

# Kapitel 1. Einleitung

## 1. Glaukom

### 1.1. Definition des Glaukoms

Der Begriff „Glaukom“ bezeichnet eine heterogene Gruppe von Augenerkrankungen. Typische Vertreter sind das primäre Offenwinkelglaukom und das Winkelblockglaukom. Daneben gibt es noch zahlreiche weitere Glaukomformen, die jedoch vergleichsweise selten auftreten<sup>(36)</sup>. Gemeinsames Kennzeichen aller Glaukomerkrankungen ist, dass sie durch einen individuell zu hohen Augeninnendruck ausgelöst werden<sup>(89)</sup>. Dieser muss so hoch sein, dass die Durchblutung des Sehnerven gestört und seine Axone nicht mehr ausreichend versorgt werden<sup>(86)</sup>. Zusätzlich wird eine direkte Druckschädigung der Axone diskutiert<sup>(43)</sup>. Durch diese beiden Vorgänge kommt es zu einer strukturell sichtbaren Schädigung des Sehnerven<sup>(100)</sup>, die auf funktioneller Ebene zu charakteristischen Gesichtsfeldausfällen führt<sup>(33)</sup>. Der Verlauf der Erkrankung ist progredient. Unbehandelt kommt es zur Erblindung des betroffenen Auges<sup>(90)</sup>.

### 1.2. epidemiologische Bedeutung des Glaukoms

Weltweit leiden mehr als 72 Millionen Menschen an einem Glaukom<sup>(89)</sup>. Diese Zahl wird sich bis 2020 um weitere 8 Millionen erhöhen<sup>(29)</sup>. Das Risiko, an einer Glaukomerkrankung zu erblinden liegt, je nach Weltregion, bei bis zu 10%. Das Glaukom ist damit die weltweit zweithäufigste Ursache für Blindheit<sup>(94)</sup>.

Eine genaue statistische Erhebung für die Bundesrepublik existiert noch nicht. Nach Schätzungen sind in unserem Land 500.000 - 800.000 Menschen über 40 Jahre an einem Glaukom erkrankt<sup>(86)</sup>. Bei den Ursachen für Neuerblindungen in Deutschland steht das Glaukom an dritter Stelle. Bedingt durch die Alterung der Gesellschaft wird die Zahl der Neuerblindungen bis zum Jahr 2030 um ca. 80 % steigen<sup>(56)</sup>.

### 1.3. Behandlung des Glaukoms durch Trabekulektomie

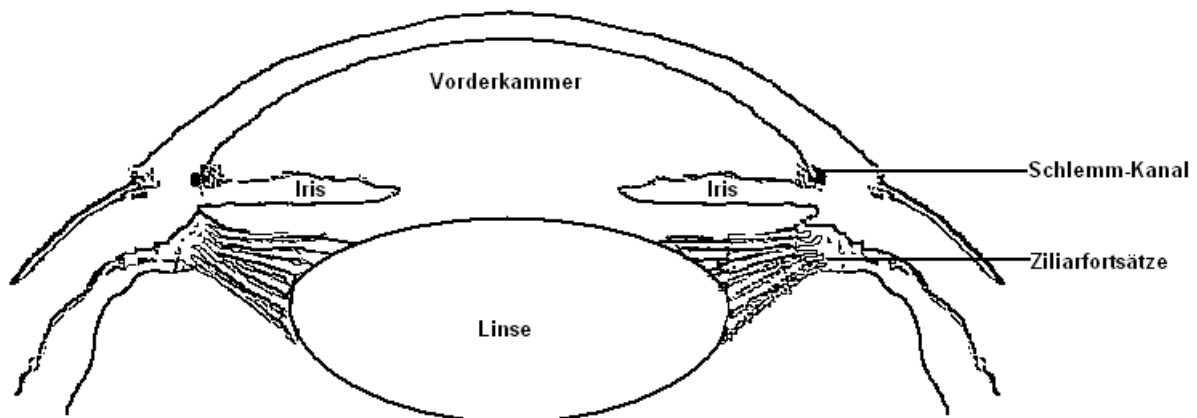


Abb. 1: Querschnitt durch den vorderen Augenabschnitt; im unpigmentierten Ziliarepithel der Ziliarfortsätze wird Kammerwasser gebildet. Dieses gelangt zwischen Iris und Linse durch die Pupillenöffnung in die Vorderkammer wo es im Schlemm-Kanal resorbiert wird.

De Wecker definierte den Begriff „Glaukom“ als ein Ungleichgewicht zwischen Sekretion und Resorption des Kammerwassers (s. Abb. 1). Dieses Ungleichgewicht führt zu einer Vermehrung des intraokularen Kammerwasservolumens und damit zu einem Anstieg des intraokularen Drucks<sup>(27,35)</sup>. Diese Definition bildet heute noch das pathophysiologische Grundprinzip, an dem sich alle Formen der Glaukomtherapie orientieren. Man versucht, den intraokularen Druck durch verminderte Produktion oder vermehrten Abfluss von Kammerwasser zu verringern. Auf dieser Grundlage wurden verschiedene Therapiemöglichkeiten entwickelt. Die wichtigsten sind: medikamentöse Therapie, Lasertherapie und chirurgische Intervention. Bei Kindern ist die chirurgische Intervention Mittel der Wahl. In allen anderen Gruppen wird sie angewendet, wenn trotz medikamentöser Therapie oder Laserbehandlung der intraokulare Druck weiter erhöht bleibt oder es zu einem Fortschreiten des Gesichtsfeldverlustes kommt<sup>(99)</sup>.

