

Aus der Augenklinik und Poliklinik
Klinik der Ludwig-Maximilians-Universität München
Direktor: Prof. Dr. med. S. Priglinger

**Einfluss von Prostaglandin F2 α Analoga auf die Biomechanik der Cornea und
die Transkription und Expression von Molekülen der extrazellulären Matrix**

Dissertation

zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin
an der Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Alexandra Katharina Marianne Bürger

aus München

2019

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Prof. (Univ. Oxford) Dr. med. Marcus Kernt

Mitberichterstatter: Prof. Dr. Daniel Kook
Prof. Dr. Chris P. Lohmann

Mitbetreuung durch den
promovierten Mitarbeiter: Dr. med. Raffael Liegl

Dekan: Prof. Dr. med. dent. Reinhard HICKEL

Tag der mündlichen Prüfung: 05.12.2019

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung.....	1
1.1	Glaukom.....	1
1.1.1	Definition.....	1
1.1.2	Epidemiologie und sozioökonomische Bedeutung.....	1
1.1.3	Einteilung.....	3
1.1.4	Pathophysiologie.....	5
1.1.5	Messung des intraokularen Drucks.....	8
1.1.6	Medikamentöse Therapie.....	10
1.2	Okuläre Biomechanik.....	12
1.2.1	Aufbau von Cornea und Sklera.....	12
1.2.2	Einfluss der Cornea auf die Druckmessung.....	14
1.2.3	Biomechanische Eigenschaften.....	14
1.2.4	Messung der biomechanischen Eigenschaften.....	15
1.2.5	Beeinflussung der okulären Biomechanik durch Matrixmetalloproteinasen.....	17
1.3	Veränderungen und Beeinflussung der okulären Biomechanik bei Glaukom.....	18
2	Zielsetzung.....	19
3	Material und Methoden.....	19
3.1	Ethik.....	19
3.2	Humane Spenderhornhäute (HDC).....	20
3.3	Glaukommodell, ORA, Biomechanik.....	20
3.4	Immunhistochemie.....	23
3.5	Fotodokumentation.....	25
3.6	RNA-Isolation und Realtime-PCR (RT-PCR).....	26
3.7	Statistische Auswertung.....	27
4	Ergebnisse.....	27
4.1	Ultraschall-Pachymetrie.....	27
4.2	ORA-Messungen.....	28
4.3	Immunhistochemie.....	33
4.4	RT-PCR.....	34
5	Diskussion.....	36
6	Zusammenfassung.....	45
7	Abkürzungsverzeichnis.....	47
8	Literaturverzeichnis.....	48
9	Abbildungsnachweis.....	58
10	Anhang.....	60
10.1	Veröffentlichung.....	60
10.2	Danksagung.....	61
10.3	Eidesstattliche Versicherung.....	62

1 Einleitung

1.1 Glaukom

1.1.1 Definition

Unter dem Begriff Glaukom wird eine Reihe heterogener, multifaktorieller Erkrankungen zusammengefasst [1, 2]. Die Hauptcharakteristika dieser chronischen, progressiven Opticusneuropathie sind der Verlust von retinalen Ganglienzellen, die Exkavation des Sehnervenkopfs, der Austrittsstelle des Sehnervs am Augenhintergrund (siehe Abb. 1), und die damit einhergehenden Gesichtsfelddefekte [1, 3-5]. Als Hauptrisikofaktor für Entwicklung [6] und Progression [7] der glaukomatösen Veränderungen gilt ein individuell zu hoher intraokularer Druck (IOD) [2, 7].

1.1.2 Epidemiologie und sozioökonomische Bedeutung

Das Glaukom ist die zweithäufigste Erblindungsursache in Europa sowie weltweit und zugleich einer der häufigsten Gründe für eine irreversible Erblindung im Sinne des Gesetzes [4, 8]. Die Prävalenz der Erkrankung steigt mit zunehmendem Alter und beträgt bei > 65-Jährigen etwa 2-4 % [4, 5]. Es wird davon ausgegangen, dass die Zahl der an Glaukom erkrankten Menschen im Jahr 2020 weltweit auf 76,0 Millionen und auf 111,8 Millionen im Jahr 2040 angestiegen sein wird [9]. Besonders schwerwiegend beim Glaukom sind die von

den Patienten erst sehr spät wahrgenommenen Symptome, so dass eine Diagnosestellung oft erst sehr spät erfolgt [5]. Die Zahl der nicht entdeckten, manifesten Glaukomerkrankungen wird in den Industrienationen auf 50% geschätzt, in den Entwicklungs- und Schwellenländern beträgt die Dunkelziffer über 90% [2, 5]. Das Glaukom ist zudem auch eine häufige Ursache für eine Erblindung im erwerbsfähigen Alter. Die jährlichen Kosten, die in Westeuropa durch Blindengeld, Ausfall von Arbeitskraft und Frühberentung infolge eines Glaukoms entstehen, sind höher als jene, die durch die Behandlung des Glaukoms entstehen. [2] Die Kosten der Glaukomtherapie steigen mit zunehmender Schwere der Erkrankung, weshalb der Früherkennung und der Therapie des Glaukoms eine besondere Bedeutung zukommt [2, 10].

