Nervenfaserdicke (95% Konfidenzintervall), **A** – Vergleich Kontrollarm gegen Experimentalarm (jeweils $n=15$), **B** – Vergleich Individuum mit Typ 1 Diabetes gegen Kontrollarm.

95%igen Konfidenzintervalls werden hier farblich dargestellt, wobei die Abstufungen in rot größere bzw. blau kleinere Dickenwerte gegenüber der Kontrollgruppe repräsentieren. Der visuelle Vergleich beider Abbildungen zeigt, dass bei Patienten mit Typ 1 Diabetes Netzhautareale mit reduzierter Nervenfaserschichtdicke auftreten. Diese Schlussfolgerung ist in Übereinstimmung mit der Literatur [8].

Auf diese Erkenntnisse wollen wir aufsetzen und weitere visuelle Methoden entwickeln. Im Endergebnis des Projektes soll ein Framework zur Verfügung stehen, das einen stufenlosen Wechsel zwischen Datenselektion, -reduktion und visueller Analyse unterstützt. So kann die bisherige stark vereinfachende Datenreduktion durch Konzepte der Visual Analytics ergänzt werden.

LITERATUR

- Allgeier S., Zhivov A., Eberle F., Koehler B., Maier S., Brethauer G., Guthoff R.F., Stachs O.: Image reconstruction of the subbasal nerve plexus with in vivo confocal microscopy. *Invest Ophthalmol Vis Sci.*, Vol. 25, No. 9, 2011, pp. 5022–5028, DOI: 10.1167/iavs.10-6065.
- Prakasam R.K., Winter K., Schwiede M., Allgeier S., Zhivov A., Köhler B., Guthoff R.F., Stachs O.: Characteristic quantities of corneal epithelial structures in confocal laser scanning microscopic volume data sets. *Cornea*, Vol. 32, No. 5, 2013, pp. 636–643, DOI: 10.1097/ICO.0b013e31826247bf.
- Schrems-Hoesl L.M., Schrems W.A., Laemmer R., Horn F.K., Jünemann A.G., Kruse F.E., Mardin C.Y.: Confocal Laser Scanning Tomography to Predict Visual Field Conversion in Patients With Ocular Hypertension and Early Glaucoma. *Journal of Glaucoma* (Epub ahead of print), 2014, DOI: 10.1097/IJG.0000000000000171.
- Wessel J.M., Horn F.K., Tornow R.P., Schmid M., Mardin C.Y., Kruse F.E., Jünemann A.G., Laemmer R.: Longitudinal analysis of progression in glaucoma using spectral-domain optical coherence tomography. *Invest Ophthalmol Vis Sci.*, Vol. 54, No. 5, 2013, pp. 3613–3620, DOI: 10.1167/iavs.12-9786.
- Kafieh R., Rabbani H., Kermani S.: A Review of Algorithms for Segmentation of Optical Coherence Tomography from Retina. *Medical Signals and Sensors*, Vol. 3, No. 1, 2013, pp. 45–60.
- Thomas J.J., Cook K.A.: *Illuminating the Path: The Research and Development Agenda for Visual Analytics*. IEEE Computer Society, 2005.
- Heinzl C., Bruckner S., Gröller M.E., Pang A., Hege H.-C., Potter K., Westermann R., Pfaffelmoser T., Möller T.: Uncertainty and Parameter Space Analysis in Visualization. *Tutorial at IEEE VisWeek*, 2012.
- De Clerck E.E., Schouten J.S., Berendschof T.T., Kessels A.G., Nuijts R.M., Beckers H.J., Schram M.T., Stehouwer C.D., Webers C.A.: New ophthalmologic imaging techniques for detection and monitoring of neurodegenerative changes in diabetes: a systematic review. *Lancet Diabetes Endocrinol.* 2015 Aug; 3 (8): 653–63.
- Keim D., Kohlhammer J., Ellis G., Mansmann F.: *Vismaster Roadmap: Solving Problems with Visual Analytics*, published by the Eurographics Association, 2010.
- M. Luboschik, C. Maus, H.-J. Schulz, H. Schumann und A. M. Uhrmacher. »Heterogeneity-based Guidance for Exploring Multiscale Data in Systems Biology«. In: *Proceedings of the 2nd IEEE Symposium on Biological Data Visualization (BioVis'12)*. IEEE Computer Society, 2012, S. 33–40. doi: 10.1109/BioVis.2012.6378590.
- M. Luboschik, M. Röhlig, A. T. Bittig, N. Andrienko, H. Schumann und C. Tominski.: »Studying Parameter-Dependent Movements with Feature-Based Visual Analytics«. In: *Computer Graphics Forum* (Vol. 34) No. 3, 2015, S. 421–430, DOI: 10.1111/cgf.12654.
- M. Röhlig, P. Rosenthal, C. Schmidt, H. Schumann, O. Stachs.: »Visual Analysis of Optical Coherence Tomography Data in Ophthalmology«. In: *Proceedings of the EuroVis Workshop on Visual Analytics (EuroVA'17)*. The Eurographics Association, 2017, DOI: 10.2312/eurova.20171117.

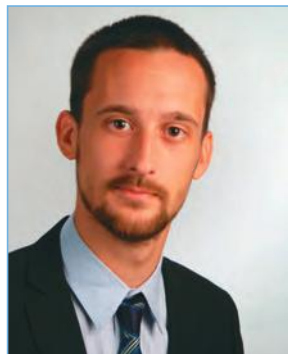


KONTAKT



**Univ.-Prof. Dr. Ing.-habil.
Heidrun Schumann**
Institut für Informatik
Universität Rostock
Albert-Einstein-Straße 22
18059 Rostock
Telefon: 0381 498-7490
Telefax: 0381 498-7482
E-Mail: heidrun.schumann@uni-rostock.de

**Univ.-Prof. Dr. med.
Anselm G. M. Jünemann, F.E.B.O.**
Direktor der Augenklinik
Universitätsmedizin Rostock
Doberaner Straße 140
18057 Rostock
Telefon: 0381 494-8501
Telefax: 0381 494-8502
E-Mail:
anselm.juenemann@med.uni-rostock.de



KONTAKT



M.Sc. Martin Röhlig
Institut für Informatik
Universität Rostock
Albert-Einstein-Straße 22
18059 Rostock
Telefon: 0381 498-7496
Telefax: 0381 498-7482
E-Mail: martin.roehlig@uni-rostock.de

Prof. Dr. rer. nat. Oliver Stachs
Leiter Experimentelle Ophthalmologie
Universitätsmedizin Rostock
Doberaner Straße 140
18057 Rostock
Telefon: 0381 494-8566
Telefax: 0381 494-8502
E-Mail: oliver.stachs@med.uni-rostock.de

Vorteile der Swept Source OCT Angiographie

OCT-Angiographie hat in den letzten zwei Jahren die Landschaft der Netzhaut Diagnostik nachhaltig signifikant verändert. Sie ist dabei unser Verständnis der Pathophysiologie von makulären Erkrankungen entscheidend zu Vergrößern. „Swept Source“ OCT Technologie potenziert die Möglichkeiten der OCT Angiographie erheblich. Diese Technologie erlaubt durch die hohe Aufnahmegeschwindigkeit von hundert tausend A-Scans pro Sekunde eine schnelle und genaue Erfassung der Bewegung von Zellen in den Gefäßen der Netzhaut. Im Topcon® DRI OCT Triton™ Swept Source OCT System wird jeder A-scan 4 mal wiederholt um eine Bewegungs-Kontrast Darstellung von sich auch langsamen bewegendem Zellen zu erlauben. Aufgrund der tieferen Eindringtiefe der verwendeten Wellenlänge von 1050 Nanometern ist es jetzt auch möglich sogenannte „Choroidale Vasokulographien“ der Aderhaut zu erzeugen. Die Swept Source OCT Angiographie wird in Zukunft einen erheblichen Einfluss auf unsere Diagnostik und Behandlungskontrollen haben.

■ **Autor:** Dr. Carl Glittenberg, Karl Landsteiner Institut für Retinale Forschung und Bildung, Wien
Topcon Europe Medical, Rotterdam

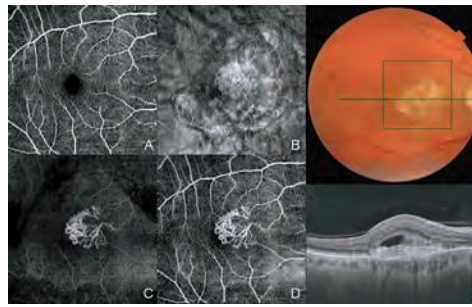


Abbildung 1

Topcon® DRI OCT Triton™ Swept Source OCT Angiographie einer CNV.

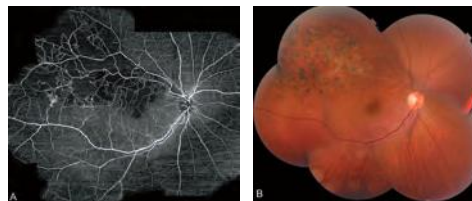


Abbildung 2

Mit Freundlicher Genehmigung von Professor Prof. Yuichiro Ogura, Nagoya City University, Japan. Topcon® DRI OCT Triton™ Swept Source OCT Angiographie einer AVT.

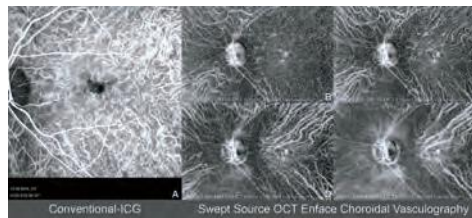


Abbildung 3

Mit Freundlicher Genehmigung des Karl Landsteiner Instituts für Retinale Forschung und Bildung, Wien. Topcon® DRI OCT Triton™ Swept Source OCT Choroidale Vasokulographie im Vergleich zu einer herkömmlichen ICG Untersuchung.

