

1. Einleitung

1.1. Nachstar

Linseneithelzellen spielen eine zentrale Rolle bei der Entstehung eines Nachstars (cataracta secundaria, posterior capsule opacification (e.)) nach Kataraktoperationen. Hierbei kommt es zu einer Proliferation der Linseneithelzellen aus zurückgebliebenem Linsenmaterial im Bereich der posterioren Linsenkapsel (regeneratorischer Nachstar). Die Linseneithelzellen proliferieren und bilden eine Schicht zwischen der eingesetzten IOL und der hinteren Kapsel. Diese Schicht kann zu einer Sehverschlechterung auf dem betroffenen Auge führen, wenn die proliferierten Zellen sich in der optischen Achse befinden und damit direkt die Qualität des auf die Netzhaut projizierten Bildes durch optische Interferenz stören. Die Linsenkapsel kann auch durch eine Fibrose getrübt sein (fibrotischer Nachstar); hierbei spielt die Proliferation der Linseneithelzellen keine Rolle [1]. Die Entwicklung eines Nachstars ist häufiger in Augen mit anderen ophthalmologischen Problemen, wie Glaukom, Uveitis, Pseudoexfoliationssyndrom, Retinitis pigmentosa oder hoher Myopie [2]. Als Kataraktoperation wird weitaus am häufigsten die extrakapsuläre Kataraktextraktion als Technik angewendet. Hierbei liegt die Inzidenzrate der Nachstarentwicklung unter 10% [3]. Nach einer Kataraktoperation am kindlichen Auge, bei der die hintere Kapsel intakt gelassen oder nur eine sehr kleine Öffnung in die hintere Linsenkapsel gemacht wurde, entsteht ein Nachstar innerhalb weniger Wochen bis Monate. Die hintere Kapsel bestehen zu lassen ist vorteilhaft, da diese eine weiterhin bestehende Barriere zwischen der Vorderkammer und dem Glaskörper bildet. Diese Barriere verhindert, dass der Glaskörper nach vorne in die Vorderkammer prolabiert. Ein Nachteil jedoch besteht in der Notwendigkeit einer Zweitoperation, um eine Trübung der hinteren Kapsel zu beseitigen. Diese Notwendigkeit wird durch eine Entfernung der hinteren Kapsel mit einer vorderen Vitrektomie von 75% auf 11% reduziert [4]. Die Möglichkeit, durch eine Nd:YAG-Kapsulotomie den Nachstar zu entfernen, ist meistens nicht gegeben oder nicht sinnvoll. Problematisch ist neben der Compliance, dass die Proliferationsrate der

kindlichen Linsenepithelzellen höher und die Nachstarschicht möglicherweise zu dick ist [5].

1.2. Behandlung des Nachstars

Die Behandlung der Wahl einer durch einen Nachstar bedingten Sehverschlechterung sind eine Laserbehandlung, die sog. Nd:YAG-Kapsulotomie oder eine chirurgische Absaugung der neu gebildeten Nachstarschicht.

1.2.1. Die Nd:YAG-Kapsulotomie

Bei der Nd:YAG-Kapsulotomie werden die YAG-Laserstrahlen mit einer Wellenlänge von 1064 nm mit hoher Intensität (einige Millionen Watt) für einige Nanosekunden gebündelt auf die hintere Linsenkapsel gezielt. Die Energie wird von Molekülen in das Zielgewebe aufgenommen und Elektronen werden abgestoßen. Die dann entstandene Ansammlung von Ionen und freien Elektronen (Plasma) expandiert rasch, und es entsteht eine akustische und mechanische Schockwelle im Zielgewebe, welches mechanisch aufgerissen wird. Im Zielpunkt des Lasers, in dem das Plasma entsteht, entwickelt sich eine intensive Hitze, welche aber schnell verschwindet, da der Punkt sehr klein ist. Diese Photodisruption ist unabhängig von der Gewebepigmentierung oder der Laserabsorption. Nichtpigmentiertes Gewebe kann also auf diese Art und Weise ohne konventionelle, intraokulare Chirurgie inzidiert werden [5, 6]. Es entsteht entweder zentral in der optischen Achse eine Öffnung in der hinteren Kapsel, oder es wird ein kreisförmiger Flap aus der hinteren Kapsel gewissermaßen ausgeschnitten. Es ist nicht immer möglich, mittels einer Nd:YAG-Kapsulotomie den Nachstar zu beseitigen. Ist die entstandene Nachstarschicht sehr dick, so müsste zuviel Energie bei der Nd:YAG-Kapsulotomie eingesetzt werden, um den gewünschten Effekt auf den Nachstar zu erzielen. Bei Kindern spielt die Kooperation eine große Rolle, aber auch bei bestehendem Nystagmus kann eine Nd:YAG-Kapsulotomie schwierig sein und eine Narkose notwendig werden.