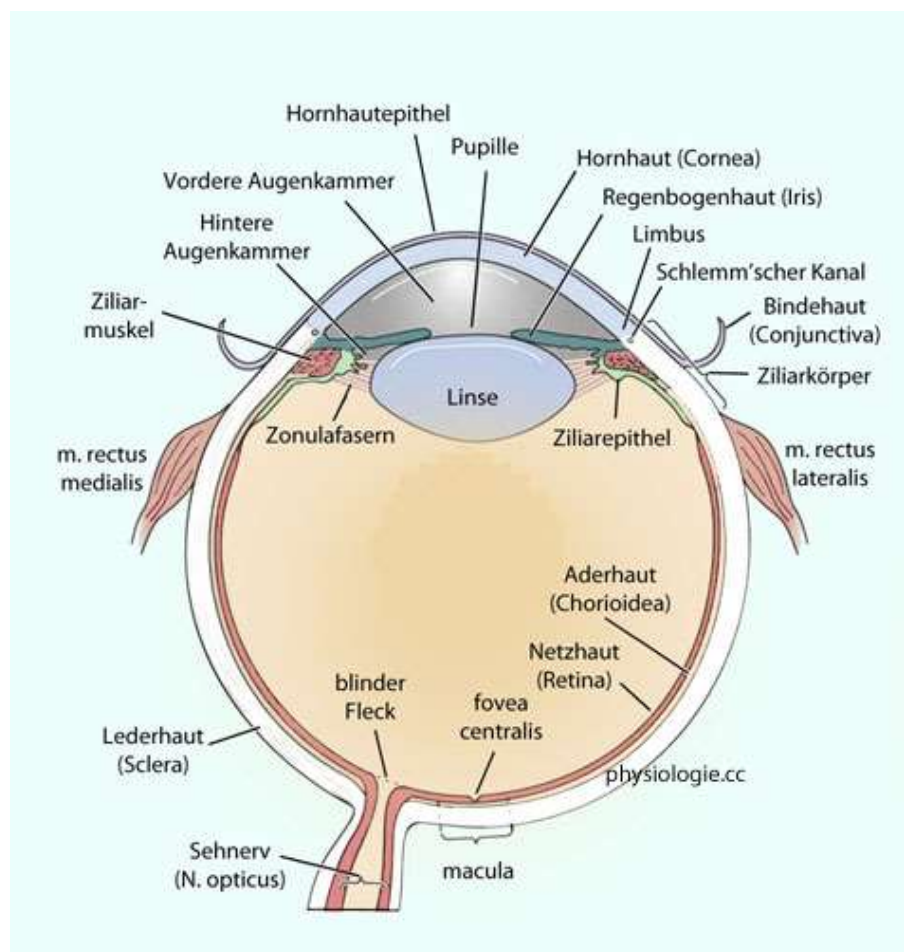


Abbildung 1: Aufbau des Auges

1.1.3 Einteilung

Man unterscheidet zwischen primären und sekundären Glaukomen. Primäre Glaukome treten spontan auf, sekundäre Glaukome sind Folge anderer Augenerkrankungen oder von Allgemeinerkrankungen. [2] Beide Glaukomformen werden je nach Zustand des Kammerwinkels (s. Abb. 2) weiter unterteilt: ist der Kammerwinkel offen, dann spricht man von einem Offenwinkelglaukom, ist der Kammerwinkel durch die Irisbasis verlegt und der Kammerwasserabfluss dadurch blockiert, spricht man von einem Winkelblockglaukom [2]. Als Kammerwinkel wird der Bereich zwischen Hornhaurückfläche und Irisvorderfläche bezeichnet (s. Abb. 1 und 2). [2]

Eine Sonderform des primären Offenwinkelglaukoms ist das Normaldruckglaukom, bei dem der glaukomatöse Schaden bei statistisch normalem Augendruck, also ≤ 21 mmHg, entsteht. Davon abzugrenzen ist die okuläre Hypertension, bei der noch kein Sehnervenschaden vorliegt, also definitionsgemäß noch kein Glaukom besteht. Von okulärer Hypertension spricht man, wenn der Augeninnendruck oberhalb der statistischen Norm, also über 21 mmHg, liegt und weder eine Papillenschädigung, also eine Schädigung des Sehnervenkopfs, noch eine Gesichtsfeldeinschränkung vorliegt. Aus einer okulären Hypertension kann sich jedoch ein Glaukom entwickeln. [2]