Die sogenannte Trabekulektomie ist die Referenzmethode der chirurgischen Intervention und wird am häufigsten durchgeführt<sup>(62)</sup>. Sie ist in der Drucksenkung effektiver als Glaukommedikamente oder eine Laserbehandlung<sup>(77)</sup>. Darüber hinaus ist sie in vielen Ländern der Erde die einzige praktikable Behandlung<sup>(29)</sup>. Die Trabekulektomie schafft eine Passage zwischen Vorderkammer und Augenoberfläche. Kammerwasser gelangt so aus dem Auge in den Subkonjunktivalraum und führt zur

Bildung eines Filterkissens, über das Kammerwasser auf die Augenoberfläche filtriert wird<sup>(10)</sup>.

Die Trabekulektomie kann den intraokularen Druck in 50% der Fälle so stark verringern, dass keine weitere Schädigung des Sehnerven auftritt<sup>(36)</sup>. Wird nach der Operation zusätzlich eine medikamentöse Glaukomtherapie durchgeführt, kann dieser Erfolg auf 61% gesteigert werden<sup>(28)</sup>. Daneben gibt es jedoch auch Risikogruppen, in denen die Drucksenkung nicht ausreichend ist oder es nach einem Intervall zu einem Wiederanstieg des Drucks kommt. Dazu gehören Patienten mit chronischen Entzündungen der Konjunktiva, solche, die jünger als 30 Jahre sind oder auch Patienten mit vorangegangenen chirurgischen Interventionen am Auge<sup>(54)</sup>. Zwischen den Geschlechtern gibt es hingegen keine Unterschiede<sup>(28)</sup>.

#### 1.4. Anatomie und Filtrationsverhalten des Filterkissens

##### 1.4.1. Anatomischer Aufbau eines filtrierenden Filterkissens

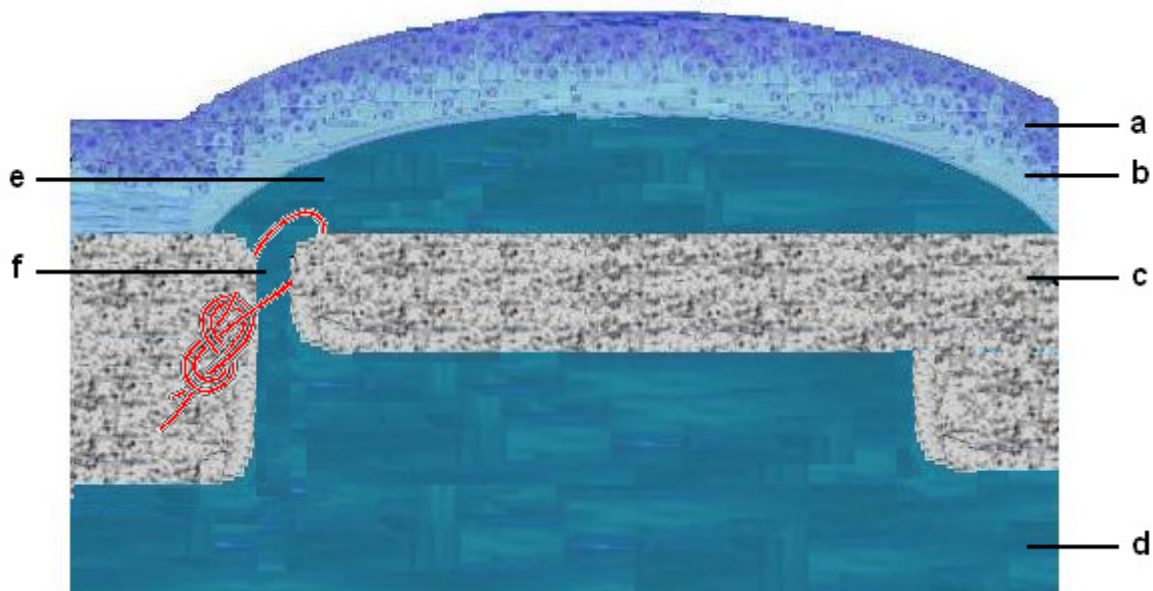


Abb.2: Modell eines filtrierenden Filterkissens; durch Exzision eines Blocks aus der Sklera (c) entsteht über ein inneres Ostium (f) eine direkte Verbindung zwischen Vorderkammer (d) und Subkonjunktiva (a) bzw. Tenon-Kapsel (b), so dass sich eine subkonjunktivale Filtrationsblase (e) bildet; sowohl in der Subkonjunktiva als auch in der Tenonkapsel befinden sich Mikrozysten<sup>(71,105)</sup>.

Anhand bildgebender Verfahren lässt sich ein morphologisch vollständiges Bild eines Filterkissens erstellen. Es besteht aus drei Schichten: der Konjunktiva, der Subkonjunktiva mit der Tenonschicht und der Sklera. Dabei hat die Konjunktiva keinen Einfluss auf die Filterkissenfunktion<sup>(71)</sup>. Die Subkonjunktiva besteht aus lockerem Bindegewebe, in dem zahlreiche Mikrozysten nachgewiesen wurden<sup>(65,105)</sup>. Auch in der Tenonkapsel treten Mikrozysten auf<sup>(71)</sup>. Dagegen bestehen in der Sklera des Filterkissens keine strukturellen Veränderungen<sup>(105)</sup> (s. Abb.2). Die aktuelle wissenschaftliche Vorstellung ist, dass das Kammerwasser über diese Mikrozysten aus der subkonjunktivalen Filtrationsblase auf die Augenoberfläche filtriert wird. Von dort wird es durch den Tränenfilm abtransportiert.