Nach einer Nd:YAG-Kapsulotomie kann der intraokulare Druck ansteigen. Meist handelt es sich dabei um eine vorübergehende Drucksteigerung, in ca. 1% kann der erhöhte IOD persistieren [5, 7, 8].

Ein Risiko des Verfahrens ist die Ablatio retinae, welches sich bei der Anwendung größerer Energiedosen bis 3,6% erhöht [9-13]. Bei hoch myopen Patienten mit einer Achsenlänge von ca. ≥ 25 -26 mm oder einer Refraktion von ca. > -8 Dpt., ist dieses Risiko derart erhöht, dass eher eine operative Absaugung des Nachstars in Frage kommt, unabhängig davon, wie stark dieser ausgeprägt ist [14]. Andere mögliche Kontraindikationen sind sehr enge Pupillen, Pupillen, welche nicht optimal weit gestellt werden können aufgrund von Synechien zwischen der Iris und der vorderen Linsenkapsel, Hornhauttrübungen, ein erhöhter intraokularer Druck, periphere retinale Defekte, große retinale Kolobome oder ein Kolobom des Sehnervs [5].

1.2.2. Die chirurgische Nachstarabsaugung

Die Operation kann in Lokalanästhesie (retro- oder peribulbäre Injektionen bzw. eine Oberflächenanästhesie mit Gel) oder in ITN durchgeführt werden. Nach der Hautdesinfektion wird ein Lidsperrer eingesetzt. Bei 12 und 2 Uhr werden limbale Parazentesen gesetzt und eine viskoelastische Substanz in die Vorderkammer über und unter die IOL injiziert. Hiernach wird die Kanüle von einem bimanuellen Saug/Spül-System durch die Vorderkammer unter die IOL geführt und der locker adhärente Nachstar bis in die Peripherie abgesaugt. Nach Absaugen der viskoelastischen Substanz aus der Vorderkammer werden die Parazentesen hydriert und auf ihre Dichtigkeit geprüft.

Nachteile dieser chirurgischen Entfernung sind vor allem die Möglichkeit eines Rezidivs, die Gefahr einer Ablatio retinae, einer Infektion, einer Blutung und die allgemeinen Risiken einer Vollnarkose. Bei einer in Peribulbäranästhesie oder vor allem in Retrobulbäranästhesie durchgeführten Operation ist wiederum ein Nachteil, dass bei Patienten mit einer (glaukomatösen) Optikusatrophie durch die toxische Wirkung der Lokalanästhetika (z. B. Naropin[®] und Xylonest[®]) auf den N. opticus ein höheres Risiko einer Sehverschlechterung besteht [15-17]. Die Gefahr einer Bulbusperforation bei der retro- und peribulbären Injektion besteht auch, ist jedoch bei der retrobulbären Injektion mit 0,075% [18] und 0,024% bei der peribulbären Injektion gering [19]. Bei einer

bestehenden Myopie ist diese Gefahr abhängig von der Bulbuslänge zusätzlich erhöht [20, 21].

1.3. Faktoren, die die Nachstarentwicklung beeinflussen

1.3.1. Intraokularlinse

Der genaue Mechanismus und die Steuerung der postoperativen Nachstarbildung ist ein im Detail noch unbekanntes multifaktorielles Geschehen. Verschiedene Faktoren spielen hier eine Rolle [22, 23]. In klinischen Studien und in in vitro-Experimenten wurde bereits gezeigt, dass das Material der IOL einen Einfluss auf die Entstehung des Nachstars hat [24]. Nach dem Einsetzen einer hydrophoben Akryl-IOL entwickelt sich erst nach einem signifikant längeren Zeitraum ein proliferativer Nachstar als bei einer PMMA-IOL in vivo [25, 26] und in vitro [27], obwohl PMMA auch eine hemmende Wirkung auf die Proliferation von Linsenepithelzellen hat [28]. Außerdem spielt die Form der IOL eine Rolle: hat die IOL eine scharfe Kante, so entsteht weniger häufig ein Nachstar [26, 29]. Werden die Haptiken der eingesetzten IOL so konstruiert, dass die verbleibenden Linsenepithelzellen hinter diesen Haptiken im kapsulären Äquator bleiben, ist die Entstehung eines Nachstars geringer [30].