DRI OCT-1 Triton OCT- Angiografie



Swept Source OCT

Besuchen Sie uns auf der
DOG 2017 Berlin
28.09.2017 – 01.10.2017
Hotel Estrel Foyer 3
Stand F3.02

www.topcon-medical.de

- Swept Source OCT
- Tiefe Gewebedarstellung durch 1050 nm
- 100.000 A-Scans
- Reelles Fundusfoto
- OCT-Angiografie
- Anterior Segment

TOPCON

YOUR VISION. OUR FOCUS.

Topcon Deutschland Medical GmbH
Hanns-Martin-Schleyer Str. 41 · 47877 Willich
Tel.: 02154 - 885 0 · Fax: 02154 - 885 177
e-mail: info@topcon-medical.de

SPP 2127

»Gen- und zellbasierte Therapien zur Behandlung von neuroretinaler Degeneration«

UNIV.-PROF. DR. DR. KNUT STIEGER, UNIV.-PROF. DR. BIRGIT LORENZ

Klinik und Poliklinik für Augenheilkunde
Justus-Liebig-Universität Gießen

Das Schwerpunktprogramm (SPP) 2127 ist eines von 17 neuen SPPs, die der Senat der DFG 2017 aus 66 Konzepten ausgewählt hat. SPPs sind generell interdisziplinär ausgerichtet und zeichnen sich durch die Bearbeitung von neuen Forschungsfeldern (sogenannte *emerging fields*) und den Einsatz innovativer Methoden aus. Für die 17 neuen SPP stehen in einer ersten Förderperiode laut DFG-Pressemitteilung in den kommenden drei Jahren insgesamt rund 100 Millionen Euro zur Verfügung, wobei etwa 8 Mio EUR für den SPP 2127 vorgesehen sind. Bei positiver Evaluierung nach 3 Jahren ist eine zweite dreijährige Förderung mit ähnlichem Budget möglich.

Das SPP 2127 »Gen- und zellbasierte Therapien zur Behandlung neuroretinaler Degenerationen« umfasst ein Budget für 25 Projektanträge, in denen mittels Grundlagenforschung Therapien für bisher nicht behandelbare erbliche Netzhauterkrankungen entwickelt werden sollen und parallel dazu klinische Untersuchungsmethoden, mit denen die Sehfunktion in bisher nicht gekannter Detailliertheit und Ortsauflösung gemessen werden kann.

Das SPP 2127 ist in 4 Themenbereiche unterteilt: (1) Gentherapie und genome editing, (2) Zelltherapie, (3) Faktoren, die den Erfolg der Therapie beeinflussen können und (4) Klinische Untersuchungsmethoden (siehe Abb 1). Durch diese Fokussierung auf vier Bereiche kann ein besonderes Augenmerk auf die Verknüpfung von grund-

lagenbasierten und klinischen Forschungsarbeiten gelegt werden, sodass Experten aus beiden Bereichen sich gegenseitig unterstützen und die jeweilige Expertise weitergeben können. Ein weiterer wesentlicher Schwerpunkt des Programms liegt in der Förderung des wissenschaftlichen Nachwuchses.

Im Rahmen der Vorbereitungen zum Initiativantrag bei der DFG fand im August 2016 ein von der DFG gefördertes Treffen aller interessierten Wissenschaftler in Gießen statt, auf dem intensiv die späteren Strukturen des Antrages ausgearbeitet wurden. Hierbei war maßgeblich auch Dr. Paul Sieving, der Direktor des National Eye Institutes (NEI) der USA beteiligt. Über vierzig führende Wissenschaftler und Nachwuchskräfte nahmen an dem Treffen teil (Abb. 2).

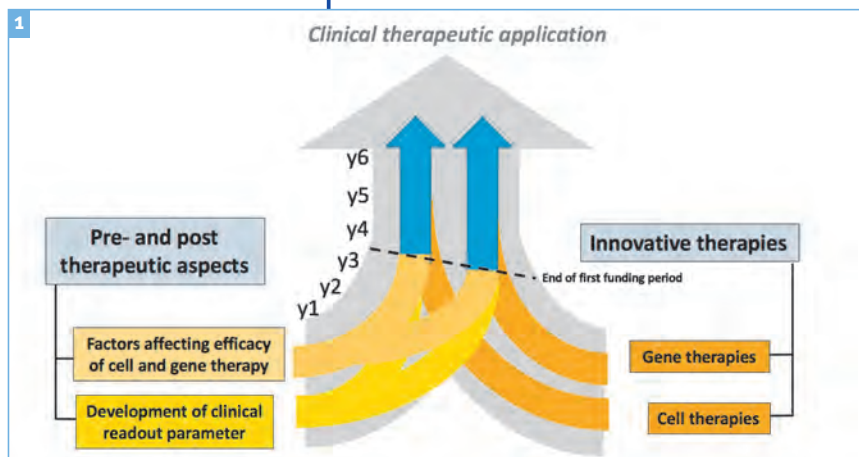
Wie aus dem Logo des SPP 2127 zu ersehen ist, liegt das Ziel in der ersten Förderrunde darin, die verschiedenen Therapie- und Untersuchungsprojekte zu bündeln und zusammenzuführen, damit in der zweiten Runde dann mit der expliziten Zusammenführung von den aussichtsreichsten Projekten aus grundlagenbasierter und klinischer Forschung eine Fokussierung auf die Vorbereitung der klinischen Anwendung zum Ende des 6-jährigen Zeitraums gelingt.

Im Rahmen des Networkings im SPP sind jährliche Treffen geplant sowie ein regelmäßiger wissenschaftlicher Austausch von Doktoranden und promovierten Wissenschaftlern im Rahmen von Summer Schools. Zwei substantielle Fördermöglichkeiten für Nachwuchswissenschaftler im Rahmen des SPP stehen ab dem 2. Jahr des Programms zur Verfügung, um frühzeitige Möglichkeiten für eigene wissenschaftliche Projekte zu eröffnen.

Am 30. August 2017 war die Fristsetzung für die Einreichung von Projektanträgen im Rahmen des SPP2127, wobei sowohl Einzelanträge als auch Tandemanträge von jeweils zwei verschiedenen Arbeitsgruppen möglich waren. Im Herbst 2017 wird eine Panelkommission die Begutachtung der Anträge vornehmen und die förderungswürdigen Anträge identifizieren. Nach Abschluss des Begutachtungsverfahrens können die positiv evaluierten Projekte Anfang 2018 beginnen.

Abbildung 1

Logo des SPP 2127, in dem die vier Ausgangsbereiche dargestellt sind und im weiteren Verlauf die Fokussierung auf die klinische Anwendung gelegt werden soll.





Das SPP2127 wird von Prof. Knut Stieger und Prof. Birgit Lorenz aus Gießen als Koordinator und Ko-Koordinatorin geführt und von den weiteren Mit-

gliedern des Programmkommittees Prof. Marius Ader (Dresden), Prof. Martin Biel und Dr. Stefanie Hauck (beide München) maßgeblich mitgestaltet.

Abbildung 2

Teilnehmer am Round-table in Gießen zur Vorbereitung des Initiativ-antrages bei der DFG.

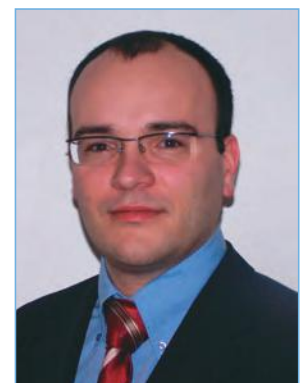
Univ.-Prof. Dr. Dr. med. vet. Knut Stieger, Jahrgang 1978, ist Leiter der Arbeitsgruppe Experimentelle Ophthalmologie an der Augenklinik in Gießen. Nach einem Studium der Veterinärmedizin in Leipzig und Forschungsaufenthalten in Philadelphia und Cornell, absolvierte Herr Stieger ein PhD Studium am Genterapielabor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

eines neuen Therapieansatzes basierend auf CRISPR-Cas vermitteltem genome editing zur Behandlung von erblichen Erkrankungen in der Netzhaut. Professor Stieger ist Gründungsmitglied und Sekretär der Sektion DOG Genetik. Er ist Gutachter für zahlreiche Fachzeitschriften und Förderorganisationen und Autor von über 40 peer reviewed Veröffentlichungen. Seit 2017 ist er Koordinator und Sprecher des DFG Schwerpunktprogramms SPP2127 »Gen- und zellbasierte Therapien zur Behandlung neuroretinaler Degeneration«.

Univ.-Prof. 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 985-43888
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 ophthalmologica internationalis (AOI) und der european academy of ophthalmology (EAO). Sie ist Vorstandsmitglied der DOG, sowie Gründungsmitglied und Sprecherin der Sektion DOG-Genetik. Sie war Gründungspräsidentin der European Pediatric Ophthalmological Society (EPOS) und von 2002 bis 2010 deren Präsidentin. Seit 2016 ist sie Präsidentin der International Society of Genetic Eye Diseases and Retinoblastoma (ISGEDR). Im Jahr 2012 war Frau Lorenz Visiting Professor am Childrens Hospital der Harvard University. Seit 2017 ist sie Chair für Paediatric Rare Eye Diseases in dem neu gegründeten European Reference Network for Rare Eye Diseases (ERN-Eye). Frau Lorenz ist Gutachterin zahlreicher internationaler Fachzeitschriften und Forschungsförderinstitutionen und Autorin von über 250 peer reviewed Forschungsarbeiten. Seit 2017 ist Frau Lorenz Ko-Koordinatorin des DFG Schwerpunktprogramms SPP2127 »Gen- und zellbasierte Therapien zur Behandlung neuroretinaler Degeneration«.

KONTAKT



Univ.-Prof. Dr. med. Birgit Lorenz
 Direktorin der Klinik und Poliklinik
 für Augenheilkunde
 Justus-Liebig-Universität Gießen
 Fachbereich 11 – Medizin
 Friedrichstraße 18
 35392 Gießen
 Telefon: 0641 985-43801
 Telefax: 0641 985-43809
 E-Mail: birgit.lorenz@uniklinikum-giessen.de
www.augen-giessen.de

Wer unterschätzt Premium IOL?