#### **1.4.2. Aufbau eines nicht-filtrierenden Filterkissens**

In der Literatur werden mindestens zwei Arten eines nicht-filtrierenden Filterkissens beschrieben. Bei der ersten kommt es zu einem Direktverschluss des Filterkissens durch fibrosierendes Granulationsgewebe<sup>(19)</sup>. Bei der zweiten bildet sich ein Filterkissen, das morphologisch einem filtrierenden Filterkissen ähnlich ist, bei dem die Mikrozysten jedoch eingekapselt werden<sup>(62,65)</sup>.

Gemeinsames Kennzeichen der nicht-filtrierenden Filterkissen ist das Auftreten von Bindegewebe als Ausdruck einer Vernarbungsreaktion<sup>(71)</sup>. Als Ursache dieser Reaktion wird eine überschießende Wundheilung angesehen, die durch Hyperaktivität der Fibroblasten aus der Tenonkapsel (Tenonfibroblasten) verursacht wird<sup>(52)</sup>. Klinisch findet die Wundheilung in 81,5% der Fälle in den ersten drei Wochen nach dem operativen Eingriff statt. Bei einer Minderheit der Patienten dauert sie bis zu drei Monaten<sup>(87)</sup>. Diskutiert werden eine verstärkte Vernarbungsreaktion der Tenonfibroblasten auf Grund des Einflusses von Wachstumsfaktoren oder auf Grund vorangegangener subklinischer Entzündungszustände des okulären Gewebes, die zu einer Voraktivierung der Fibroblasten führen (sogenanntes „tissue priming“)<sup>(54)</sup>. Integrative Ansätze versuchen, beide Vorstellungen zu verbinden. Zentrum dieser integrativen Ansätze ist der Tenonfibroblast, der sowohl durch Wachstumsfaktoren als auch durch Mediatoren der Entzündungszellen aktiviert wird und durch seine Funktionen das Ausmaß der Gewebsfibrosierung bestimmt.

## **1.5. Wachstumsfaktoren**

### **1.5.1. Definition**

Der Begriff des Wachstumsfaktors wurde ursprünglich für körpereigene Stoffe eingeführt, die Zellen zur Vermehrung anregen<sup>(8)</sup>. Außer dem Zellwachstum können sie weitere Zellfunktionen regulieren<sup>(59)</sup> und bereits im Femtomolarbereich Wirkung auf Zellen ausüben<sup>(20)</sup>. Die Wachstumsfaktoren werden nach ihrer Funktion im Gewebe benannt, wie die Familie des transformierenden Wachstumsfaktors TGF- $\beta$  (mit den wichtigsten Isoformen TGF- $\beta$ 1 und TGF- $\beta$ 2) oder aus welchen Zellen bzw. Geweben sie erstmals isoliert wurden wie die Familie des Plättchen-Wachstumsfaktor PDGF (Isoformen PDGF-AA, -AB und -BB). Daneben gibt es noch zahlreiche andere Wachstumsfaktoren wie EGF (epidermaler Wachstumsfaktor), FGF (Fibroblasten-Wachstumsfaktor) oder IGF-1 (insulinartiger Wachstumsfaktor).

### **1.5.2. Wichtige Wachstumsfaktoren bei Trabekulektomie**

Bei der Trabekulektomie lassen sich zwei Gruppen von Wachstumsfaktoren unterscheiden: die Gruppe der „großen“ und die der „kleinen“ Wachstumsfaktoren. Zu den „kleinen Wachstumsfaktoren“ gehören bFGF, IGF-1 und EGF. Sie können nach unserem heutigen Wissen nur in geringem Maße zur Wundheilung nach einer Trabekulektomie beitragen, spielen aber bei Wundheilungsreaktionen der Haut oder der Cornea eine deutlich größere Rolle<sup>(30)</sup>. Die Gruppe der „großen Wachstumsfaktoren“ wird von den beiden Familien TGF- $\beta$  und PDGF gebildet. Sie tragen den größten Teil der zwischenzellulären Kommunikation bei der Wundheilung.

#### **1.5.2.1. Quellen der Wachstumsfaktoren nach Trabekulektomie**

Durch Verbindung zwischen Augenoberfläche und Kammerwasser im Rahmen des Trabekulektomie-Eingriffs kommt es zum Zusammenbruch der Blut-Kammerwasser-Schranke. Zusätzlich setzt die Tränendrüse Wachstumsfaktoren frei. Damit wirken am Wundort der Trabekulektomie die Wachstumsfaktoren aus drei Kompartimenten in einer konzertierten Aktion. Jedes Kompartiment enthält dabei Wachstumsfaktoren in verschiedener Konzentration und Zusammensetzung (s. Tab 1.)

