

1 Einleitung

Die vorliegende Arbeit beschäftigt sich mit proteinbiochemischen und kontraktionsexperimentellen Untersuchungen an Zellen des Auges und möchte dazu beitragen, die Pathophysiologie und Ansätze einer eventuellen Therapie des Glaukoms – speziell des Primären Offenwinkelglaukoms – genauer zu erforschen.

1.1 Geschichte der Glaukomforschung

Schon Hippokrates bezeichnete mit Glaukom ($\gamma\lambda\acute{\alpha}\upsilon\kappa\omicron\mu\alpha$) von griechisch „glaukos“ „blaugrünlich schimmernd“ eine fortschreitende Erblindung, bei der sich eine bläulich schimmernde Pupille diagnostizieren ließ (Duke-Elder, 1971). Dieser Begriff hat andere Erblindungsursachen wie die Katarakt höchstwahrscheinlich mit eingeschlossen. Erst arabische Dokumente aus dem 10. Jahrhundert von At-Tabari belegen, dass man auf einen Anstieg des Augendrucks beim Glaukom aufmerksam wurde (Duke-Elder, 1971). Nachdem das Ophthalmoskop erfunden war, notierte 1858 Heinrich Müller, dass Patienten mit Symptomen des Glaukoms gehäuft Abnormalitäten im Kammerwinkel aufwiesen (Duke-Elder, 1971). Seitdem blieb die Untersuchung pathologischer Vorgänge im Kammerwinkel ein wichtiger Schwerpunkt der Glaukomforschung.

1.2 Definition des Glaukoms

Durch immer genauere Untersuchungsmethoden konnten bis heute vielfältige Unterschiede zwischen verschiedenen Glaukomformen erforscht werden, eine einheitliche Definition wird dadurch erschwert. Allgemein formuliert ist das Glaukom ein relatives Missverhältnis zwischen intraokulärem Druck (IOD) und Sehnervenresistenz. Papillenexkavation und charakteristische Gesichtsfeldausfälle sind für das Glaukom pathognomonisch (Schwenn, 2001).

Mit wenigen Ausnahmen sind Veränderungen, die den Abfluss des Kammerwassers über den Kammerwinkel betreffen, für die Erhöhung des IOD verantwortlich zu machen (Shields & Krieglstein, 1993c):

1.3 Einteilung der Glaukomerkrankungen

Die Glaukome lassen sich nach Ätiologie und Pathomechanismus einteilen (Shields & Krieglstein, 1993b):

I. Offenwinkelglaukome: Der Kammerwinkel zwischen Kornea und Iris ist normal weit und beträgt ca. 40°

- a) *Primäres Offenwinkelglaukom (POWG):* Veränderungen im trabekulären Maschenwerk (TM) des Kammerwinkels führen zum erhöhten Abflusswiderstand des Kammerwassers.
- b) *Sekundäres Offenwinkelglaukom:* Andere Krankheitsursachen beeinflussen den Kammerwinkel sekundär:
 - Prätrabekuläre Form: In der Vorderkammer gelegene Membranen verlegen das TM und behindern den Kammerwasserabfluss.
 - Trabekuläre Form: Akkumulation von Materialien wie Zellen, Pigmentgranula oder Fibrin innerhalb der Hohlräume des TM oder Ödeme oder Fibrosierungen des TM selbst behindern den Kammerwasserabfluss.
 - Posttrabekuläre Form: Dem TM nachgeschaltete Strukturen wie intrasklerale Abflusskanälchen und Schlemmkanal sind verlegt.
- c) *Entwicklungsbedingte Offenwinkelglaukome:* Durch unvollständige Entwicklung der Abflusswege kommt es zur Abflussbehinderung.