1.3.2. Ophthalmika

Weitgehend ungeklärt ist der Einfluss von langfristig topisch applizierten Ophthalmika auf die Nachstarbildung. Zu dieser Gruppe zählen auch antiglaukomatöse Medikamente. Diese lokal angewendeten Medikamente penetrieren in unterschiedlichen Konzentrationen die Hornhaut und haben ihren Effekt intraokular. Abhängig vom Medikament und der intraokularen Zielkonzentration kann ein 'Carrier' als Transportmolekül eingesetzt werden, um eine größere Konzentration des Medikamentenwirkstoffes durch die Hornhaut in die Vorderkammer transportieren zu können [31]. So spielen medikamentöse Einflüsse sicher auch eine Rolle in der Entwicklung eines Nachstars. Beispielsweise konnte in vitro eine hemmende Wirkung

von Suramin auf die Proliferation von Linsenepithelzellen nachgewiesen werden [32]. Intraoperative Instillationen von Diclophenac zeigten eine Tendenz zur Hemmung der Nachstarbildung [33]. Bei Phakoemulsifikationen an Kaninchenaugen zeigte sich nach der Gabe von MMC und Retinoidsäure eine signifikant geringere Aktivität der Linsenepithelzellproliferation im Vergleich zu einer Kontrollgruppe [34]. RGD-Peptide hemmen kompetitiv die Adhäsionsmoleküle von Linsenepithelzellen [35]. In einer in vitro Studie konnte eine signifikante Hemmung der Nachstarbildung nach intrakapsulärer Gabe von zyklischen RGD-Peptiden nachgewiesen werden [36]. Nach der Gabe von MMC, Diclophenac, EDTA, EDTA kombiniert mit RGD-Peptiden und Dexamethason in die Linsenkapsel von Kaninchenaugen war bei fast allen Testsubstanzen eine hemmende Wirkung der Nachstarbildung im Vergleich zu einer unbehandelten Kontrollgruppe zu erkennen, wobei nur Dexamethason keine signifikant hemmende Wirkung zeigte [37].

1.4. Myopie

Die Myopie (Kurzsichtigkeit) ist definiert als ein Ungleichgewicht zwischen der Bulbuslänge und der Refraktion (Breckkraft). Bei der Myopie ist das Auge verhältnismäßig zu lang (Achsenmyopie), oder die Refraktion ist zu stark (Keratokonus, Katarakt, Linsen(sub)luxation, Lentikonus). Die Refraktion des myopen Auges sorgt für eine scharfe Abbildung des Bildes vor der Netzhaut (im Glaskörper) und kann meist durch ein Vorsetzen von divergierenden Brillengläsern (konkave, negative Linse, Zerstreuungsglas) korrigiert werden [5].

1.5. Glaukom

Bei einem Glaukom (grüner Star) besteht eine Sehnervschädigung mit entsprechenden Gesichtsfeldausfällen, häufig verursacht durch einen erhöhten intraokularen Druck. Ist der IOD erhöht, wird die Perfusion des Sehnervs geringer und bei Anhalten dieser Situation, kann es zu einem zunehmenden Funktionsverlust von Axonen des Sehnervs kommen, welche entsprechende Gesichtsfeldausfälle verursacht. Ohne eine

Behandlung kann ein Glaukom so zur vollständigen Erblindung führen. Die Ursache für die erhöhten IOD-Werte ist unterschiedlich. Es besteht ein Missverhältnis zwischen der Produktion von Kammerwasser durch den Ziliarkörper und dem Abfluss über das Trabekelwerk im Kammerwinkel. Die Behandlung des Glaukoms ist in erster Linie medikamentös. Ziel hierbei ist, entweder die Kammerwasserproduktion zu hemmen oder den Abfluss des Kammerwassers über das Trabekelwerk zu verbessern. In einem weiteren Schritt kann operativ interveniert werden [5].

Vor allem bei Glaukompatienten mit einer hohen Myopie (≥ 8 Dpt.) ist von Bedeutung, ob eine dauerhafte lokale Applikation von Antiglaukomatosa einen Einfluss auf die Entwicklung eines Nachstars hat. Patienten mit einer hohen Myopie haben u. a. ein erhöhtes Glaukomrisiko [38-40] und tropfen deshalb häufig und dauerhaft Augentropfen zur Senkung des Augeninnendruckes. Gerade diese Gruppe von Patienten würde von Antiglaukomatosa, welche die Entwicklung eines Nachstars hemmen, profitieren.