## Wachstumsfaktoren der drei okulären Kompartimente

Wachstumsfaktor	Konzentration im Tränenfilm	Konzentration im Serum	Konzentration im Kammerwasser
EGF	0,7 – 9,7 ng/ml	1 ng/ml	(ob EGF vorhanden ist, wird kontrovers diskutiert)
PDGF	1700 +/- 4330 ng/l (PDGF-BB)	13,3 +/- 4,5 ng/ml (im menschlichen Serum liegen vor allem PDGF-AA + -BB vor)	(Bisher in geringem Umfang bei Kataraktpatienten nachgewiesen)
TGFβ-1	0-23 ng/ml	2,4 +/- 0,6 pg/ml	4,9 +/- 5,5 pg/ml
TGFβ-2	55 pg/ml	368,5 +/- 108,1 pg/ml	335,4 +/- 80,8 pg/ml
bFGF	0 – 77,2 pg/ml	5,96 +/- 7,2 pg/ml	0,48-1,44 ng/ml
IGF-1	(IGF konnte im Tränenfilm bisher nicht nachgewiesen werden)	157 +/- 42,1 pg/ml	6,5 +/- 4,25 ng/ml

Tab. 1: Übersicht über die Konzentrationen an Wachstumsfaktoren in den einzelnen Kompartimenten. Im Tränenfilm konnten nicht bei allen Patienten Wachstumsfaktoren nachgewiesen werden (7,44,45, 46,55,58,69,98,106,107,108,109)

### 1.5.2.2. PDGF

PDGF kommt in mindestens drei Isoformen vor, die alle die Proliferation von Tenonfibroblasten steigern können<sup>(9,24)</sup>. Von diesen hat PDGF-BB den größten Effekt<sup>(57)</sup>. Die PDGF-Isoformen haben von allen Wachstumsfaktoren den stärksten Effekt auf die Proliferation von Tenonfibroblasten<sup>(26)</sup>. Ebenso kann PDGF die Migration von Fibroblasten<sup>(7,46)</sup> und ihre Fibronectinproduktion erhöhen<sup>(25,15)</sup>.

### 1.5.2.3. TGFβ

TGF-β 1 und 2 stimulieren die Expression von α-SMA in Tenonfibroblasten<sup>(72)</sup> und führen im Gelkontraktionsmodell zu einer gesteigerten Kontraktion<sup>(59)</sup>. Beide Isoformen erhöhen die Proliferationsrate von Tenonfibroblasten ab 0,1 ng/ml<sup>(21)</sup> und führen zu einer

vermehrten Produktion von Fibronectin. Im Transwell-Assay-System stimulieren TGF- $\beta$  1 und 2 die Migration von Tenonfibroblasten<sup>(59)</sup>.

### **1.5.3. Wachstumsfaktorrezeptoren**

#### **1.5.3.1. Tyrosinkinaserzeptoren**

Die Rezeptoren für EGF, bFGF, IGF-1 und PDGF gehören zur Familie der Tyrosinkinaserzeptoren<sup>(5,38,41,68,96)</sup>. Dabei bindet der jeweilige Wachstumsfaktor an ein Rezeptormonomer. Das Monomer mit dem gebundenen Liganden rekrutiert ein zweites Monomer. Im intrazellulären Abschnitt des so entstandenen zweiteiligen Rezeptors wird eine Tyrosinkinase aktiviert, die Phosphat bindet. An diesem Phosphotyrosinabschnitt des Rezeptors können Signalproteine phosphoryliert und damit aktiviert werden.

Bisher wurden dazu mehrere intrazelluläre Signalwege untersucht. Einer der Hauptwege benutzt die Phospholipase C $\gamma$  (PLC $\gamma$ ) als Signalprotein. Sie hydrolysiert Lipidphosphatidylinositol-(4,5)-bisphosphonat (PIP<sub>2</sub>), dabei entstehen Diacylglycerin (DAG), ein starker Aktivator der Proteinkinase C (PKC), und Inositoltrisphosphat (IP<sub>3</sub>). Inositoltrisphosphat bindet an spezifische Calciumkanäle am endoplasmatischen Retikulum und aktiviert sie, so dass Ca<sup>2+</sup> freigesetzt wird. Proteinkinase C und Ca<sup>2+</sup> translozieren in den Zellkern und beeinflussen direkt die Transkription der DNA<sup>(40,79,80)</sup> (s. Abb. 3).

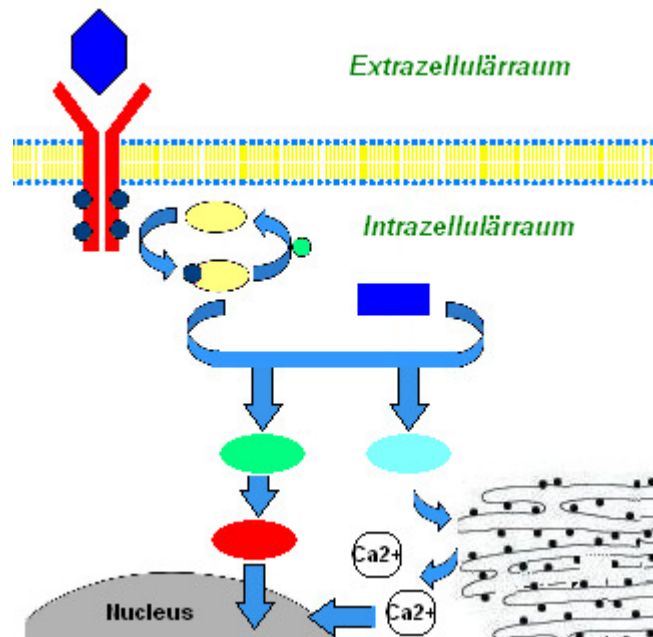


Abb.3: intrazellulärer Signalweg der Tyrosinkinase-Rezeptoren:

■ Wachstumsfaktor, Y Wachstumsfaktorrezeptor, ● Tyrosinkinase, ■ Phospholipase C,  
● Diacylglycerin, ● Inositoltrisphosphat, ● Proteinkinase C

### 1.5.3.2. TGF $\beta$ -Rezeptor

Die TGF $\beta$ -Rezeptoren gehören zur Familie der Serin-Threonin-Kinasen<sup>(9,96)</sup>. Der Ligand bindet an den Typ II-Rezeptor. Dieser rekrutiert einen Typ I-Rezeptor und phosphoryliert ihn. Zwei Proteine, SMAD 2 und SMAD 3, können an diesen Phosphatrest binden und werden so aktiviert. Sie bilden mit SMAD 4 einen Komplex, der in den Zellkern transloziert und dort ebenfalls direkt auf die Transkription der DNA wirken kann<sup>(72,96)</sup> (Abb.4).



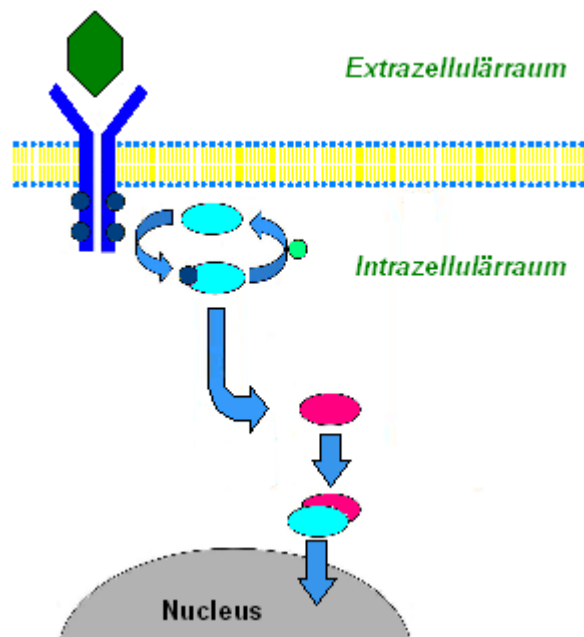


Abb.4: intrazellulärer Signalweg der Serin-Threonin-Kinasen:

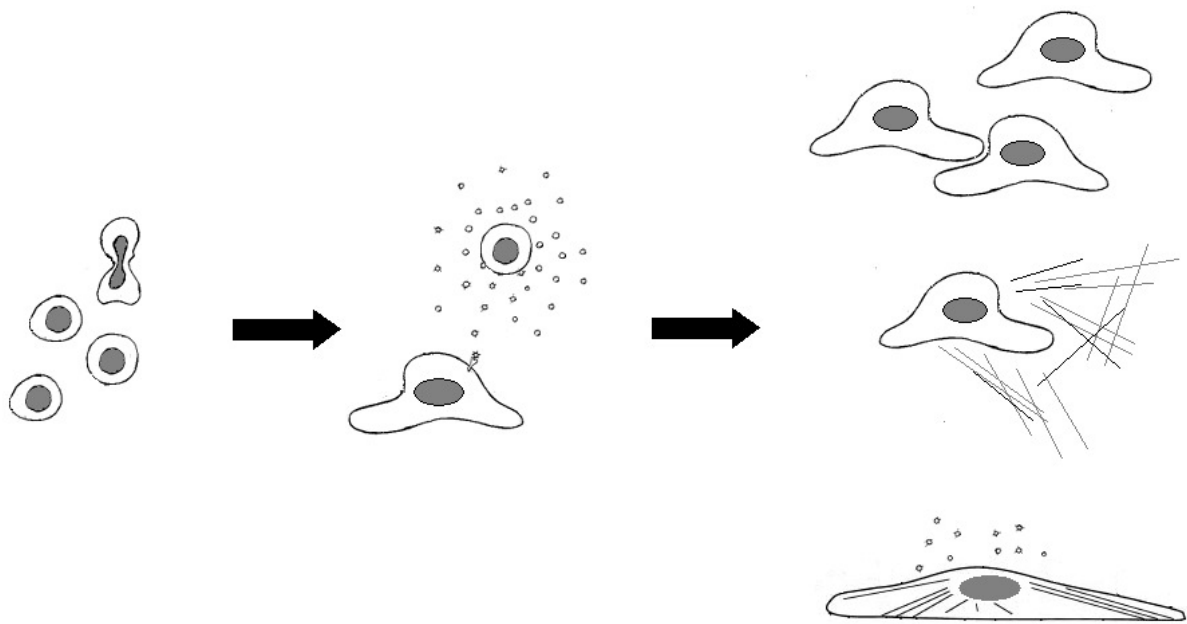
■ Wachstumsfaktor, Y Wachstumsfaktorrezeptor, ● SMAD 2/3, ● SMAD 4,  
● SMAD2/3/4

## 1.6. Vereinfachtes Modell der Wundheilung durch Tenonfibroblasten unter Berücksichtigung des integrativen Ansatzes zur Wundheilungsreaktion

Durch die Schädigung des Gewebes werden Wachstumsfaktoren aus Blutplättchen freigesetzt<sup>(93)</sup>. Gleichzeitig gelangen Wachstumsfaktoren des Kammerwassers und des Tränenfilms in die Wunde, so dass am Wundort eine hohe Wachstumsfaktorkonzentration entsteht. Monozyten wandern in die Wunde ein und wandeln sich in Makrophagen um, die selbst Wachstumsfaktoren freisetzen<sup>(15)</sup>. Diese Wachstumsfaktoren bilden einen Konzentrationsgradienten, durch den ruhende Tenonfibroblasten in der Wundperipherie aktiviert werden<sup>(52)</sup>. Die Tenonfibroblasten folgen durch Chemotaxis dem Konzentrationsgradienten der Wachstumsfaktoren und wandern in die Wunde ein<sup>(53)</sup>.