Um 50% der Fehlsichtigen im Lande leiden unter einer Hornhautverkrümmung. Der Anteil torischer Intraokularlinsen aber schwankt hierzulande – je nach Studie – um 2%. Und liegt damit in jedem Fall erheblich unterhalb des europäischen Mittelwerts von ca. 6%. Wir fragten nach den Gründen.

Fast wie Weihnachten

Immer wieder ein toller Moment: Dabei zu sein, wenn der Patient nach erfolgreicher Operation zum ersten Mal den Verband abnimmt. Und seine neue Visusqualität erlebt. Denn neben Vorteilen bei nahezu allen Verrichtungen des täglichen Lebens ist Sehen auch eine ungemein emotionale Angelegenheit.

Mehrwert ist mehr Wert

Umso größer die Verwunderung, dass gerade im wohlhabenden Deutschland längst nicht alle Patienten, die von Premium-IOL profitieren und sich diese Versorgung auch leisten könnten, eine entsprechende Entscheidung treffen. Ist das so, weil sie schlicht nicht genug darüber wissen, welche Möglichkeiten es gibt?



Woran liegt's?

Wir sind einfach mal auf die Straße gegangen und haben Brille tragende Passanten im besten Alter angesprochen. Spontan, ganz unwissenschaftlich und ohne statistische Absicht: „Glauben Sie, dass eine Intraokularlinse Vorteile für Sie bedeuten könnte?“ Ich vermute, Sie ahnen, was kam. Die meist gehörte Antwort klang sinngemäß wie: „Intra-was?“ Zwei mal legten wir dann noch nach. Zunächst: „Intraokularlinsen sind künstliche Linsen zur Korrektur von Sehfehlern. Ein bisschen wie Kontaktlinsen, nur fest ins Auge eingesetzt.“ Die Antworten schwankten nun zwischen „Oh...?“, „Ah, lasern!“ und „Wie jetzt: Im Auge drin?“ Final ergänzten wir:

„Macht man meist bei Grauem Star.“ Nun fiel der Groschen besonders bei den Älteren. Aber was außer der Korrektur der Linsentrübung noch erreichbar wäre, erinnerte nur eine einzelne ältere Dame. Die hatte einen Bus vorbeifahren sehen, dessen Werbeaufdruck ‚Brillenfreiheit‘ in Aussicht stellte. Hm. Sehen Sie, was uns umtreibt?



■ Autor:

Hans Knubben,
Business Development
Manager bei RUCK

INITIATIVE
HIGH END:
IOL⁺⁺

Was tun?

IOL kann mehr: Lassen Sie uns darüber sprechen, wie wir gemeinsam die Möglichkeiten moderner IOL nutzbar machen können. Unser Beitrag: Hochwertige Produkte, begeisterte Unterstützung: Schulungen, Informationsmaterial und Präsentationsunterlagen im Rahmen des gesetzlich zulässigen. Qualitätsvolle Lösungen für anspruchsvolle Patienten. Wir nennen das die Initiative High End: IOL ++. Alle Details dazu verraten wir Ihnen gern – persönlich oder unter www.iolplusplus.de



KONTAKT

Fritz RUCK
Ophthalmologische
Systeme GmbH
Ernst-Abbe-Straße 30b
52249 Eschweiler
Tel.: 02403 9455-0
Fax: 02403 9455-50
info@ruck-gmbh.de
www.ruck-gmbh.de

Schonende retinale Lasertherapien als Behandlungsoption der trockenen AMD

DR. JAN TODE¹, DR. ELISABETH RICHERT¹, DR. CLAUS VON DER BURCHARD¹,
PRIV.-DOZ. DR. STEFAN KOINZER¹, PROF. DR. ALEXA KLETTNER¹,
DR. RALF BRINKMANN², PROF. DR. JOHANN ROIDER¹

- 1 **Klinik für Ophthalmologie,**
UK S-H Campus Kiel,
Kiel
- 2 **Medizinisches Laserzentrum Lübeck GmbH und Institut für Biomedizinische Optik,**
Universität zu Lübeck

Die altersabhängige Makuladegeneration (AMD) ist eine fortschreitende degenerative Erkrankung mit pathologischen Veränderungen im Bereich der Choroidea, der Bruch'schen Membran (BrM) und des retinalen Pigmentepithels (RPE) sowie der neurosensorischen Netzhaut. Sie ist in ihrer Spätform die häufigste Erblindungsursache in den westlichen Ländern [1]. Klinisch wird zwischen einer Frühform der AMD und zwei Spätformen unterschieden. Die frühe nicht-exsudative (trockene) Form der AMD ist gekennzeichnet durch das Auftreten von Drusen und Veränderungen des RPE. Im weiteren Verlauf kann es zur Progression der frühen AMD in die Spätformen kommen, der geographischen Atrophie oder der exsudativen (feuchten) Form der AMD mit choroidalen Neovaskularisationen.

Die Pathologie der AMD ist multifaktoriell und bis heute nicht vollständig verstanden. Es gibt eine Vielzahl von Faktoren wie oxidativen Stress, westliche Ernährungsgewohnheiten und genetische Prädisposition, denen ein Einfluss auf die AMD zugesprochen wird [2, 3]. Die molekularbiologischen Konzepte der AMD-Entstehung basieren auf vier Säulen, die miteinander interagieren. Dazu gehören die Induktion inflammatorischer Prozesse, Veränderungen im Lipidstoffwechsel, Umbau der Extrazellulärmatrix und Beeinflussung der Angiogenese. Ultrastrukturell imponiert eine Verdickung der BrM. Eine damit einhergehende Erhöhung der Diffusionsstrecke führt zur Einschränkung des Gasaustauschs und metabolischer Prozesse.

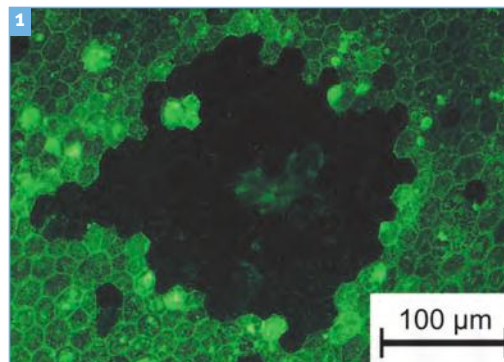


Abbildung 1

■ SRT Laserspot in der Calceinfärbung
200 µm Spotgröße,
quadratische Faser,
1,7 µs Pulse, 100 Hz,
300 ms Bestrahlungsdauer.

Viele moderne Therapieansätze zielen auf einzelne Aspekte der AMD und haben bisher nicht zu einem Durchbruch bei der Behandlung der frühen trockenen AMD geführt. Potentielle therapeutische Ansätze müssen wahrscheinlich vielmehr eine ganze Reihe an Faktoren der Erkrankung modifizieren, um einen generellen Behandlungserfolg zu erzielen. Bis dato gibt es keinen Ansatz, frühe pathologische Prozesse der AMD zu inhibieren oder die Erkrankung gar zu heilen.

Schonende Lasertherapien könnten eine neue Therapie- oder präventive Behandlungsoption der frühen AMD darstellen. Generell können zwei unterschiedliche Lasermodi zu den schonenden Lasertherapien gezählt werden:

1. Therapien, die selektiv das RPE zerstören und damit einen regenerativen Prozess des RPE mit Einfluss auf das chorioretinale Gewebe erreichen. Hierunter fallen die selektive Retinatherapie (SRT) mit einem Pulszug von Mikrosekundenpulsen einer Wellenlänge von 527 nm bei einer Repetitionsrate von 100 Hz [4–7], sowie die *Retinal Rejuvenation Therapy* (2RT™) mit Einzelpulsen von wenigen Nanosekunden Dauer bei 532 nm [8, 9].
2. Lasertherapien, die auf eine nichtletale, kurzzeitige Temperaturerhöhung im Millisekundenbereich abzielen, mit darausfolgender Gewebestimulation. Hierzu zählen die nichtschädigende retinale Lasertherapie (NRT) mit einem Dauerstrich (cw) 532 nm Laser, die im nichtschädigenden Bereich vor allem das RPE stimuliert [10–12], aber auch alle anderen Bestrahlungen, cw oder Mikropulsung, bei denen die mittlere applizierte Leistung so gering gewählt wird, dass keine Koagulation und auch keine Zellschädigung stattfindet. In der Regel muss die applizierte Laserleistung hierzu etwa 30% der Leistung sein, die gerade noch einen funduskopisch sichtbaren retinalen Schaden erzeugt.

Beide Lasermodi verändern die Funktion des RPE, ohne die Neuroretina zu schädigen und kommen

demnach für einen Einsatz im Bereich der Makula infrage.

Bei beiden Verfahren ist aufgrund der intraindividuell variierenden Pigmentierung des Fundus und abweichender Lichttransmission der optischen Medien des Auges die Bestimmung der richtigen Dosis kritisch. Für eine möglichst exakte Dosierung ohne Über- oder Untereffekte wurden in Kooperation mit dem Medizinischen Laserzentrum Lübeck GmbH automatische Verfahren entwickelt, die bei der SRT das Entstehen von Mikroblassen im RPE als Feedback detektieren [13] und bei einer thermischen Stimulation des RPE die Temperatur in Echtzeit messen können [14, 15].

Im Rahmen des Verbundprojekts »Innovative Imaging and Intervention in early AMD« (I³) wurden der Einfluss der SRT und der NRT auf zellbiologische Prozesse und auf AMD-typische Veränderungen, insbesondere die Dicke der BrM, in unserem Labor analysiert. An porcinen Organkulturen konnten wir erwartungsgemäß nachweisen, dass die SRT RPE-Zellen zerstört (**Abb. 1**) und die NRT zu keinem RPE-Zellschaden führt. Nach dem lokalisierten Zelluntergang regeneriert das RPE durch Migration und Proliferation.