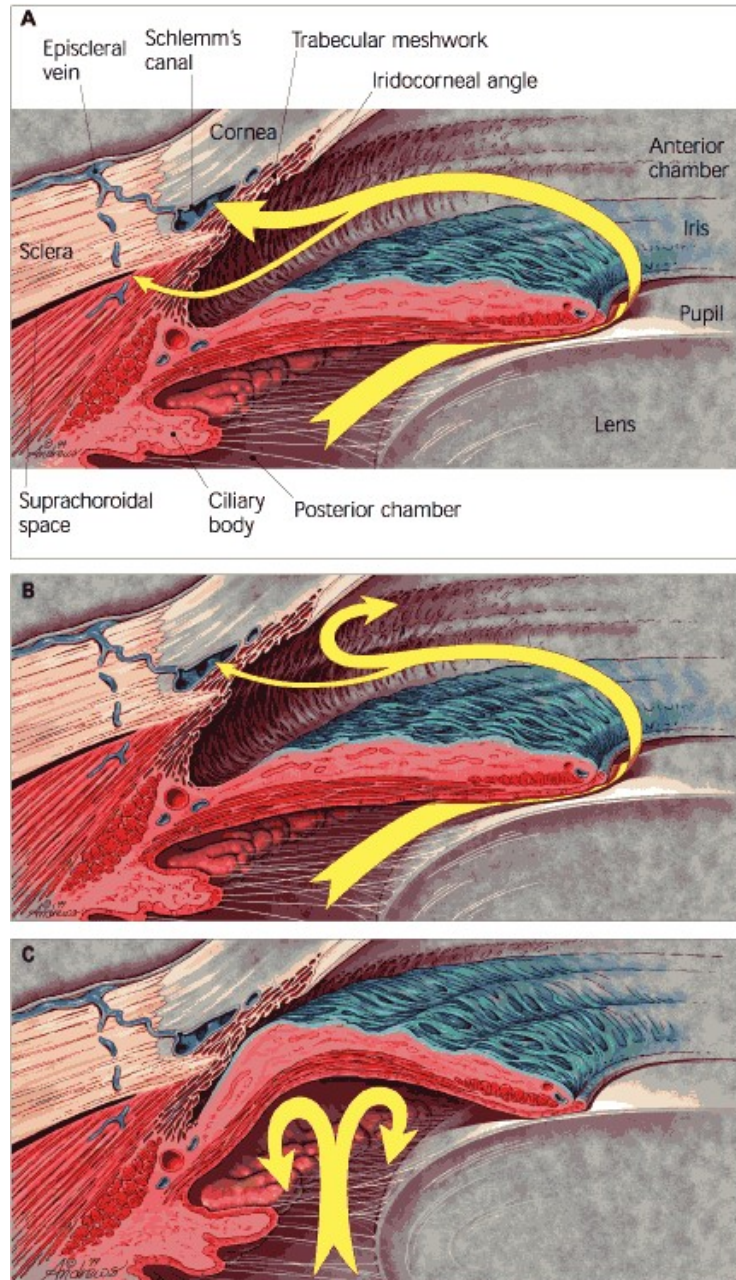


Abbildung 2: Physiologie und Pathologie der Kammerwasserzirkulation:

A: Anatomie des Kammerwinkels, normaler Abfluss über das Trabekelmaschenwerk (dicker Pfeil) und über den uveoskleralen Weg (dünner Pfeil); beide münden in das venöse Gefäßsystem;

B: verminderter trabekulärer Abfluss bei primärem Offenwinkelglaukom;

C: Winkelblockglaukom mit unterbrochenem Kammerwasserfluss in die Vorderkammer bedingt durch die abnormale Lage der Iris

1.1.4 Pathophysiologie

Die meisten Glaukomarten sind mit einem statistisch gesehen erhöhten IOD assoziiert [11, 12]. Der Augeninnendruck ist das Resultat aus Zu- und Abfluss des erzeugten Kammerwassers und wird durch beide Faktoren reguliert [2, 13]. Die Normwerte liegen zwischen 10 und 21 mmHg [2, 14]. Die Umsatzrate des Kammerwassers beträgt bei Erwachsenen $2,4 \pm 0,6 \mu\text{L}/\text{min}$ und wird vom Ziliarepithel durch aktive Sekretion und Ultrafiltration gebildet und in die Hinterkammer abgegeben. Es fließt um die Linse durch die Pupille in die Vorderkammer. [2] Das Kammerwasser enthält Elektrolyte, Proteine, Zytokine, gelöste organische Stoffe und Wachstumsfaktoren und dient der Ernährung der avaskulären Gewebe der Vorderkammer [13]. Der Großteil des Kammerwassers verlässt das Auge durch das schwammartige Trabekelmaschenwerk im Kammerwinkel. Das Kammerwasser gelangt so in den Schlemm-Kanal und fließt über zahlreiche Kollektorkanälchen in die Venen der Sklera oder der Bindehaut und somit in das Blutgefäßsystem ab (trabekulärer Abfluss). [2, 13] Ein kleiner Teil, etwa 15 %, fließt über die Septen des Ziliarmuskels in das Gefäßsystem der Chorioidea (uveoskleraler Abfluss) (s. Abb. 2 und 3) [2, 13].