Sie proliferieren und beginnen mit der Produktion eines Gerüstwerkes aus Glykosaminoglykanen und Fibronectin, entlang dessen sie sich bewegen können. Durch die Aufspannung dieses Gerüstwerkes wird mechanischer Stress auf die Zellen ausgeübt, der zu verstärkter Bildung von intrazellulären Aktinstressfasern führt. Durch

die Konzentrierung von TGF $\beta$  in der Wunde wandeln sich diese Fibroblasten in Myofibroblasten um, die vermehrt Fibronektin und Kollagen produzieren. Der Wechsel des Phänotyps kann anhand einer Vermehrung zytoskelettaler Marker wie  $\alpha$ -SMA histologisch bewiesen werden<sup>(72)</sup> (s. Abb.5). Durch Kontraktionen der Myofibroblasten und Wanderung der Tenonfibroblasten durch die Wundmatrix zieht sich die Wunde zusammen<sup>(88, 52)</sup>.



*Abb. 5: vereinfachtes Phasenmodell der Wundheilung (integrativer Ansatz): durch die Wunde werden Monozyten rekrutiert (links). Die Monozyten wandeln sich am Wundort in Makrophagen um, die Wachstumsfaktoren sezernieren. Über diese werden ruhende Tenonfibroblasten aktiviert (Mitte), die in ihre Aktivitätsphase eintreten und spezifische Zellfunktionen ausführen können. Sie proliferieren (rechts oben), bilden die extrazelluläre Matrix der Wunde aus Fibronektin und Kollagen (rechts Mitte) oder wandeln sich in kontraktions- und sekretionsfähige Myofibroblasten um (rechts unten)*

## 1.7. medikamentöse Beeinflussung der Wundheilungsreaktion nach Trabekulektomie

### 1.7.1. Antifibrotika

#### 1.7.1.1. bisher verwendete Antifibrotika

Die bisher in der Klinik verwendeten Medikamente unterbrechen nicht nur die Vernarbungsreaktion, sondern auch die normale Wundheilung und den Zellumsatz<sup>(3,82)</sup>. Aktuell werden zwei Medikamente verwendet, die gleichwertig nebeneinander stehen: Mitomycin C (MMC) und 5-Fluouracil (5-FU), wobei 5-FU wegen seiner geringeren Toxizität bevorzugt verwendet wird<sup>(102)</sup>.

#### 1.7.1.2. 5-Fluouracil (5-FU)

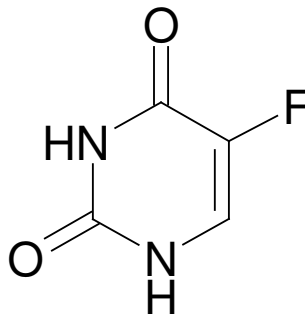


Abb.6: Strukturmodell von 5-Fluouracil

5-FU ist ein Pyrimidinanalogon<sup>(34)</sup> (s. Abb.6). Es hemmt die Wirkung der Thymidylatsynthetase<sup>(22)</sup>, so dass die DNA-Synthese der Tenonfibroblasten und aller anderen Zellen im Wundbereich gestört wird<sup>(37)</sup>.

5-FU wird auch in die RNA eingebaut, so dass abnorme Ribosomen produziert werden und abnorme Proteine entstehen<sup>(50)</sup>. Durch die unspezifische Hemmung von Zellen im gesamten Wundbereich treten zahlreiche Nebenwirkungen auf (s. Tab.2).

<b>Nebenwirkung</b>	<b>Häufigkeit</b>
Korneale Erosionen	25%
Filterkissenleck	5 - 10%
Filterkisseninfektion	4 – 9,5%

Tab.2: häufigste Nebenwirkungen einer Therapie mit 5-FU (34,47,81,112)

Ebenso kann 5-FU direkte toxische intraokulare Effekte auf das Epithel des Ziliarkörpers haben. Dies kann zu einer Hypotonie führen. Darüber hinaus gibt es noch zahlreiche weitere, jedoch in der Häufigkeit viel seltenere Nebenwirkungen<sup>(112)</sup>. Treten diese auf, muss die Therapie mit 5-FU unterbrochen werden, was zu einem Fortschreiten der Vernarbungsreaktion führen kann.

Neben 5-FU und Mitomycin C wurden bisher zahlreiche Medikamente untersucht, um die Wundheilung nach Trabekulektomie zu beeinflussen (s. Tab.3). Diese Medikamente wirken in der Regel nur an einem Punkt der Wundheilungskaskade. Die Ergebnisse mit einer Vielzahl von Substanzen zeigen bisher entweder eine zu geringe oder zu kurzfristige Wirksamkeit. Substanzen, die direkt den Tenonfibroblasten inhibieren, wirken in der Regel nicht-selektiv auch auf andere Zellen<sup>(63,74)</sup>.