Sowohl SRT als auch NRT führen zur vermehrten Expression von Matrix Metalloproteinasen (MMP) und Pigment Epithelium Derived Growth Factor (PEDF), sowie zur verminderten Expression von Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF). Transforming Growth Factor (TGF) β wird nicht in seiner Expression beeinflusst. Hieraus schlussfolgern wir die Hypothese, dass:

SRT und NRT RPE-Zellen zur Sekretion von MMPs anregen, welche potentiell die verdickte BrM restrukturieren können. Die Laserverfahren führen nicht zu einer Narbenreaktion mit fibrotischem Umbau der Extrazellulärmatrix. Das anti-angiogene Zytokinmilieu hemmt die Bildung von Neovaskularisationen.

Diese Hypothese wurde in einem nächsten Schritt anhand zweier AMD-Mausmodelle überprüft. In einem Modell der Hyperlipid-/Hyperlipoproteinämie (ApolipoproteinE [ApoE] knock-out) und in einem Modell mangelnder antioxidativer Mechanismen (Nuclear Factor erythroid-derived 2-like 2 [NRF2] knock-out) sind zahlreiche AMD-typische Veränderungen nachweisbar [16, 17], insbesondere eine pathologische Verdickung der BrM in der Transmissionselektronenmikroskopie (TEM). Jeweils ein randomisiertes Auge von Versuchstieren beider AMD-Mausmodelle in unterschiedlichen Altersgruppen wurde mit SRT oder NRT behandelt, wobei das Partnerauge als Kontrolle diente. Die individuelle nicht-schädigende Energie-/Leistungsschwelle der Lasertherapie wurde in der Netzhautperipherie titriert (**Abb. 2**).

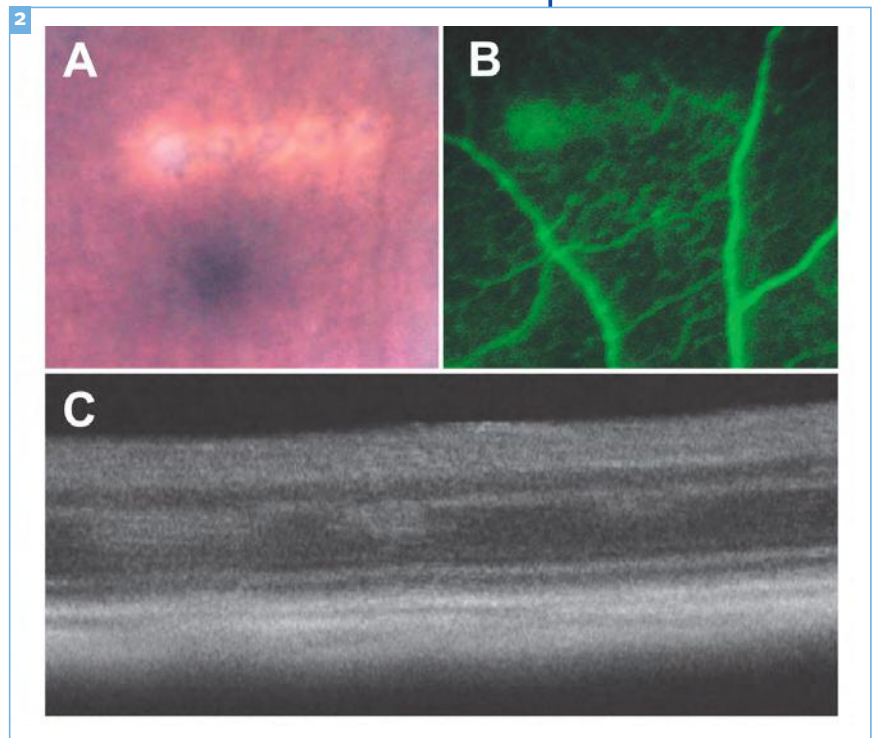


Abbildung 2

■ Titration der SRT Laserherde in der Peripherie der murinen Retina

A) Fundusbild. Es wurde mit absteigender Energie von links nach rechts gelasert. Der letzte sofort funduskopisch sichtbare Herd wurde als Schwelle definiert, die Behandlungsenergie wurde dann um 70 % reduziert.

B) Angiographie derselben Titration.

C) OCT derselben Titration.

Die therapeutischen Laserherde zeigten weder funduskopisch, noch angiographisch noch in der OCT neuroretinale Schäden.

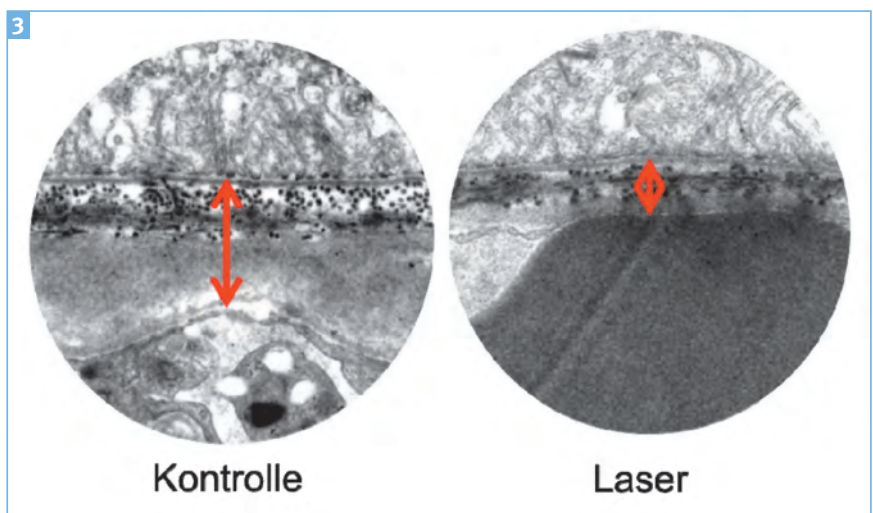


Abbildung 3

■ **Links:** TEM der BrM im Kontrollauge. Man beachte die Ablagerung in der äußeren kollagenen Schicht

Rechts: TEM der BrM des gelaserten Auges derselben Maus

Anschließend wurden durchschnittlich je 90 Laserherde gleichmäßig über den papillenzentrierten Fundus verteilt. Einen Monat nach einmaliger Behandlung konnten wir sowohl für die SRT, als auch für die NRT eine Verdünnung der BrM im behandelten Auge verglichen mit dem unbehandelten Partnerauge in der TEM nachweisen (**Abb. 3**).

Eine Verdünnung der BrM durch schonende retinale Laserverfahren, wahrscheinlich durch die Induktion von MMPs, könnte zu einer Verbesserung des Metabolismus und Gasaustauschs über die BrM führen und möglicherweise die pathologischen Prozesse der AMD inhibieren. Ein anti-angiogenes Zytokinmilieu könnte zusätzlich die Progression zur exsudativen AMD hemmen. Die hier dargestellten experimentellen Pilotprojekt-Daten zeigen eine mögliche Behandlungs- oder gar Präventionsmaßnahme für die frühe Form der AMD auf, welche mehrere im Rahmen der AMD pathologisch veränderte Systeme gleichzeitig modifiziert. Der Einfluss auf inflammatorische- sowie auf Lipidstoffwechselprozesse im Rahmen der AMD wird weiter evaluiert.

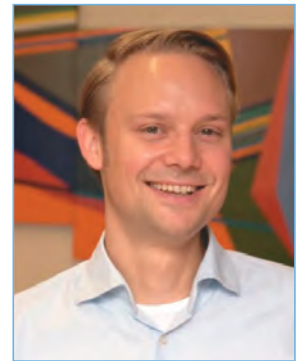
Es lässt sich schlussfolgern, dass schonende retinale Lasertherapien, wie SRT und NRT, eine potentielle Behandlungs- oder Präventionsmaßnahme für die trockene AMD darstellen.

LITERATUR

- Schrader, W.F. [Age-related macular degeneration: a socioeconomic time bomb in our aging society]. *Ophthalmol. Z. Dtsch. Ophthalmol. Ges.* 103, 742–748 (2006).
- Fritsche, L.G. et al. A large genome-wide association study of age-related macular degeneration highlights contributions of rare and common variants. *Nat. Genet.* 48, 134–143 (2016).
- Hyman, L. & Neborsky, R. Risk factors for age-related macular degeneration: an update. *Curr. Opin. Ophthalmol.* 13, 171–175 (2002).
- Roider, J., Michaud, N.A., Flotte, T.J. & Birngruber, R. Response of the retinal pigment epithelium to selective photocoagulation. *Arch. Ophthalmol. Chic. Ill* 1960 110, 1786–1792 (1992).
- Roider, J., Brinkmann, R., Wirbelauer, C., Laqua, H. & Birngruber, R. Retinal sparing by selective retinal pigment epithelial photocoagulation. *Arch. Ophthalmol. Chic. Ill* 1960 117, 1028–1034 (1999).
- Roider, J., El Hifnawi, E.S. & Birngruber, R. Bubble formation as primary interaction mechanism in retinal laser exposure with 200-ns laser pulses. *Lasers Surg. Med.* 22, 240–248 (1998).
- Roider, J., Brinkmann, R., Wirbelauer, C., Laqua, H. & Birngruber, R. Subthreshold (retinal pigment epithelium) photocoagulation in macular diseases: a pilot study. *Br. J. Ophthalmol.* 84, 40–47 (2000).
- Guymer, R.H. et al. Nanosecond-laser application in intermediate AMD: 12-month results of fundus appearance and macular function. *Clin. Experiment. Ophthalmol.* 42, 466–479 (2014).
- Jobling, A.I. et al. Nanosecond laser therapy reverses pathologic and molecular changes in age-related macular degeneration without retinal damage. *FASEB J.* 29, 696–710 (2015).
- Lavinsky, D. et al. Nondamaging Retinal Laser Therapy: Rationale and Applications to the Macula. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 57, 2488–2500 (2016).
- Lavinsky, D. & Palanker, D. Nondamaging photothermal therapy for the retina: initial clinical experience with chronic central serous retinopathy. *Retina Phila. Pa* 35, 213–222 (2015).
- Lavinsky, D. et al. Subvisible retinal laser therapy: titration algorithm and tissue response. *Retina Phila. Pa* 34, 87–97 (2014).
- Schüle, G., Elsner, H., Framme, C., Roider, J., Birngruber, R., Brinkmann, R. Optoacoustic real-time dosimetry for selective retina treatment. *J Biomed Opt.* 10 (6): 0640221–0642211 (2005).
- Brinkmann, R., Koinzer, S., Schlott, K., Ptaszynski, L., Bever, M., Baade, A., Luft, S., Miura, Y., Roider, J., Birngruber, R. Real-time temperature determination during retinal photocoagulation on patients. *J Biomed Opt.* 17 (6): 061219 (2012).
- Schlott, K., Koinzer, S., Ptaszynski, L., Bever, M., Baade, A., Roider, J., Birngruber, R., Brinkmann, R. Automatic Temperature Controlled Retinal Photocoagulation. *J Biomed Opt.* 17 (6): 061223 (2012).
- Dithmar, S., Curcio, C.A., Le, N.A., Brown, S. & Grossniklaus, H. E. Ultrastructural changes in Bruch's membrane of apolipoprotein E-deficient mice. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 41, 2035–2042 (2000).
- Zhao, Z. et al. Age-related retinopathy in NRF2-deficient mice. *PLoS One* 6, e19456 (2011).