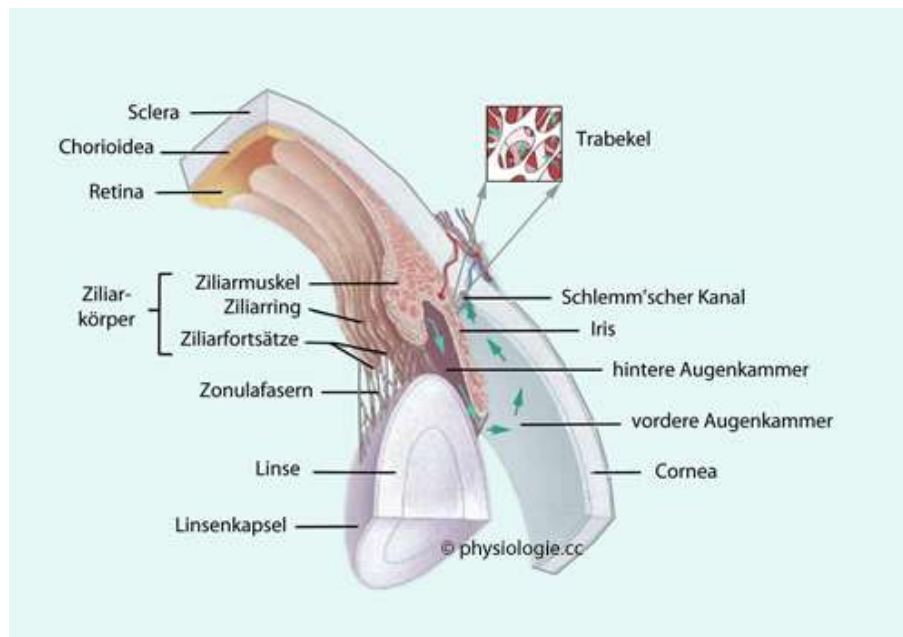


Abbildung 3: Produktion und Zirkulation des Kammerwassers, trabekuläre Struktur

Die Kammerwasserproduktion unterliegt einem Tag-Nacht-Rhythmus und ist nachts um ca. 40% vermindert, bleibt aber ansonsten konstant und ist vom tatsächlichen Augeninnendruck weitgehend unabhängig [2]. Der bedeutendste Risikofaktor für die Entstehung eines Glaukoms ist ein individuell zu hoher IOD [6, 13]. Der erhöhte IOD resultiert aus einem Ungleichgewicht zwischen Kammerwasserproduktion und -abfluss, welches in den meisten Fällen aus einem vermehrten Abflusswiderstand, verursacht durch morphologische Veränderungen im Trabekelmaschenwerk, resultiert (s. Abb. 2 und 3) [7, 15, 16].

Durch den individuell zu hohen Augeninnendruck kommt es zu einer Minderdurchblutung der Nervenfasern am Austrittsort des Sehnervs aus dem Auge und in der Folge zu einer Exkavation der Papille mit Einklemmung der Sehnervenfasern [2, 17]. Durch den Schwund von Fasern des Sehnervs, also von Axonen der retinalen Ganglienzellen, kommt es zu einem fortschreitenden Verlust von retinalen Ganglienzellen durch Apoptose [18], einer Atrophie

des Sehnervs und zu den charakteristischen Gesichtsfelddefekten (s. Abb. 4, 5 und 6) [2, 17].

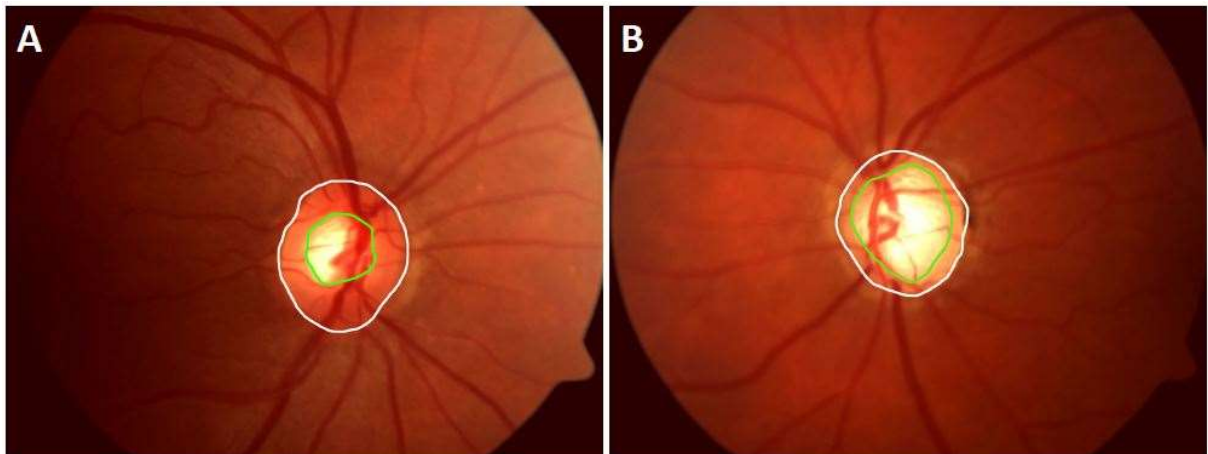


Abbildung 4: A: Normale Papille eines rechten Auges. B: Glaukomatöse Papille eines linken Auges mit Exkavation des Sehnervenkopfs und Atrophie der Nervenfasern und Gefäße, die in die Tiefe der Exkavation abbiegen. Die weiße Begrenzung zeigt den Umfang des gesamten Sehnervenkopfs („Disc“), die grüne Linie zeigt die Begrenzung der Exkavation („Cup“) an.

Der Großteil der Sehnervenfasern läuft in einem Bogen auf die Papille zu. Nur die Fasern zwischen der Fovea, dem Bereich des schärfsten Sehens, und der Papille verlaufen geradlinig. Bei einem Glaukom werden charakteristischerweise zuerst die Fasern mit bogenförmigem Verlauf geschädigt. [2] Symptome in Form von Gesichtsfelddefekten treten erst auf, wenn mehr als 200.000 – 300.000 der 1,1 Millionen Axone geschädigt sind (s. Abb. 5 und 6). Die Erkrankung kann also weit fortschreiten, ohne dass der Patient durch eine Störung der Sehschärfe oder andere Symptome auf die Krankheit aufmerksam wird. [2, 5, 17]