<b>Medikamente</b>	<b>Wirkungsmechanismus</b>
Angiostatin	Inhibition der Endothelzellproliferation
Daunorubicin	Interkalierung in die DNA
Interferone, Fibrostatin C	Inhibition der Kollagensynthese
D-Penicillamin	Unterbindung des Cross-linking der Kollagenreifung
Cyclosporin	Inhibierung der T-Zellproliferation durch Inhibierung von IL-2

Tab.3: Auswahl bisher untersuchter Medikamente zur Beeinflussung der Wundheilung nach Trabekulektomie (3,47,54)

### 1.7.2. Bisherige Untersuchungen mit Wachstumsfaktorinhibitoren:

Das Konzept der Wachstumsfaktorhemmung ist kein neues Konzept in der Medizin. Es wurde bisher vor allem in der Onkologie eingesetzt, so z.B. zur Brustkrebsbehandlung<sup>(63)</sup>. Nachteil der bisher untersuchten Wachstumsfaktorinhibitoren ist vor allem die Konzentration auf nur einen Wachstumsfaktor, der gehemmt werden soll. In der Vergangenheit konzentrierten sich deshalb die meisten Untersuchungen auf die TGF $\beta$ -Familie. Wurden andere Wachstumsfaktorinhibitoren verwendet, so blockierten sie in der Regel nur eine geringe Anzahl von Wachstumsfaktoren, jedoch nie beide „großen Wachstumsfaktorfamilien“ gleichzeitig (s. Tab.4). Durch die unphysiologischen Konzentrationsverhältnisse nach Zusammenbruch der Tränenfilm-Blut-Kammerwasser-Schranke müssen wir jedoch davon ausgehen, dass auch die „kleinen Faktoren“ nach Ausschaltung der „großen“ eine stärkere Wirkung auf die Wundheilungsreaktion nach Trabekulektomie haben, als wir physiologischerweise erwarten würden.

Wachstumsfaktorinhibitor	Gehemmte Faktoren
CAT 152 (Lerdelimumab=Travio®)	TGF $\beta$ -2
Tranilast	Freisetzung von Wachstumsfaktoren (u.a. TGF $\beta$ -2)
Rapamycin	bFGF, PDGF
Decorin	TGF $\beta$ -2

Tab.4: bisher untersuchte Wachstumsfaktorinhibitoren (54,70,74, 97)

### 1.7.3. Verwendete Pharmaka

Das Ziel antifibrotischer Therapie besteht darin, die Aktivität von Fibroblasten in der Wunde innerhalb der ersten Wochen nach der Operation zu reduzieren. Eine Verwendung potentiell toxischer Medikamente führt zu einer Verringerung der Zellzahl und kann eine suffiziente Wundheilung verhindern.

Die Medikamentenauswahl für die vorliegenden Versuche orientierte sich daran, ob mehrere Wachstumsfaktoren –bevorzugt der „großen Wachstumsfaktorfamilien“- gehemmt werden, die am Auge eine Bedeutung haben. Ziel ist es, Medikamente zu verwenden, die die verschiedenen Schritte der Wundheilung nach Trabekulektomie modulieren, ohne toxisch zu sein und die über ihre eigentliche Applikationszeit hinaus wirken können.

### 1.7.3.1. Genistein (4',5,7-Trihydroxyisoflavon)

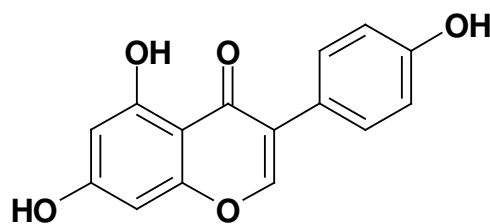


Abb. 7: Strukturmodell von Genistein

Genistein gehört zur Gruppe der Isoflavone<sup>(23)</sup> und ist ein Phytoöstrogen, das in der Natur auch in der Sojabohne vorkommt<sup>(60)</sup> (s.Abb.7). Es handelt sich um einen Tyrosinkinaseinhibitor<sup>(41)</sup>, der an die ATP-Bindungsstelle der Tyrosinkinase des Wachstumsfaktorrezeptors bindet<sup>(4,84)</sup>.

Genistein blockiert die Wirkung von bFGF in Korneaendothelzellen<sup>(38)</sup> und kann EGF<sup>(1)</sup> und TGF- $\beta$ 2<sup>(6)</sup> inhibieren. Ebenso hemmt es in Mausfibroblasten die PDGF-BB – Aktivität<sup>(85)</sup> sowie die PDGF-AB und –AA-Aktivität in kardialen Myozyten<sup>(101)</sup>. Zusätzlich kann es den Calciumeinstrom in bovine Aortenendothelzellen , der durch IGF-1 ausgelöst wird, hemmen<sup>(80)</sup>.