Dr. Jan Tode ist Wissenschaftler und Facharzt für Augenheilkunde an der Klinik für Ophthalmologie am Universitätsklinikum Schleswig-Holstein Campus Kiel. Nach seiner Schulausbildung in Plön studierte er Medizin an der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel (CAU). Studienbegleitend begann er als wissenschaftlicher Mitarbeiter am Physiologischen Institut der CAU im Labor von Prof. Dr. Wilfrid Jänig. Er promovierte 2012 zum Thema »Charakteristika regenerierender Muskelfasern nach Nervendurchtrennung des Nervus gastrocnemius-soleus und Kreuzanastomose an den Nervus suralis«. Von 2011 bis 2016 absolvierte Dr. Tode seine Facharztausbildung. Er übernahm 2013 die Leitung des tierexperimentellen Labors der Klinik für Ophthalmologie in enger Zusammenarbeit mit Dr. Elisabeth Richert, Prof. Dr. Johann Roeder und Prof. Dr. Alexa Klettner. Sein wissenschaftlicher Schwerpunkt liegt auf der translationalen Erforschung neuer therapeutischer Ansätze zur Behandlung der Uveitis insbesondere Interleukin-6-Modifikatoren, sowie neuer Ansätze zur Be-

handlung der AMD vor allem schonende Laserverfahren. Dr. Tode ist Prüfungsarzt mehrerer klinischer Studien mit retinologischem Schwerpunkt zur Implementierung neuer Laserverfahren in den Menschen sowie zur Erforschung subretinaler Netzhautprothesen.

**Dr. Jan Tode**

Klinik für Ophthalmologie
UK S-H, Campus Kiel
Arnold-Heller-Straße 3
24105 Kiel
Telefon: 0431 500-24387
Telefax: 0431 500-24204
E-Mail: Jan.Tode@uksh.de

KONTAKT

Retinale Neuroprotektion

PRIV.-DOZ. DR. MED. JAN DARIUS UNTERLAUFT,
 PROF. DR. RER. NAT. WOLFRAM EICHLER

Klinik & Poliklinik für
 Augenheilkunde,
 Universitätsklinikum
 Leipzig AÖR

Der Untergang retinaler Nervenzellen ist eine schwerwiegende Komplikation bei verschiedenen Augenkrankheiten [1]. Das klassische Beispiel für eine Augenerkrankung, bei der es im Verlaufe zu einem Untergang retinaler Nervenzellen kommt, sind die Glaukome [2]. Aber auch im Rahmen einer ischämischen Retinopathie nach retinalen Gefäßverschlussprozessen oder bei einer diabetischen Retinopathie kann es infolge einer nicht ausreichenden Perfusion der Netzhaut zum Absterben von Nervenzellen kommen. Da es sich bei den retinalen Ganglienzellneuronen um postmitotische Zellen handelt, kann ein Verlust nicht kompensiert werden. Ein Verlust von retinalen Ganglienzellen kann zu einer Abnahme des Visus, einer Entstehung von Gesichtsfelddefekten und schließlich zur Erblindung eines Auges führen.

Mehrere im Auge physiologischerweise freigesetzte Botenstoffe sind für das Überleben retinaler Ganglienzellen bereits unter normalen physiologischen Gegebenheiten von großer Wichtigkeit. Zu diesen Signalmolekülen gehören unter anderem BDNF (brain-derived neurotrophic factor), NGF (nerve growth factor), CNTF (ciliary neurotrophic factor), VEGF (vascular endothelial growth factor), IGF-1 (insulin-like growth factor-1) und PEDF (pigment epithelium-derived factor) [3–9]. Bei der diabetischen Retinopathie kann es durch eine verminderte Konzentration einer oder mehrerer dieser neuroprotektiv wirksamen Signalmoleküle zu einem Verlust retinaler Nervenzellen kommen [10]. Es ist bereits bekannt, dass Müller'sche Gliazellen (MGC) in der Netzhaut PEDF, VEGF, BDNF, CNTF und andere Faktoren produzieren und dadurch das Überleben retinaler Nervenzellen aktiv unterstützen [11–14]. Eine intravitreale Injektion, In-vivo-Genstransfer oder Anregung bereits vorhandener retinaler Zellen zur Sekretion neuroprotektiv wirksamer Faktoren könnten durch eine Steigerung der intravitrealen und intraretinalen Konzentrationen einer oder mehrerer dieser Faktoren effektiv zur Behandlung retinaler neurodegenerativer Erkrankungen eingesetzt werden. Auch eine direkte Beeinflussung intrazellulärer Signalwege, welche durch neuroprotektive Signalmoleküle aktiviert oder auf andere Weise beeinflusst

werden um das Überleben von retinalen Nervenzellen zu sichern, wäre ein denkbarer therapeutischer Weg.

Beim PEDF handelt es sich um ein 50 kD großes Glykoprotein, das neben einer angioinhibitorischen, anti-inflammatorischen, Vasopermeabilitätshemmenden auch eine neuroprotektive bzw. neurotrophe Wirkung besitzt. PEDF ist im Plasma in relativ hohen Konzentrationen nachweisbar, ist aber auch in verschiedenen Teilen des Gehirns und in anderen nicht-neuronalen Geweben nachweisbar. PEDF wird im Auge vor allem vom retinalen Pigmentepithel und von den Müller'schen Gliazellen sezerniert. PEDF fungiert bei der proliferativen diabetischen Retinopathie und der neovaskulären Form der altersbedingten Makuladegeneration als Gegenspieler zum VEGF, welches die Ausbildung neuer Gefäße fördert. Hierbei scheint das Gleichgewicht zwischen PEDF und VEGF zugunsten des VEGFs verschoben zu sein, so dass sich neue prä- und subretinale Gefäße bilden können. Eigene Untersuchungen zum Thema haben gezeigt, dass PEDF bei Hypoxie hochreguliert wird, möglicherweise um das Überleben retinaler Neurone zu unterstützen [15]. Die neuroprotektiven Eigenschaften von PEDF konnten bereits in verschiedenen Modellen nachgewiesen werden. Dabei handelte es sich um Ischämie-Reperusions-Insulte, Glutamat-vermittelte Zytotoxizität, eine durch Licht vermittelte Netzhautschädigung und oxidativen Zellstress [16–19]. Durch seine dualen anti-neovaskulären und neuroprotektiven Eigenschaften scheint PEDF ein ideales Signalmolekül zur Behandlung neurodegenerativer Prozesse in der Netzhaut zu sein [20, 21].

Mit unseren bisher durchgeführten Experimenten konnten wir die neuroprotektive Wirksamkeit von MGC und PEDF auf das Überleben retinaler Ganglienzellen (RGC) *in vitro* nachweisen, und zeigen, dass hierfür intrazellulär unter anderen der NF- κ B- und der STAT3-Signalweg aktiviert werden.

Hierzu haben wir ein Co-Kultur-System, bestehend aus primären mittels Immunopanning aus Mäusen

isolierten RGC (**Abb. 1**) und kultivierten primären MGC aus der Ratte, entwickelt [9]. Werden RGC zusammen mit MGC kultiviert, ist die Zahl der vitalen RGC nach 24-stündiger Kultivierung signifikant höher, als wenn die RGC alleine kultiviert werden. Dieses zeigte sich nicht nur unter normoxischen Verhältnissen bei einer physiologischen Sauerstoffkonzentration von 21% sondern ebenfalls unter hypoxischen Kulturbedingungen bei einer Sauerstoffkonzentration von <0,2%. Außerdem konnten wir mit Hilfe des entwickelten Co-Kultur-Systems zeigen, dass die Länge der von RGC unter normoxischen Kulturbedingungen neu ausgebildeten Neuriten signifikant steigt, wenn sie zusammen mit MGC kultiviert werden [22].

Wird die Konzentration des von den MGC in das Kulturmedium der Co-Kultur sezernierten PEDF mittels Antikörperzugabe vermindert, sinkt auch die Zahl vitaler RGC nach 24-stündiger normoxischer oder hypoxischer Kultivierung signifikant. Eine entsprechende Beeinflussung der Vitalität von RGC konnte auch mittels MGC, welche vor Durchführung der oben beschriebenen Co-Kultur-experimente mit gegen PEDF gerichteter siRNA (small interfering RNA) transfiziert wurden, nachgewiesen werden. Auf diese Weise wurden die MGC an der Translation von PEDF aus der kodierenden mRNA gehindert, so dass später kaum mehr PEDF an das gemeinsame Kulturmedium von RGC und MGC abgegeben werden konnte.