II. Winkelblockglaukome: Der Kammerwinkel ist abgeflacht und beträgt nur noch ca. 15°.

- a) *Primäres Winkelblockglaukom:* Ungeklärtes Zusammenwirken verschiedener Faktoren führt zur Verengung des Kammerwinkels durch eine hervortretende Iriswurzel.
- b) *Sekundäres Winkelblockglaukom:*
 - Anteriore Form: Entzündliche Präzipitate, Kontraktion von Gewebe im Kammerwinkel oder neovaskuläre Membranen ziehen die Iris nach vorne.
 - Posteriore Form: Erhöhter Druck in der hinteren Augenkammer (z.B. durch Tumoren oder Blutung) wölbt das Iris-Linsen-Diaphragma nach vorne.
- c) *Entwicklungsbedingte Winkelblockglaukome:* Unvollständige Differenzierung von Kammerwinkelstrukturen führen zu dessen Verengung.

1.4 Epidemiologie des Glaukoms

Das Primäre Offenwinkelglaukom ist mit bis zu 70% (Angaben schwanken) die häufigste Form der Glaukome (Schwenn, 2001) und ist nach der altersabhängigen Makuladegeneration und der diabetischen Retinopathie die dritthäufigste Erblindungsursache bei Erwachsenen in entwickelten Ländern (Kocur & Resnikoff, 2002). Seine Prävalenz beträgt ca. 1%, bei der Bevölkerung über 70 Jahre ca. 3% (Schwenn, 2001). Farbige leiden häufiger am Glaukom, ihr Risiko, am Glaukom zu erblinden, ist etwa 8 mal höher als bei der weißen Bevölkerung (Shields & Kriegelstein, 1993c).

1.5 Histologischer Aufbau des Kammerwinkels

Der Kammerwinkel (s. Abb. 1) gebildet aus Kornea, Sklera und Iris wird durch 3 Schichten des TM ausgekleidet (Rohen, 1982): Ganz außen liegt die *juxtakanalikuläre* oder *kribriforme Schicht*, ein unregelmäßiges Netzwerk feiner Fibrillen, das die innere Wand des Schlemmkanals bildet. Nach innen hin folgt die *korneosklerale Schicht*, die sich zwischen Kornea und Sklerasporn aufspannt. Ihre Lamellen oder Trabekel sind von Basalmembran umkleidet. Auf dieser sitzen Endothelzellen, welche die Innenräume auskleiden, die zwischen den Trabekeln ähnlich wie in einem Schwamm entstehen. Nach innen wird der Kammerwinkel durch die ebenfalls lamelläre *uveale Schicht abgeschlossen*, die zwischen ziliaren Fasern in der Iriswurzel und Sklera verläuft.