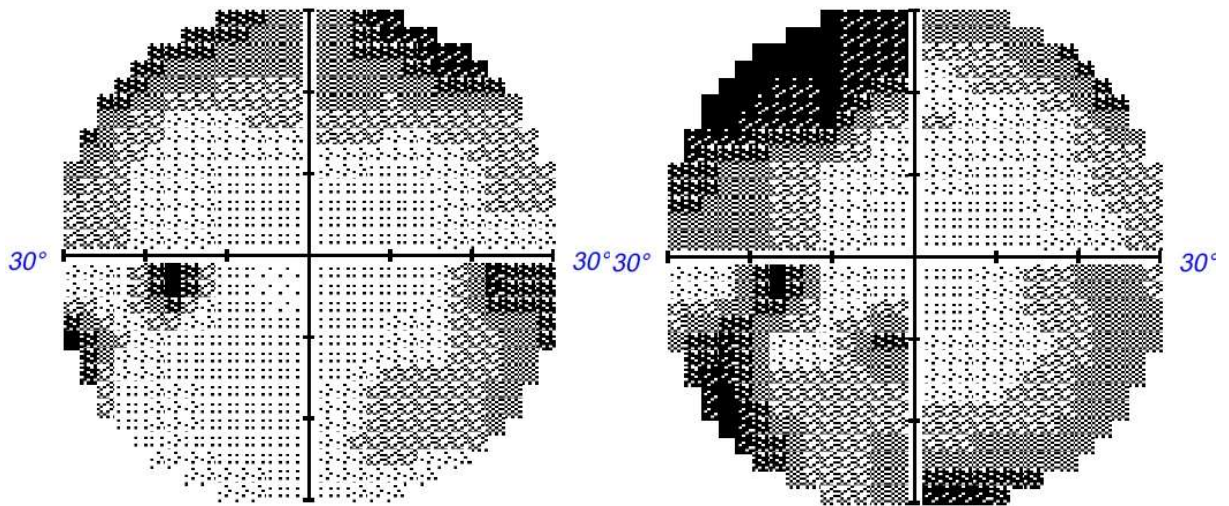


Abbildung 5: Beginnende Gesichtsfelddefekte Abbildung 6: Fortschreitende Gesichtsfelddefekte

1.1.5 Messung des intraokularen Drucks

Die 1954 durch Goldmann eingeführte Applanationstonometrie ist auch heute noch der Goldstandard zur Messung des IOD [19-21]. Das Gerät zählt zu den Kontakttonometern und ist an der Spaltlampe befestigt. Der Tonometerkopf, der zwei Prismen enthält, wird mit blauem Licht beleuchtet (s. Abb. 7). Die anästhesierte Cornea, mit dem mit Fluorescein angefärbten Tränenfilm, wird mit dem Tonometerkopf abgeflacht bis eine Fläche von 3,06 mm Durchmesser abgeplattet ist (s. Abb. 8). Der Anpressdruck entspricht dann dem IOD. [2, 14] Die corneale Struktur und Biomechanik werden bei diesem Verfahren jedoch nicht berücksichtigt, so dass zur genauen Bestimmung des Augeninnendrucks eine zusätzliche Messung der Hornhautdicke (Pachymetrie) erfolgen sollte. Abhängig von der Hornhautdicke wird der gemessene Augeninnendruck korrigiert, zum Beispiel nach der Dresdner Korrekturtabelle. [22-24] Neben den Kontakttonometern werden vermehrt auch Non-Contact-Tonometer verwendet, die einen Luftstoß nutzen, durch den die Hornhaut

abgeflacht wird. Das dadurch veränderte Reflexbild wird zur Messung des IOD genutzt, wodurch eine berührungsfreie Druckmessung am Auge möglich ist, bei der keine Lokalanästhesie erforderlich ist. [2, 14, 22]