In weiterführenden Experimenten untersuchten wir die intrazellulär in RGC durch PEDF aktivierten Signalwege. Mittels immunhistochemischer Färbungen konnten wir eine durch PEDF hervorgerufene Aktivierung der intrazellulären NF- κ B- und STAT-3-Signalwege darstellen. Diese Ergebnisse konnten auch mittels Western-Blot-Untersuchungen und quantitativer Echtzeit-PCR in R28-Zellen (retinale neuronale Progenitorzelllinie) untermauert werden. Durch eine gezielte Blockade dieser Signalwege in RGC wurde der Anteil vitaler Zellen signifikant gesenkt, welches sich auch durch Co-Kultur mit MGC, sowie durch eine Zugabe von PEDF zum Kulturmedium nicht wieder aufheben ließ [23].

Für die Zukunft planen wir weitere Experimente, um die PEDF-vermittelte Neuroprotektion und die hierfür zugrunde liegenden Mechanismen auf Organebene sowie auf zellulärer und subzellulärer Ebene in der Netzhaut weiter zu beleuchten. Im Co-Kulturmodell von RGC und MGC sowie mithilfe der R28-Progenitorzelllinie soll der Einfluss verschiedener anderer von MGC gleichzeitig sezernierter Signalmoleküle auf die Wirkung von PEDF in RGC, die hierzu aktivierten intrazellulären Signalwege und die hierdurch verstärkte Gen-Expression in RGC dargestellt werden. Experimente an retinalen Organkulturen sowie In-vivo-Experimente in einem retinalen Ischämie-Modell in der

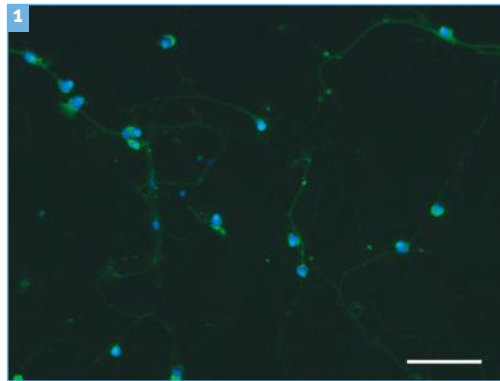


Abbildung 1

■ Vitale retinale Ganglienzellen in Kultur. Die Zellkörper mit den in Kultur neu ausgesprossenen Neuriten sind grün gefärbt, die Zellkerne sind blau gefärbt (Maßstabsbalken: 20 μ m)

Maus sollen die von uns propagierte neuroprotektive Wirkung von PEDF in der Netzhaut weiter nachweisen. Eine humorale Therapie neurodegenerativer Erkrankungen der Netzhaut vergleichbar der intravitreal verabreichten Blockade von VEGF bei der Behandlung der neovaskulären altersbedingten Makuladegeneration ist das Ziel der dargestellten Anstrengungen.

LITERATUR

1. Dijk F., Kamphuis W. (2004) An immunocytochemical study on specific amacrine cell subpopulations in the rat retina after ischemia. *Brain Res* 1026: 205–217.
2. Quigley H.A. (1999) Neuronal death in glaucoma. *Prog Retin Eye Res* 18: 39–57.
3. Mey J., Thanos S. (1993) Intravitreal injections of neurotrophic factors support the survival of axotomized retinal ganglion cells in adult rats in vivo. *Brain Res* 602: 304–317.
4. Osborne N.N., Casson R.J., Wood J.P., Chidlow G., Graham M., Melena J. (2004) Retinal ischemia: mechanisms of damage and potential therapeutic strategies. *Prog Retin Eye Res* 23: 91–147.
5. Skaper S.D. (2008) The biology of neurotrophins, signaling pathways, and functional peptide mimetics of neurotrophins and their receptors. *CNS Neurol Disord Drug Targets* 7: 46–62.
6. Kilic U., Kilic E., Jarve A., Guo Z., Spudich A., Bieber K., Barzena U., Bassetti C.L., Marti H.H., Hermann D.M. (2006) Human vascular endothelial growth factor protects axotomized retinal ganglion cells in vivo by activating ERK-1/2 and Akt pathways. *J Neurosci* 26: 12439–12446.
7. Foxton R.H., Finkelstein A., Vijay S., Dahlmann-Noor A., Khaw P.T., Morgan J.E., Shima D.T., Ng Y.S. (2013) VEGF-A is necessary and sufficient for retinal neuroprotection in models of experimental glaucoma. *Am J Pathol* 182: 1379–1390.
8. Kermer P., Klocker N., Labes M., Bahr M. (2000) Insulin-like growth factor-I protects axotomized rat retinal ganglion cells from secondary death via PI3-K-dependent Akt phosphorylation and inhibition of caspase-3 In vivo. *J Neurosci* 20: 2–8.
9. Unterlauff J.D., Eichler W., Kuhne K., Yang X.M., Yafai Y., Wiedemann P., Reichenbach A., Claudepierre T. (2012) Pigment epithelium-derived factor released by Muller

- glial cells exerts neuroprotective effects on retinal ganglion cells. *Neurochem Res* 37: 1524–1533.
10. Hammes H.P., Federoff H.J., Brownlee M. (1995) Nerve growth factor prevents both neuroretinal programmed cell death and capillary pathology in experimental diabetes. *Mol Med* 1: 527–534.
 11. Stone J., Ilin A., Alon T., Pe'er J., Gnessin H., Chan-Ling T., Keshet E. (1995) Development of retinal vasculature is mediated by hypoxia-induced vascular endothelial growth factor (VEGF) expression by neuroglia. *J Neurosci* 15: 4738–4747.
 12. Walsh N., Valter K., Stone J. (2001) Cellular and subcellular patterns of expression of bFGF and CNTF in the normal and light stressed adult rat retina. *Exp Eye Res* 72: 495–501.
 13. Harada T., Harada C., Kohsaka S., Wada E., Yoshida K., Ohno S., Mamada H., Tanaka K., Parada L.F., Wada K. (2002) Microglia-Müller glia cell interactions control neurotrophic factor production during light-induced retinal degeneration. *J Neurosci* 22: 9228–9236.
 14. Eichler W., Yafai Y., Keller T., Wiedemann P., Reichenbach A. (2004) PEDF derived from glial Müller cells: a possible regulator of retinal angiogenesis. *Exp Cell Res* 299: 68–78.
 15. Lange J., Yafai Y., Reichenbach A., Wiedemann P., Eichler W. (2008) Regulation of pigment epithelium-derived factor production and release by retinal glial (Müller) cells under hypoxia. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 49: 5161–5167.
 16. Ogata N., Wang L., Jo N., Tombran-Tink J., Takahashi K., Mrazek D., Matsumura M. (2001) Pigment epithelium derived factor as a neuroprotective agent against ischemic retinal injury. *Curr Eye Res* 22: 245–252.
 17. Bilak M.M., Corse A.M., Bilak S.R., Lehar M., Tombran-Tink J., Kuncel R.W. (1999) Pigment epithelium-derived factor (PEDF) protects motor neurons from chronic glutamate-mediated neurodegeneration. *J Neuropathol Exp Neurol* 58: 719–728.
 18. Cao W., Tombran-Tink J., Elias R., Sezate S., Mrazek D., McGinnis J.F. (2001) In vivo protection of photoreceptors from light damage by pigment epithelium-derived factor. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 42: 1646–1652.
 19. Cao W., Tombran-Tink J., Chen W., Mrazek D., Elias R., McGinnis J.F. (1999) Pigment epithelium-derived factor protects cultured retinal neurons against hydrogen peroxide-induced cell death. *J Neurosci Res* 57: 789–800.
 20. Bouck N. (2002) PEDF: anti-angiogenic guardian of ocular function. *Trends Mol Med* 8: 330–334.
 21. Barnstable C.J., Tombran-Tink J. (2004) Neuroprotective and antiangiogenic actions of PEDF in the eye: molecular targets and therapeutic potential. *Prog Retin Eye Res* 23: 561–577.
 22. Schmidt M., Savkovic-Cvijic H., Eichler W., Unterlauff J.D. (2017) [Protective Effects of Müller Glia Cells Towards Retinal Ganglion Cells]. *Klin Monbl Augenheilkd*.
 23. Unterlauff J.D., Claudepierre T., Schmidt M., Müller K., Yafai Y., Wiedemann P., Reichenbach A., Eichler W. (2014) Enhanced survival of retinal ganglion cells is mediated by Müller glial cell-derived PEDF. *Exp Eye Res* 127C: 206–214.



Herr PD Dr. Jan Darius Unterlauff, FEBO ist Oberarzt an der Klinik und Poliklinik für Augenheilkunde am Universitätsklinikum Leipzig AöR mit besonderer Spezialisierung auf den Gebieten Glaukom und Hornhauterkrankungen. Das Medizinstudium absolvierte er an der Georg-August Universität zu Göttingen (2000–2002) und an der Julius-Maximilians-Universität zu Würzburg (2002–2006). Die Weiterbildung zum Facharzt für Augenheilkunde absolvierte er an der Universitäts-Augenklinik in Würzburg (Direktor: Prof. Dr. Dr. Franz Grehn; 2006–2010) und Leipzig (Direktor: Prof. Dr. Peter Wiedemann; 2010–2012). Die

Promotion zum Thema der ophthalmologischen Elektrophysiologie erfolgte 2008 in Würzburg unter wissenschaftlicher Leitung von PD Dr. rer. nat. Thomas Meigen. Die europäische Facharztprüfung wurde 2013 abgelegt. Die Habilitation zum Thema »Die Glaukome: Diagnostik, Therapie und Neuroprotektion« erfolgte 2015 in Leipzig.

FÖRDERUNGEN UND AUSZEICHNUNGEN

Herr PD Dr. Unterlauff wurde bisher durch das Nachwuchsförderprogramm des Universitätsklinikums Leipzig (2013–2014) und durch das DFG-Förderprogramm der DOG (2015 & 2016) unterstützt. Hieraus ging das aktuell von der DFG unterstützte Projekt »Der Einfluss glialer Mediatoren auf die PEDF-vermittelte Signalgebung und das neuronale Überleben in der Netzhaut« (UN-375/1-2; 2016 bis 2019) hervor. Herr PD Dr. Unterlauff ist Gründungsmittglied der Arbeitsgruppe Wissenschaftlicher Nachwuchs der DOG und ist Gutachter für verschiedene nationale und internationale Zeitschriften.