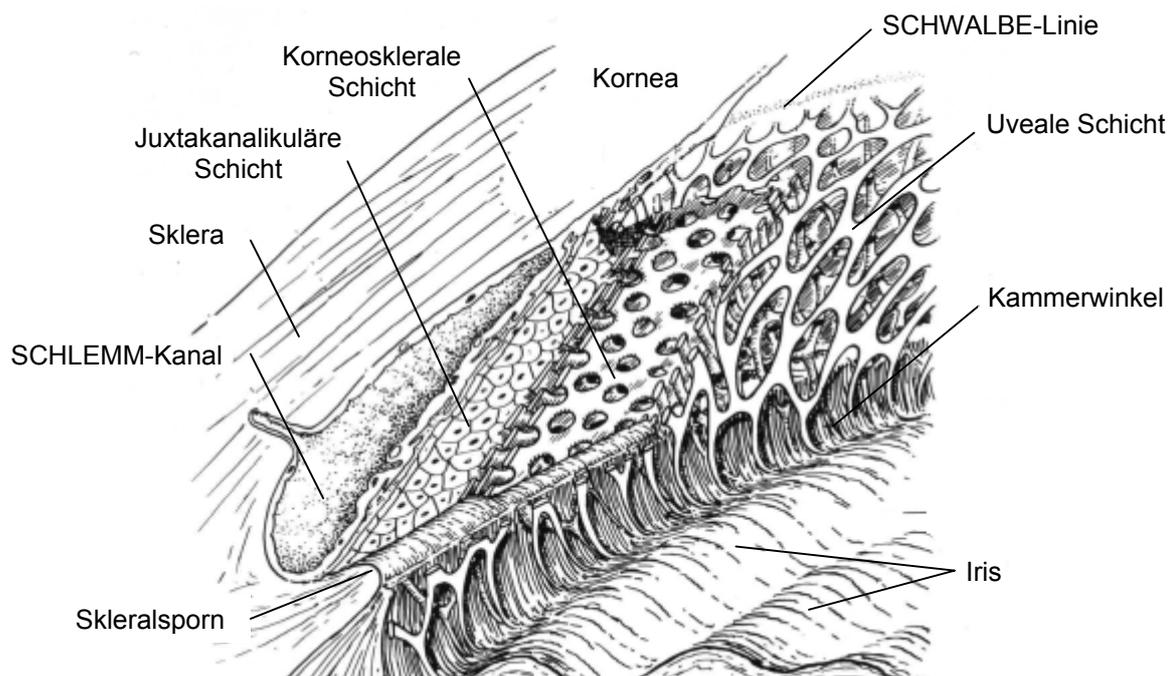


Abb. 1: Der Kammerwinkel (Shields, 1993a)

1.6 Physiologie des Kammerwassers

Durch Diffusion, Ultrafiltration und aktive Sekretion wird das Kammerwasser im Ziliarkörperfortsatz aus Blutplasma gebildet. Aus der hinteren Augenkammer fließt es durch die Pupille hindurch in die vordere. Mit seinem mittleren Druck, der in der gesunden Bevölkerung $15,5 \pm 2,57$ mmHg beträgt, verleiht es der runden Form des Auges Stabilität (Shields & Kriegelstein, 1993c). Daneben hat das Kammerwasser metabolische Funktionen besonders für nichtvaskularisierte Strukturen wie Linse und Kornea. Nur ca. 15% des Kammerwassers verlassen das Auge über uveosklerale Wege, 85% dagegen fließen in Abhängigkeit vom Druck über ein Abflusssystem im Kammerwinkel ab (Shields & Kriegelstein, 1993c). Dieses besteht aus Trabekelmaschenwerk, Schlemm-Kanal, daran anschließenden intraskleralen Sammelkanälchen und episkleralen sowie konjunktivalen Venen. Die Endothelschicht zwischen Schlemm-Kanal und kribriformer, juxtakanalikulärer Schicht des TM stellt dabei den größten Abflusswiderstand dar (Shields & Kriegelstein, 1993a).

1.7 Befunde beim Primären Offenwinkelglaukom (POWG)

Das POWG wird durch folgende charakteristische klinische Befunde definiert (Shields & Kriegelstein, 1993c):

Bei den meisten Patienten liegt Erhöhung des IOD von über 22 mmHg meist beider Augen vor.

In etwa 1/3 der Fälle ist der IOD nicht erhöht.

Gonioskopisch sind die Kammerwinkel unauffällig und offen.

Es sind schleichend fortschreitende, glaukomatöse Gesichtsfeldausfälle und / oder Papillenläsionen diagnostizierbar (glaukomatöse Optikusneuropathie).

Weitere okuläre oder allgemeine Erkrankungen, die einen erhöhten IOD erklären könnten, liegen nicht vor.