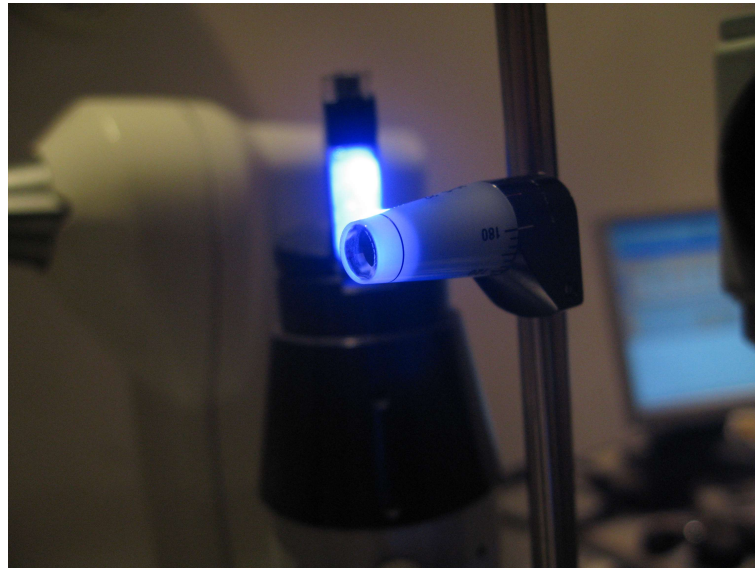


Abbildung 7: Goldmann-Plattometer

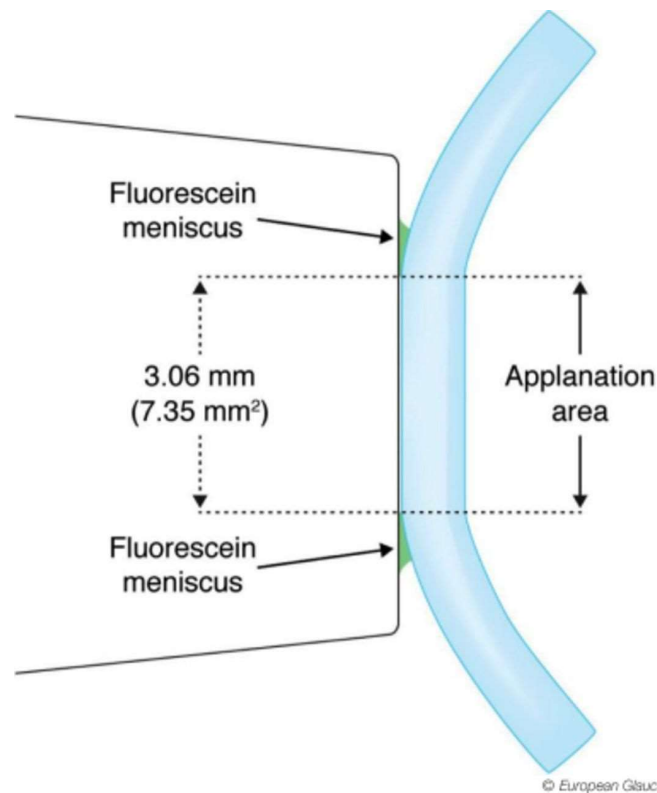


Abbildung 8: Technik der Applanationstonometrie nach Goldmann: Bei Kontakt des Tonometerprismas (links) mit der Cornea kann man den angefärbten Tränenmeniskus durch das Prisma beobachten.

1.1.6 Medikamentöse Therapie

Ziel der Glaukomtherapie ist die Erhaltung des Sehvermögens und der damit verbundenen Lebensqualität des Patienten [25].

Der derzeit einzige evidenzbasierte klinische Therapieansatz des Glaukoms ist die Senkung des IOD. Es konnte gezeigt werden, dass sich dadurch die Progression der glaukomatösen Neurodegeneration des Sehnervs stoppen oder verlangsamen lässt. [6, 7, 26] Eine gängige Therapie, den Druck zu senken, ist die Applikation von medizinischen Augentropfen, die den IOD senken. Es kommen mehrere Substanzklassen zum Einsatz. [27] Im Folgenden wird auf die am häufigsten verwendeten anti-glaukomatösen Medikamente eingegangen.

Prostaglandinanaloga (PGAs) wie Latanoprost, Tafluprost, Travoprost und Bimatoprost gehören zu den First-Line-Medikamenten [26, 27]. Sie senken den IOD um etwa 25-35% des Ausgangswerts. Der zentrale Wirkmechanismus der PGAs ist die Erhöhung des uveoskleralen Abflusses, wobei die Kammerwasserproduktion unbeeinflusst bleibt. PGAs müssen nur einmal täglich angewendet werden, sind gut verträglich und haben kaum systemische Nebenwirkungen. Sie können die Irisfarbe sowie die Haut um die Augen verdunkeln und führen zu einem verstärkten Wimpernwachstum, wenn sie über Jahre angewendet werden. [2, 13, 25, 28] PGAs gehören zu den wirksamsten IOD-senkenden Substanzen [29] und sind deshalb neben Betablockern wie Timolol oder Betaxolol Therapie der ersten Wahl [25, 27]. Betablocker senken den IOD um etwa 20-25% des Ausgangswerts, indem sie die Kammerwasserproduktion verringern [13]. Bei Asthma bronchiale, chronisch-obstruktiver Lungenerkrankung, Bradykardie, dekompensierter chronischer Herzinsuffizienz und bei atrioventrikulären Überleitungsstörungen sind Betablocker absolut kontraindiziert [13, 25]. Daneben kommen in der Ersttherapie noch Carboanhydrasehemmer zum Einsatz, die die Kammerwasserproduktion verringern. Sie können topisch (Brinzolamid, Dorzolamid) oder systemisch (Acetazolamid) eingesetzt werden. Topisch angewendet führen sie zu einer 20%-igen IOD-Senkung und systemisch zu einer 30-40%-igen IOD-Senkung. Die Nebenwirkungen wie Metallgeschmack, Kribbeln an den Händen, Nierenkoliken oder selten Leukopenie machen eine systemische Daueranwendung problematisch. [2, 25] Alpha-2-selektive adrenerge Agonisten wie Apraclonidin, Brimonidin und Clonidin senken den Augeninnendruck ebenfalls durch Drosselung der Kammerwasserproduktion [2]. Als Second-Line-Medikamente werden nichtselektive adrenerge Agonisten, Parasympathomimetika und Osmotika eingesetzt [25].

Laut Empfehlung sollte die Behandlung mit einer Monotherapie begonnen werden. Wenn die initiale Therapie nicht effektiv genug ist oder der Patient das Medikament nicht gut verträgt, sollte man zunächst auf eine andere Monotherapie wechseln, bevor ein zweites Medikament dazugegeben wird. Ein zweites Medikament ist nur sinnvoll, wenn die initiale Monotherapie vertragen wird, der Druck effektiv gesenkt wird, der Zieldruck jedoch nicht erreicht wird. [25]

Sollte durch eine topische Therapie keine ausreichende Druckkontrolle möglich sein, stehen auch Laserbehandlungen und verschiedene operative Verfahren als Therapie zur Verfügung [2].