KONTAKT



PD Dr. Jan D. Unterlauff, FEBO

Klinik und Poliklinik für Augenheilkunde
Universitätsklinikum Leipzig AöR
Liebigstraße 10-14
04103 Leipzig
Telefon: 0341 97-21650
E-Mail:
JanDarius.Unterlauff@medizin.uni-leipzig.de



Stiftung Auge

weil Sehen wichtig ist

Millionen von älteren Menschen sind nahezu blind. Manchmal fehlt nur die passende Sehhilfe. Hinzu kommen Versorgungsbarrieren bei Erkrankungen, die zu Altersblindheit führen können.

Die Stiftung Auge geht gegen Blindheit und Sehbeeinträchtigungen im Alter vor – und braucht dafür Ihre Hilfe.

Weiter Sehen gegen Blindheit im Alter

Im Jahr 2014 hat die Stiftung Auge das Projekt OVIS Ophthalmologische Versorgung in Seniorenheimen ins Leben gerufen. Es untersucht die Defizite in Pflegeheimen und benennt nötige Hilfe und anfallende Kosten.



Aktuelle Ergebnisse der OVIS-Studie finden Sie unter:
www.weiter-sehen.org

Unterstützen Sie uns

Spenden Sie für die Stiftung Auge, um Sehbeeinträchtigungen im Alter zu verhindern.

Spendenkonto:
Sparkasse Heidelberg
IBAN: DE97 6725 0020 0009 1243 14
BIC: SOLADES1HDB

Plastisch komprimierte Kollagengele zur Augenoberflächenrekonstruktion – »first in man«

JOANA WITT, PROF. DR. MED. GERD GEERLING,
PROF. DR. DR. STEFAN SCHRADER

Klinik für
Augenheilkunde
Heinrich-Heine-
Universität

Abbildung 1

■ Bei der Herstellung von plastisch komprimierten Kollagen (PCC)-Gelen wird zunächst Kollagen durch Verschiebung des pH Wertes polymerisiert und anschließend unter Wasserentzug mit Hilfe von speziellen Absorbentien (RAFT absorber, Lonza) komprimiert. Die entstandenen PCC-Gele weisen gute biomechanische Eigenschaften auf.

Die Therapie von nicht heilenden Hornhaut-epitheldefekten und -ulzera stellt klinisch oft eine starke Herausforderung dar. Neben der konservativen Behandlung mittels konservierungsmittelfreien Tränenersatzmitteln [1], Verbandkontaktlinsen [2], Eigenserumaugentropfen [3, 4] sowie Sklerallinsen [5], ist die derzeit am häufigsten angewandte chirurgische Behandlung eine Amnionmembran-Transplantation [6, 7]. Einerseits zeigt die Amnionmembran viele positive Eigenschaften: So fördert sie auf der Augenoberfläche die Adhäsion und Migration von Hornhaut-epithelzellen und es konnte gezeigt werden, dass sie sowohl Entzündung, Narbenbildung als auch Gefäßneubildung auf der Augenoberfläche reduziert [8]. Andererseits beinhaltet ihre Verwendung mehrere Nachteile wie ihre biologische Variabilität, eine begrenzte Verfügbarkeit, eine potentielle Übertragung von Infektionen und einen kostspieligen Screening-Prozess [9]. Aufgrund dieser Einschränkungen gibt es große Anstrengungen, ein standardisiert hergestelltes Ersatzgewebe als Alternative zur Amnionmembran zu entwickeln.

PLASTISCH KOMPRIMIERTES KOLLAGEN ALS ALTERNATIVES BIOMATERIAL ZUR AUGENBEREICHENREKONSTRUKTION

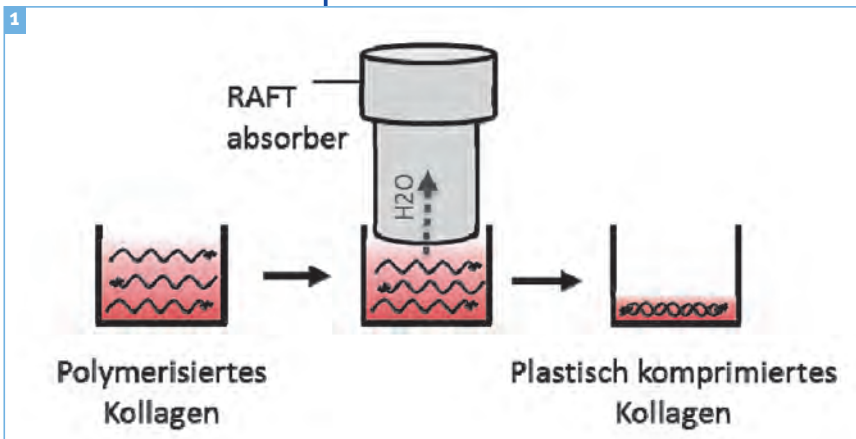
Kollagen Typ I stellt als eine der Hauptkomponenten der Kornea eine ideale Basis für ein poten-

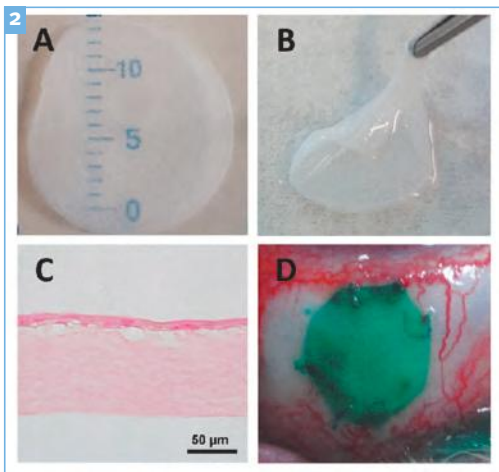
tielles Ersatzgewebe dar, da es eine hohe Biokompatibilität sowie geringe Immunogenität besitzt und die Zell-Migration und -Adhäsion von kornealen Epithelzellen fördert [9, 10]. Hydrogele aus Kollagen I weisen jedoch aufgrund eines hohen Wasser-Gehaltes eine mangelhafte mechanische Stabilität auf, sind dadurch wenig reißfest und folglich klinisch nicht gut anwendbar. Eine deutliche Verbesserung der biomechanischen Eigenschaften dieser Gele lässt sich jedoch durch plastische Komprimierung unter Wasserentzug erreichen [11].

Unsere Arbeitsgruppe konnte bereits zeigen, dass plastisch komprimiertes Kollagen (PCC) ein geeignetes Substrat für die Expansion humaner konjunktivaler Epithelzellen darstellt und eine hohe mechanische Stabilität und gute Elastizität aufweist. Die konjunktivalen Epithelzellen zeigten zudem auch nach Expansion auf PCC-Gele eine hohe proliferative Kapazität und Hinweise auf den Erhalt von epithelialen Progenitorzellen [12]. In einer Arbeit von Levis et al. wurden PCC Gele außerdem erfolgreich als Substrat für die *in vitro* Expansion von limbalen Epithelzellen genutzt [9].

Eigene tierexperimentelle Studien mit PCC-Gele belegen eine der Amnionmembran gleichwertige chirurgische Handhabbarkeit und Stabilität, sowie geringe Immunogenität und hohe Biokompatibilität *in vivo* (Abb. 2, unpublizierte Daten).

Als Kollagenquelle für eine klinische Anwendung kann rekombinantes humanes Kollagen genutzt werden [13], welches jedoch aufwendig und teuer in der Herstellung ist. Eine mögliche Alternative hierzu ist porcines Kollagen, bei welchem durch enzymatische Behandlung periphere, quervernetzte Telopeptide abgespalten werden, wodurch das sog. Atelokollagen entsteht. Telopeptide sind u.a. verantwortlich für die Immunogenität von Kollagen, weswegen Gele oder Membranen aus Atelokollagen praktisch keine antigenbedingten Immunreaktionen hervorrufen [14]. Solche porcinen Atelokollagene wurden bereits zur Knorpelrekonstruktion erfolgreich klinisch eingesetzt [15, 16].



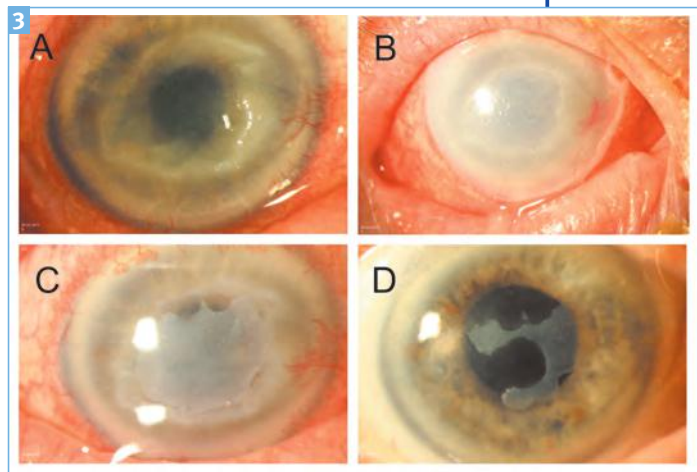
**Abbildung 2**

■ Plastisch komprimierte Kollagen-Gele zeigen eine gute Transparenz (A), sind mechanisch stabil (B) und lassen sich *in vitro* erfolgreich mit Epithelzellen der Augenoberfläche besiedeln (C). *In vivo* zeigen sie eine gute chirurgische Handhabbarkeit, eine mit Amnionmembran vergleichbare Biokompatibilität und Epithelialisierung (D).