### 1.7.3.2. Suramin (hexasulfonierter Naphthylurea-Bestandteil)

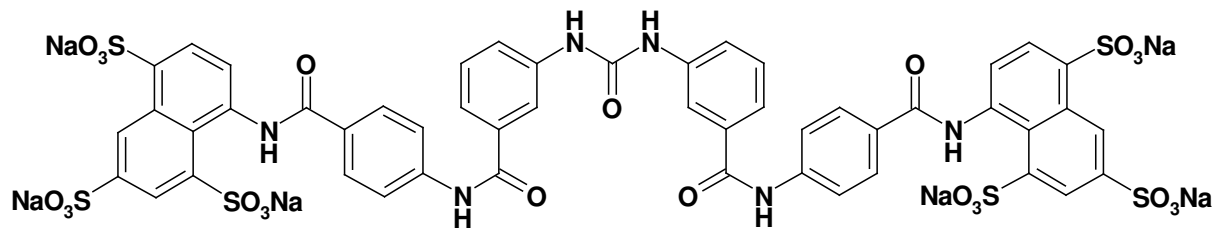


Abb. 8: Strukturmodell von Suramin

Suramin ist ein polysulfonierter Naphthylharnstoff<sup>(12)</sup>. Es hemmt die ProteinkinaseC<sup>(32)</sup> und die Tyrosinphosphatase<sup>(95)</sup>, die das an Tyrosin gebundene Phosphat des Wachstumsfaktorrezeptors wieder ablösen kann.

Suramin stellt den Prototypen eines Wachstumsfaktorantagonisten dar. Am besten untersucht ist seine Wirkung auf bFGF und seinen Rezeptor<sup>(68)</sup>. Durch Chromatographie konnte festgestellt werden, dass Suramin direkt an den FGF-Rezeptor binden kann um so sterisch die Interaktion zwischen FGF und seinem Rezeptor zu blockieren<sup>(48)</sup>. Darüber hinaus kann es den bereits an den Rezeptor gebundenen Wachstumsfaktor wieder dissoziieren<sup>(18)</sup> und freies bFGF komplexieren und damit inaktivieren<sup>(91)</sup>.

Suramin wurde ursprünglich zur Behandlung der Tropenkrankheiten Trypanosomiasis und Onchocerciasis verwendet<sup>(73)</sup>. In vivo wirkt es als Antitumorfaktor, indem es Wachstumsfaktoren des Tumors blockiert<sup>(103)</sup>.

Suramin inhibiert im Fibroblastenmodell EGF und IGF-1<sup>(74,12,32)</sup>. Im Mausmodell hemmt es PDGF-AA und -BB sowie TGF $\beta$ -1 und -2<sup>(14,111)</sup>.

Suramin wurde bereits in Studien zur Behandlung der Trabekulektomie eingesetzt. Im Kaninchenmodell gab es bei der histopathologischen Untersuchung zwischen Suramin und MMC keinen signifikanten Unterschied. In der Histologie der untersuchten Filterkissen zeigte sich bei Suraminbehandlung eine verringerte Fibrosierung im Vergleich zur Kontrollgruppe<sup>(2)</sup>. In einer klinischen Studie mit insgesamt 30 Patienten hatte Suramin eine ähnliche Erfolgsrate wie Mitomycin C<sup>(76)</sup>.

### **1.8. Fetales Kälberserum als Modell eines Wachstumsfaktorgemischs**

Fetales Kälberserum (FCS) ist in der Lage, die Zellproliferation, Migration oder Differenzierung von Zellpopulationen zu steigern<sup>(78)</sup>. Es stellt eine komplexe Mischung aus Aminosäuren, Vitaminen, Hormonen, Lipiden und Zytokinen dar<sup>(24)</sup>.

In seiner proliferationsfördernden Aktivität verhält sich 10%iges Kälberserum ähnlich wie menschliches Serum<sup>(7)</sup>. Es wirkt stärker proliferationsanregend auf Zellen des trabekulären Maschenwerks als Kammerwasser<sup>(31)</sup>, steigert aber die Proteinproduktion ähnlich stark. Dabei bildet FCS qualitativ die gleichen Proteine wie Kammerwasser<sup>(66)</sup>.

Im fetalen Kälberserum sind zahlreiche Wachstumsfaktoren enthalten, deren Konzentrationen so hoch sind, dass sie auch noch in 10%iger Verdünnung ihre Aktivität bewahren<sup>(5,7)</sup>. Bisher konnten PDGF in einer Konzentration von 1,05 +/- 0,4 ng/ml bei überwiegender PDGF-BB-Aktivität<sup>(7)</sup> sowie TGF $\beta$  sicher nachgewiesen werden<sup>(16)</sup>. Daneben kommen noch IGF- 1<sup>(42)</sup> sowie Betacellulin, ein EGF-Analogon<sup>(5)</sup>, vor. Diese Wachstumsfaktoren sind teilweise identisch mit menschlichen Wachstumsfaktoren<sup>(42)</sup>. Auch Wachstumsfaktoren in FCS, die den menschlichen nur ähnlich sind, können an Wachstumsfaktorrezeptoren auf menschlichen Zellen binden und diese aktivieren<sup>(92)</sup>.

Medium, das mit 10%FCS supplementiert wurde, stellt damit eine gute Möglichkeit dar, Aktivitäten von Wachstumsfaktoren in der Zellkultur von humanen Tenofibroblasten zu untersuchen unter der Berücksichtigung, dass neben den eigentlichen Wachstumsfaktoren auch andere Serumbestandteile in der Lage sind, die Aktivität von Zellkulturen zu beeinflussen.

## **Kapitel 2. Ziel der experimentellen Arbeit**

Die Trabekulektomie ist eine Referenzmethode zur Behandlung des Glaukoms. Trotz kurzfristig effektiver Drucksenkung sind langfristig nur 61% der durchgeführten