1.2 Okuläre Biomechanik

1.2.1 Aufbau von Cornea und Sklera

Die äußere Hülle des Auges besteht aus Hornhaut (Cornea) und Lederhaut (Sklera). Die Cornea ist transparent und in die Sklera eingelassen wie ein Uhrglas in die Uhr. Der Durchmesser beträgt beim Erwachsenen 11,5 mm (10-13 mm). Die Hornhaut ist im Zentrum im Mittel 550 µm dick und in der Peripherie 700 µm. [2] Ihre Brechkraft beträgt 43 dpt [2]. Die äußere Begrenzung unter dem Tränenfilm, der aus Lipidschicht, wässriger Schicht und Muzinschicht besteht (s. Abb. 9), bildet ein mehrschichtiges, nicht verhornendes Plattenepithel, dessen basale Zellen fest in der Bowman-Membran verankert sind. Die Bowman-Membran (Lamina limitans anterior) ist eine verdickte, feste Membran aus kollagenem Bindegewebe. Daran schließt sich das Hornhautstroma aus kollagenem

Bindegewebe (Typ I und III) an (s. Abb. 9). [2]

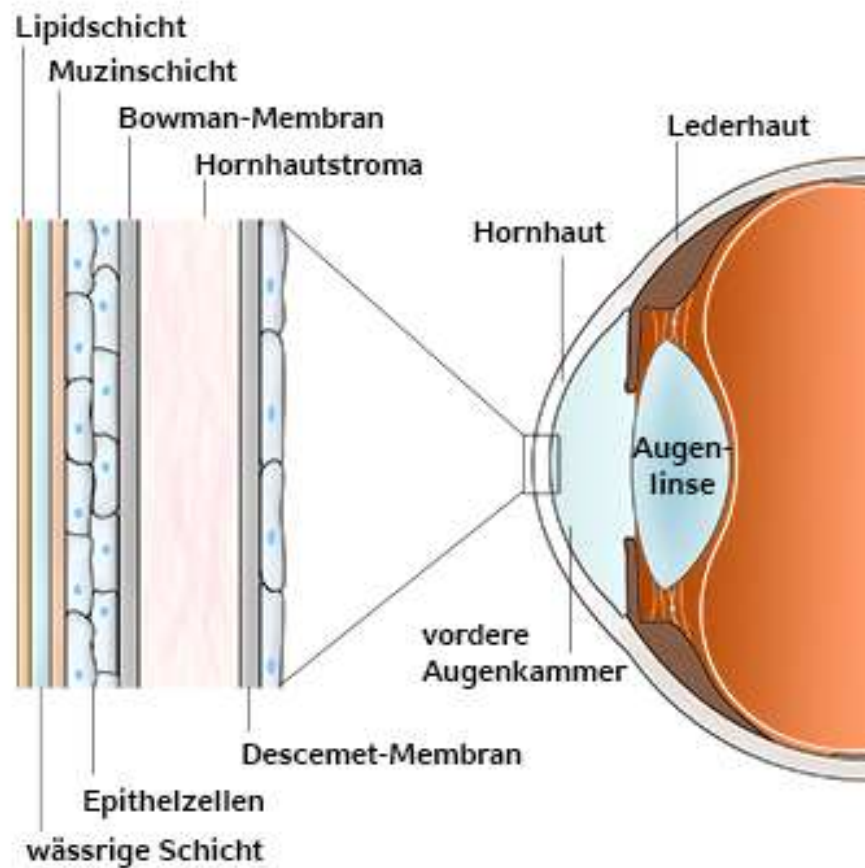


Abbildung 9: Aufbau des Tränenfilms und der Cornea

Das Kollagen bildet Fibrillen, die von einer geleeartigen Matrix umgeben werden [30]. Die Hornhautfibrillen sind in Hornhautlamellen exakt parallel angeordnet, die benachbarten Lamellen stehen senkrecht aufeinander [2] und verlaufen von Limbus zu Limbus [31]. Daraus resultieren eine hohe Festigkeit und eine hohe Transparenz des Gewebes [2]. Das Stroma besteht zu etwa 78% aus Wasser, zu 15% aus Kollagen und zu 7% aus Proteinen, Proteoglykanen, Glycosaminoglykanen und Salzen [30, 31].

Die Keratozyten des zellarmen Hornhautstromas stehen über Fortsätze miteinander in

Verbindung. An das Stroma grenzt die Descemet-Membran (Lamina limitans posterior), die aus elastischen Fasern (Kollagen Typ VIII und Laminin) besteht. Der Descemet-Membran sitzt das einschichtige Hornhautendothel auf (s. Abb. 9). [2]

Die Sklera ist ähnlich aufgebaut wie die Cornea. Durch den etwas höheren Wassergehalt und durch die andere Anordnung der Kollagenfibrillen ist sie undurchsichtig. Am hinteren Pol des Auges bildet die Sklera eine siebförmige Platte, die Lamina cribrosa, durch die die Fasern des Sehnervs vom Auginneren in die Orbita gelangen. [2]