TRANSLATION VOM LABOR ZUR KLINISCHEN ANWENDUNG – »FIRST IN MAN«

In einem ersten Schritt hin zur klinischen Anwendung, hat unsere Arbeitsgruppe erfolgreich PCC Gele aus CE-zertifiziertem porcinen Atelokollagen (Cartifill™ 3%, RMS, Seoul, Korea) hergestellt und im Rahmen eines individuellen Heilverversuches erstmals am Menschen angewendet (Manuskript eingereicht). Bei einer Patientin mit einem therapieresistenten Hornhautulkus aufgrund einer neurotrophen Keratopathie, welche zuvor über einen langen Zeitraum erfolglos konservativ und chirurgisch behandelt wurde, zeigte sich nach Implantation eines PCC Inlays und Onlays keine Zeichen einer schweren Entzündungs- oder Abstoßungsreaktion an der Augenoberfläche. Bereits nach einer Woche kam es zu einer vollständigen Re-Epithelialisierung des Defekts über dem Inlay, sowie zu einer vollständigen Degradation des Onlays. Im weiteren Verlauf zeigte auch das Inlay eine zunehmende Degradation und Transparenzerhöhung. Der Visus stieg von Fingerzählen vor der OP auf 0.025 (20/800) nach 12 Wochen.

Ein PCC Gel aus CE-zertifiziertem Atelokollagen zeigte in dem dargestellten Fall eine gute chirurgische Handhabbarkeit, induzierte keine ausgeprägte Entzündungsreaktion und konnte erfolgreich von Hornhautepithel besiedelt werden. Aus unserer Sicht stellen diese standardisiert herstellbaren PCC-Matrices eine mögliche neue Alternative zu Amnion bei der Augenoberflächen-

**Abbildung 3**

■ **A:** Spaltlampenaufnahme des rechten Auges einer Patientin mit neurotrophem Hornhautulkus. **B:** Erster postoperativer Tag nach Implantation eines Atelokollagen-PCC Inlays und Onlays. **C:** Komplette Degradation des Onlays und vollständige Epithelialisierung des Inlays eine Woche nach der OP. **D:** Langsame Degradation und Transparenzerhöhung des Inlays zwölf Wochen nach der OP.

rekonstruktion dar, welches allerdings durch zukünftige prospektive, randomisierte klinische Studien weiter untersucht werden muss.

LITERATUR

1. Lambiasi A., et al., Management of neurotrophic keratopathy. *Current opinion in ophthalmology*, 1999. 10 (4): p. 270–276.
2. Lim L., D.T.H. Tan, and W.K. Chan, Therapeutic Use of Bausch & Lomb Pure Vision Contact Lenses. *Eye & Contact Lens*, 2001. 27 (4): p. 179&hyphen. 184.
3. Tsubota K., et al., Treatment of persistent corneal epithelial defect by autologous serum application. *Ophthalmology*, 1999. 106 (10): p. 1984–1989.
4. Schrader S., et al., Combination of serum eye drops with hydrogel bandage contact lenses in the treatment of persistent epithelial defects. *Graefe's Archive for Clinical and Experimental Ophthalmology*, 2006. 244 (10): p. 1345–1349.
5. Rosenthal P., J.M. Cotter, and J. Baum, Treatment of persistent corneal epithelial defect with extended wear of a fluid-ventilated gas-permeable scleral contact lens. *American journal of ophthalmology*, 2000. 130 (1): p. 33–41.
6. Prabhasawat P., N. Tesavibul, and W. Komolsuradej, Single and multilayer amniotic membrane transplantation for persistent corneal epithelial defect with and without stromal thinning and perforation. *British Journal of Ophthalmology*, 2001. 85 (12): p. 1455–1463.
7. Kruse F. and C. Cursiefen, *Surgery of the cornea: corneal, limbal stem cell and amniotic membrane transplan-*



- tion, in *Surgery for the Dry Eye*. 2008, Karger Publishers. p. 159–170.
8. Schrader S., et al., Tissue engineering for conjunctival reconstruction: established methods and future outlooks. *Current eye research*, 2009. 34 (11): p. 913–924.
 9. Levis H.J., R.A. Brown, and J.T. Daniels, Plastic compressed collagen as a biomimetic substrate for human limbal epithelial cell culture. *Biomaterials*, 2010. 31 (30): p. 7726–7737.
 10. Gullberg D., et al., Identification of integrin-like matrix receptors with affinity for interstitial collagens. *Journal of Biological Chemistry*, 1989. 264 (21): p. 12686–12694.
 11. Brown R.A., et al., Ultrarapid engineering of biomimetic materials and tissues: Fabrication of nano- and microstructures by plastic compression. *Advanced Functional Materials*, 2005. 15 (11): p. 1762–1770.
 12. Drechsler C., et al., Development of a conjunctival tissue substitute on the basis of plastic compressed collagen. *Journal of tissue engineering and regenerative medicine*, 2015.
 13. Fagerholm P., et al., Stable corneal regeneration four years after implantation of a cell-free recombinant human collagen scaffold. *Biomaterials*, 2014. 35 (8): p. 2420–2427.
 14. Bachmann B.O., et al., Keratin, Kollagen oder doch Spendergewebe – wo liegt die Zukunft in der Entwicklung neuer Biomaterialien zur Hornhautrekonstruktion? *Klinische Monatsblätter für Augenheilkunde*, 2017. 234 (06): p. 758–762.
 15. Shetty A.A., et al., Autologous collagen induced chondrogenesis (ACIC: Shetty – Kim technique – A matrix based acellular single stage arthroscopic cartilage repair technique. *Journal of clinical orthopaedics and trauma*, 2016. 7 (3): p. 164–169.
 16. USUELLI F.G., et al., Treatment of osteochondral lesions of the talus with autologous collagen-induced chondrogenesis: clinical and magnetic resonance evaluation at one-year follow-up. *Joints*, 2016. 4 (2): p. 80.

KONTAKT



Univ.-Prof. Dr. Dr. Stefan Schrader

Geschäftsführender Oberarzt
 Leiter des Schwerpunktes
 Hornhauterkrankungen
 Leiter der Lions Hornhautbank
 Nordrhein-Westfalen
 Klinik für Augenheilkunde
 Heinrich-Heine-Universität
 Moorenstraße 5
 40225 Düsseldorf
 Telefon: 0211 81-16041
 E-Mail:
stefan.schrader@med.uni-duesseldorf.de

Autorenverzeichnis

IN ALPHABETISCHER REIHENFOLGE

A		F	
Ach T.	12	Fang P.P.	80
Alnawaiseh M.	16	Fauser S.	138
Alten F.	16	Finger R.P.	114
Atiskova Y.	52	Fischer M.D.	36
Augsten R.	42	Fleckenstein M.	114
Awe M.	120	Framme C.	120
B		G	
Bartsch S.	52	Geerling G.	178
Bartsch U.	52	Gottschalk H.	110
Bartz-Schmidt K.U.	36	Grisanti S.	124
Bermond K.	12	H	
Blum M.	150	Hammer M.	42
Bock F.	48	Heid I.M.	22
Böhm M.	72	Helbig H.	22
Bohnacker S.	100	Hemkepler E.	72
Brandl C.	22	Hillenkamp J.	12
Brandstetter C.	80	Hoerauf H.	110
Brinkmann R.	170	Hoffmann A.V.	80
Brockmann C.	66	Holz F.G.	80, 114
Burchard von der C.	170	Hörster R.	138
Busch C.	66	Hos D.	48
C		J	
Clemens C.R.	16	Jankowiak W.	52
Crespo-Garcia S.	66	Joachim S.C.	128
Cursiefen C.	48	Johnen S.	58, 134
D		Jousen A.	66
Danzmann L.	120	Jünemann A.	160
Deißler H.L.	28	Junker B.	120
Diarra S.	58	K	
Dick H.B.	128	Khattab M.	110
Dulz S.	52	Kirchhof B.	138
E		Klettner A.	62, 170
Eichler W.	174	Kling S.	150
Eter N.	16	Kociok N.	66
		Kohnen T.	3, 72
		Koinzer S.	170



Kreilkamp L.	42	S	Salweski S.	42
Krohne T.U.	80		Sauer L.	42
Kühn S.	128		Schaffrath K.	134
L			Schaub F.	138
Langenbacher A.	154		Schimitzek H.	134
Lang G.E.	28		Schindler C.	120
Lang G.K.	28		Schmidt J.	42
Lang S.J.	84		Schmitt C.	12
Latta L.	154		Schmitz-Valckenberg S.	114
Lazaridis A.	150		Schrader S.	178
Liegl R.	106		Schultz R.	42
Ljubujevic N.	96		Schumann H.	160
Lohmann C.P.	100		Schuster A.K.	142
Lohmann T.	134		Sefat A.M.M.	146
Lorenz B.	166		Seitz B.	154
M			Sekundo W.	150
Maier M.	100		Sendtner M.	12
Maier P.	84		Spiru B.	150
May M.	120		Spitzer M.	52
Meer van der A.-M.	134		Stachon T.	154
Meller D.	42		Stachs O.	160
Mergler S.	96		Stark K.J.	22
Messerschmidt-Roth A.	150		Steinberg J.S.	114
Meyer-Wenzel C.	66		Stieger K.	166
Mohr L.K.M.	80		Stockinger P.	12
N			Strauß O.	66
Nasseri A.	100		Szentmáry N.	154
Nickels S.	142	T		
Nürnberg C.	66	Thiele S.H.	114	
O		Thumann G.	58	
Ohlmann A.	106	Tode J.	170	
Oterendorp van C.	110	Tsai T.	128	
P		U		
Patt J.	80	Ueffing M.	36	
Peters S.	42	Unterlauff J.D.	174	
Pfau M.	114	W		
Pfeiffer N.	142	Walter P.	58, 134	
Pielen A.	120	Wang L.	80	
Pleyer U.	66, 96	Weber B.H.F.	22	
Pohlmann D.	66	Winterhalter S.	66	
R		Witt J.	178	
Ranjbar M.	124	Z		
Reichhart N.	66	Zapp D.	100	
Reinehr S.	128	Zhou M.	100	
Reinhard T.	84	Zimmermann M.E.	22	
Richert E.	170			
Röhlig M.	160			
Roider J.	62, 170			
Rössler G.	134			
Rudolf M.	146			

Notizen



Notizen



VIELEN DANK

für Ihr Interesse
an unserer Publikation
»Spitzenforschung
in der Ophthalmologie«

Allergan Pharmaceuticals Ireland





Santen GmbH