1.8 Bedeutung des erhöhten Augeninnendruckes beim POWG

Beim POWG liegt das Hauptaugenmerk auf der Sehnervenschädigung und den mit ihr einhergehenden Gesichtsfeldausfällen, denn sie stellen die bedeutendste Beeinträchtigung für den Patienten dar. Andere Beschwerden wie Schmerzen oder Rötung des Auges treten eher bei anderen Glaukomformen mit höheren Drücken als denen für das POWG typischen zwischen 20 und 30, seltener 40mmHg auf (Shields & Kriegelstein, 1993c)

An der Entstehung der Sehnervenschädigungen scheinen mehrere Faktoren beteiligt zu sein:

1858 hat Müller die „mechanische Theorie“ formuliert, nach welcher Atrophien des Nervus Opticus direkte Folge erhöhter Augeninnendrucke seien. Gleichzeitig hat von Jäger die „Gefäßtheorie“ vertreten, der zufolge vaskuläre Abnormitäten Ursache der Optikusatrophie darstellen (Shields & Kriegelstein, 1993c). Verschiedenste Studien unterstützten abwechselnd die Richtung der einen oder der anderen Theorie, ohne dass eindeutige Zusammenhänge vollständig aufgezeigt werden konnten. Folgende Tatsache hat besonders zu denken gegeben: In einigen Fällen wiesen Patienten ohne IOD-Erhöhung glaukomatöse Papillenschäden auf, in anderen traten erhöhte Augeninnendrucke ohne Papillenatrophien auf (Shields & Kriegelstein, 1993c).

Zusammengefasst wird aber deutlich, dass besonders die IOD-Erhöhung, aber auch vaskuläre Ursachen für die Entstehung der Sehnervenläsionen verantwortlich sind (Flammer et al., 1999). Es scheint zu gelten, je höher der IOD, desto einflussreicher seine Wirkung, während bei Glaukomen mit niedrigen Drücken vaskuläre Ursachen an Bedeutung gewinnen. Zur Abgrenzung letzterer Formen bezeichnet man diese als Normaldruckglaukome (Shields & Kriegelstein, 1993c).

1.9 Pathophysiologie des erhöhten Augeninnendruckes

Die Senkung des erhöhten IOD stellt derzeit die erfolgversprechendste Möglichkeit zur Therapie des POWG dar (Heijl et al., 2002; Hoyng & Kitazawa, 2002; Investigators, 2000; Wiederholt et al., 2000). Daher kommt der Pathophysiologie des erhöhten IOD größtes Interesse zu.

Das TM, über welches wie oben erwähnt, 85% des Kammerwassers abfließen (Shields & Kriegelstein, 1993a), stellt den Hauptabflusswiderstand dar (Lepple-Wienhues et al., 1991a) und rückt daher in den Brennpunkt der Forschung. Abschließend sind die Pathomechanismen noch nicht geklärt. An glaukomatösen Augen konnten jedoch Veränderungen der Trabekelmorphologie, der Kollagenstruktur, der Endothelzellen, und der intratrabekulären Räume nachgewiesen werden. Ablagerungen verschiedener Materialien sind in der juxtakanalikulären Schicht entdeckt worden (Lütjen-Drecoll, 1999; Shields & Kriegelstein, 1993c). Diese und zahlreiche weitere nachweisbare Veränderungen haben jedoch bisher hinsichtlich eines Therapieansatzes beim Glaukom keine bedeutende Rolle gespielt.

1.10 Senkung des Augeninnendruckes als Therapie beim POWG

Bisher beruhen etablierte medikamentöse Therapieformen beim POWG fast ausschließlich auf der Senkung des Augeninnendruckes. Das Trabekelwerk soll dabei nur passiv beteiligt sein, indem es von einstrahlenden Fasern des Ziliarmuskels (ZM) bei dessen Kontraktion nach Applikation von Parasympathomimetika gedehnt wird und dadurch den Kammerwasserabfluss erleichtert (Gong et al., 1996; Lütjen-Drecoll & Rohen, 1989). Alle Therapiemethoden können auch unerwünschte lokale oder systemische Wirkungen aufweisen, wie beim Einsatz von Parasympathomimetika (z.B. Pilocarpin) Miosis, Akkomodationsstörungen und vegetative Symptome (Schwenn, 2001).