1.6. Prostaglandin F2-alpha und Dorzolamid

In dieser Arbeit wird das in vitro Proliferationsverhalten von bovinen und humanen Linseneithelzellen unter dem Einfluss von Prostaglandin F2-alpha und Dorzolamid im Vergleich zur Proliferation von Linseneithelzellen, welche nicht mit diesen Substanzen behandelt wurden, untersucht. $\text{PGF}_{2\alpha}$ ist ein Prostaglandinrezeptor-Agonist wie Latanoprost, dem Wirkstoff in Xalatan[®] Augentropfen (Pharmacia & Upjohn Company, Kalamazoo, Michigan, USA). Dorzolamid ist der Wirkstoff in Trusopt[®] Augentropfen (Chibret Pharmazeutische GmbH, Haar, Deutschland und MSD Sharp & Dohme GmbH, Haar, Deutschland). Diese beiden Medikamente sind häufig angewandte Präparate in der modernen Glaukomtherapie [41-43]. Bis heute ist unbekannt, in welchem Maße diese Medikamente einen Einfluss auf die Entwicklung eines Nachstars haben.

1.6.1. Prostaglandine

Prostaglandine gehören zu den endogenen Fettsäurederivaten, welche von Membranphospholipiden nahezu aller Zelltypen gebildet werden. Zusammen mit den Thromboxanen und Leukotrienen werden sie auch als Eicosanoide bezeichnet und

haben vielfältige biologische Funktionen. Die Grundstruktur aller Prostaglandine ist die aus 20 Kohlenstoffatomen bestehende Carboxylsäure mit einem Cyclopentanring als Strukturkomponente. Die sechs klassischen Prostaglandine unterscheiden sich durch eine substituierte Gruppe an diesem Cyclopentanring und werden als Prostaglandin A, B, C, D, E und F bezeichnet. Je nach Anzahl der Doppelbindungen in den Seitenketten unterscheidet man einfach, zweifach oder dreifach ungesättigte Prostaglandine. Arachidonsäure ist die wichtigste Prostaglandinquelle im Körper und gehört zu den mehrfach ungesättigten, essentiellen Fettsäuren. Arachidonsäure enthält 20 Kohlenstoffatome und ist die Vorstufe von zweifach ungesättigten Prostaglandinen. Sie wird durch eine Esterverbindung in die Phospholipide der Zellmembranen eingebaut. Arachidonsäure ist auch in anderen komplexen Lipiden enthalten, wie z. B. Triglyceriden. Durch hormonelle, chemische, nervale oder mechanische Stimuli wird Phospholipase A₂ aktiviert, welches zur Freisetzung von Arachidonsäure aus den Phospholipiden der Zellmembranen führt. Arachidonsäure wird danach über zwei verschiedene enzymatische Wege oxidativ katabolisiert und durch Cyclooxygenase oder Lipoxygenase katalysiert. PGF_{2α} entsteht auf dem Cyclooxygenase-abhängigen Weg. Endprodukte sind hier verschiedene Prostaglandine (PGE₂, PGF_{2α}, PGD₂), Thromboxane und Prostacyclin (PGI₂) [44].

Die Wirkungen von Prostaglandinen sind vielfältig. So beeinflussen Prostaglandine die kontraktile Aktivität der glatten Muskulatur verschiedener Organsysteme und haben hier verschiedene Wirkungen. Bei asthmatischen Menschen kann PGF_{2α} starke Bronchospasmen induzieren, während PGE₁ und PGE₂ potente Bronchodilatoren sind. PGF_{2α} steigert dosisabhängig die gastrointestinale Motilität durch eine direkte Stimulation der glatten Muskulatur des Kolons, durch eine Hemmung der sympathischen Nervenendigungen, welche die Peristaltik kontrollieren und durch die Verminderung der Natriumabsorption aus dem Darm. PGF_{2α} ist auch ein luteolytisches Hormon und hat eine hemmende Wirkung auf die Progesteronsynthese in den Lutealzellen, was zu einer Degeneration des Corpus luteum führen kann [45]. PGF_{2α} stimuliert die Kontraktion der Uterusmuskulatur; ein Effekt, der auch klinisch genutzt wird. Insgesamt sind Prostaglandine eine außerordentlich vielfältige Gruppe von Gewebshormonen und können von sehr vielen Zellen synthetisiert werden, da Cyclooxygenase ein multipel vorkommendes Enzym ist. Die Verteilung von Prostaglandinrezeptoren dagegen ist sehr differenziert [46].

Für $\text{PGF}_{2\alpha}$ konnte in vitro ein proliferationsstimulierender Effekt auf bovine Hornhautendothelzellen nachgewiesen werden [47].