1.11 Bedeutung des Trabekelwerks in der Glaukomtherapie

Nachdem in Trabekelwerksgewebe kontraktile, glattmuskelähnliche Elemente nachgewiesen worden sind (Iwamoto & Tamura, 1988), konnte in einem Modell mit bovinen, von ZM befreiten Augenvorderkammern gezeigt werden, dass durch Kontraktion des TM mittels verschiedener Pharmaka eine Erhöhung des Abflusswiderstandes bewirkt werden kann (Wiederholt et al., 1995). In Kontraktionsexperimenten sind isolierte TM- und ZM-Streifen durch Carbachol und Endothelin zur Kontraktion gebracht worden. Während die Kontraktion von ZM vollständig abhängig von der Anwesenheit extrazellulären Kalziums war, kontrahierte TM auch noch nach dessen Eliminierung in kalziumfreiem Milieu (Lepple-Wienhues et al., 1991b). Dies weist stark darauf hin, dass in beiden Geweben teilweise unterschiedliche Mechanismen Kontraktilität regulieren und auslösen können.

Aufgrund der kontraktile Eigenschaften des TM ist dieses als aktiv an der Regulation des IOD beteiligtes Gewebe anzusehen (Wiederholt, 1998). Verschiedene Substanzen, die in Experimenten zur Relaxation isolierter TM-Streifen geführt haben, bewirkten im Modell mit isolierten Augenvorderkammern eine Zunahme des Kammerwasserabfluss (Wiederholt, 1998; Wiederholt et al., 1995; Wiederholt et al., 1997). Folglich könnte das TM einen neuen Ansatzpunkt für eine medikamentöse Therapie darstellen. Ein ideales Pharmakon müsste den Kontraktionsmechanismus des TM so beeinflussen, dass diesem zur Relaxation verholfen wird. Um Nebenwirkungen, wie oben genannt, so gering wie möglich zu halten, dürfte der Ziliarmuskel hingegen kaum oder gar nicht beeinflusst werden (Wiederholt et al., 2000). Dieser Forderung kommt sehr entgegen, dass in beiden Geweben offenbar unterschiedliche Kontraktionsmechanismen vorhanden sind. Voraussetzung für die Entwicklung eines Pharmakons, das nur auf das TM, nicht aber auf den ZM einwirkt, wäre zunächst die genaue Er-

forschung der molekularen Mechanismen, welche den TM-Kontraktionen, insbesondere denen ohne extrazelluläres Kalzium (Ca^{2+}), zugrunde liegen. Dank der Forschung an vaskulärer Muskulatur sind Kontraktionsabläufe ohne Beteiligung extrazellulären Kalziums bis in die molekularen Zusammenhänge bekannt geworden (Somlyo & Somlyo, 2000). Mehrere Untersuchungen am TM haben bereits die Vermutung unterstützt, dass ähnliche Regulationsmechanismen wie die komplexen Signaltransduktionskaskaden in glatter Gefäßmuskulatur auch für TM-Kontraktionen zu erwarten sind (Wiederholt et al., 2000).

1.12 Ziel der Arbeit

Ziel dieser Arbeit ist es, Expression und funktionelle Bedeutung einzelner an Kontraktion und Signaltransduktion beteiligter Proteine im TM mit Hilfe von molekularbiologischen Methoden und funktionellen Messungen der Kontraktilität nachzuweisen und zu untersuchen. Den Schwerpunkt bildet hierbei der Nachweis des kontraktiven Proteins Myosin, dessen Aktivierungsenzymes Myosin-Light-Chain-Kinase (MLCK) und der in der Signaltransduktionskaskade weiter oberhalb agierenden Rho-Kinase (ROCK). Die Arbeit soll dazu beitragen, die Signaltransduktionsprozesse im TM besser zu verstehen und die Frage zu beantworten, ob isoliert am TM angreifende Pharmaka in der Lage sind, dieses zu relaxieren und den Kammerwasserabflusswiderstand sowie den IOD als wirksamste Therapie beim POWG zu senken.