Der Abbau der Prostaglandine erfolgt in der Lunge, Leber und Niere, aber auch in allen anderen Geweben. Die Elimination der Prostaglandine und ihrer Metaboliten erfolgt überwiegend über die Niere im Urin [48].

Da Latanoprost, der Wirkstoff in Xalatan[®] Augentropfen, als Rohstoff nicht kommerziell erhältlich ist, wurde für diese Studie $\text{PGF}_{2\alpha}$ verwendet. Latanoprost ist ein $\text{PGF}_{2\alpha}$ -Analogon und ein hochselektiver prostanoider Agonist für $\text{PGF}_{2\alpha}$ -Rezeptoren. $\text{PGF}_{2\alpha}$ hat deswegen ein vergleichbares Wirkungsspektrum wie Latanoprost und ist kommerziell erhältlich [48]. $\text{PGF}_{2\alpha}$ -Analoga senken den Augeninnendruck durch Steigerung des Kammerwasserabflusses. Der Wirkmechanismus ist ein erhöhter uveoskleraler Abfluss und ein verminderter trabekulärer Abflusswiderstand [41, 43, 47, 49-52].

1.6.2. Carboanhydrasehemmer

Carboanhydrase (Carbonhydrolyase) ist ein Enzym, welches die Gleichgewichtsreaktion $\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O} \leftrightarrow \text{HCO}_3^- + \text{H}^+$ katalysiert. Hierbei reagiert Kohlenstoffdioxid mit Wasser zu Hydrogencarbonat (Bicarbonat) und Wasserstoff. CA ist eines der schnellsten Enzyme: sie kann jeweils bis zu 10^6 Moleküle Kohlenstoffdioxid pro Sekunde hydratisieren und beschleunigt die Reaktion damit um das 10^7 -fache. Sie ist intrazellulär und ubiquitär vorhanden, d. h. sie findet sich in allen bekannten Organismen. Man versteht unter CA nicht nur ein einziges Enzym, sondern eine Klasse von Isoenzymen mit unterschiedlichem Aufbau ihres Proteins. Im menschlichen Organismus existieren mindestens 16 verschiedene alpha-CA Isoenzyme. Einige dieser Isoformen befinden sich im Zytosol (CA I, CA II, CA III, CA VII, CA XIII), sind membrangebunden (CA IV, CA IX, CA XII, CA XIV und CA XV) oder mitochondrial (CA Va und CA Vb). CA VI wird in der Milch und im Speichel sezerniert. Es gibt drei akatalytische Formen (CARP VIII, CARP X und CARP XI). CA besteht aus einem Protein und enthält als Cofaktor ein Zinkion (Zn^{2+}), welches die eigentliche katalytische Aktivität des Enzyms bedingt. Das aktive Zentrum besteht aus dem Zinkion, welches an drei Imidazolreste gebunden ist, die je von einer im Protein enthaltenen Aminosäure Histidin stammen. Die vierte Koordinationsstelle ist von einem Hydroxid-Liganden besetzt.

Die CA nimmt im menschlichen Körper an verschiedenen Stoffwechselprozessen teil, wie z. B. dem CO₂-Transport im Blut, der Bildung von Magensäure sowie der Resorption von Wasser aus dem Primärharn. Im Ziliarkörper des Auges ist die CA an der Produktion des Kammerwassers beteiligt [43, 53-55].

Eine Hemmung der CA kann eine übermäßige Produktion (relativ im Vergleich zum Abtransport aus dem Auge) des Kammerwassers reduzieren und so helfen, einen überhöhten Augeninnendruck zu reduzieren. Carboanhydrasehemmer sind z. B. Sulfonamide, zu denen Acetazolamid und Dorzolamid gehören. Diese Inhibitormoleküle binden an das aktive Zentrum des Enzyms und verlangsamen so die Enzymaktivität, was die Produktion von Kammerwasser hemmt und somit zu einer Absenkung des Augeninnendrucks führt [43, 56]. Carboanhydrasehemmer haben keinen Einfluss auf die Kontraktilität des Trabekelwerks und somit auch keinen Einfluss auf den Abfluss des Kammerwassers [57].

In einer anderen Arbeit wurde eine proliferationshemmende Wirkung von Dorzolamid auf humane Hornhautepithelzellen *in vitro* nachgewiesen [58].

Zur Verfügung gestellt wurde der Rohstoff Dorzolamid-Hydrochlorid für diese vorliegende Studie freundlicherweise von Chibret, Pharmazeutische GmbH, einem Tochterunternehmen von MSD Sharp & Dohme in den USA.