1.2.2 Einfluss der Cornea auf die Druckmessung

Die Messung des IOD kann durch die biomechanischen Eigenschaften der Cornea wie beispielsweise Hornhautdicke und Elastizität beeinflusst werden [2, 14]. Es konnte gezeigt werden, dass die mit der Goldmann Applanationstonometrie gemessenen IOD-Werte mit der zentralen Hornhautdicke (CCT) variieren. Bei Augen mit dickeren Hornhäuten wird der IOD tendenziell überschätzt und bei Augen mit dünneren Hornhäuten eher unterschätzt. [23, 24]

1.2.3 Biomechanische Eigenschaften

Durch die Mikrostruktur des Hornhautstromas werden die biomechanischen Eigenschaften der Hornhaut bestimmt [31, 32]. Die Hornhaut ist ein viskoelastisches Gewebe [30, 32, 33]. Sie ist aus elastischen Kollagenfasern und einer viskösen Grundsubstanz aufgebaut, die zusammen die extrazelluläre Matrix (EZM) bilden [30, 32]. Aus biomechanischer Sicht kann man die Hornhaut mit den aus der Technik bekannten Faserverbundwerkstoffen vergleichen,

da diese Materialien aus mindestens zwei unterschiedlichen Komponenten bestehen, wie beispielsweise glasfaserverstärktes Gummi [32, 34]. Die Biomechanik der Cornea wird bestimmt durch die Viskosität der Grundsubstanz und durch die Kollagen-Grundsubstanz-Wechselwirkungen [25, 30, 32]. Als Viskosität bezeichnet man die Zähigkeit einer Flüssigkeit [35]. Visköse Flüssigkeiten werden durch eine Kraft, die auf sie wirkt, deformiert und kehren bei Wegfall dieser Kraft nicht in ihre Ursprungsform zurück [33]. Bei einem elastischen Material ist die Spannung, also die Kraft pro Fläche, proportional zur Deformation. Wenn eine Kraft auf ein elastisches Material einwirkt, wird die Energie bis zum Wegfall der Kraft gespeichert und das Material kehrt, nach Wegfall der Kraft, auf demselben Weg in seine Ursprungsform zurück. [23] Ein viskoelastisches Material besitzt elastische und visköse Eigenschaften. Viskoelastische Materialien kehren nach Deformation durch Krafteinwirkung wieder in ihre Ursprungsform zurück. Der Weg der Deformation unterscheidet sich aber von dem der Relaxation. [33]

1.2.4 Messung der biomechanischen Eigenschaften

Es stehen mittlerweile mehrere Geräte zur Verfügung, mit denen man die biomechanischen Eigenschaften der Cornea messen kann. Zu diesen Geräten zählt der Ocular Response Analyzer (ORA, Reichert Inc., Depew, NY, USA) (s. Abb. 10), mit dem eine Messung der Biomechanik ohne Berührung der Hornhaut möglich ist. [34] Der ORA misst den IOD indem er einen Luftstrom nutzt. Zusätzlich lassen sich auch Informationen über corneale Gewebeeigenschaften einschließlich der cornealen Hysterese (CH) und des cornealen Resistenzfaktors (CRF) gewinnen (s. Abb. 11). [36]



Abbildung 10: Ocular Response Analyzer (ORA)

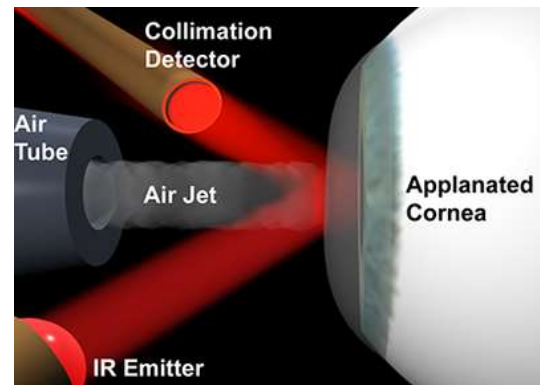


Abbildung 11: Funktionsprinzip des ORA

Die CH quantifiziert die viskoelastischen Gewebeeigenschaften und dient so als Maß für die visköse Dämpfung des Hornhautgewebes, die sowohl durch den Gehalt und die Viskosität der Glykosaminoglykane und Proteoglykane als auch durch die Kollagen-Matrix-Wechselwirkungen verursacht wird [34, 36]. Sie ist somit ein Maß für die Verzögerung, mit der sich die Hornhaut nach Krafteinwirkung verformt. Dabei entspricht eine große Verzögerung einem hohen Maß an dämpfenden mechanischen Eigenschaften und hohem Hysteresewert und ein niedriger Hysteresewert kennzeichnet eine wenig gedämpfte Verformung. [34, 36] Die CH nimmt mit dem Alter ab [36]. Kirwan et al. ermittelten bei Kindern und Jugendlichen im Alter von 4 bis 18 Jahren eine durchschnittliche CH von 12,5 mmHg [37]. In den Untersuchungen von Schroeder et al. wurde in einem durchschnittlich 66 Jahre alten Patientenkollektiv ohne Glaukomerkrankung ein durchschnittlicher CH-Wert von 10,6 mmHg gemessen [36]. Einen für alle Altersstufen einheitlichen Referenzbereich zu definieren, ist daher nicht möglich.

Der Gesamtwiderstand der Hornhaut gegen Verformung wird durch den CRF charakterisiert

und setzt sich aus der viskösen Dämpfung und dem elastischen Widerstand zusammen [34]. Mit der Messung des corneal korrigierten Augeninnendrucks (corneal compensated intraocular pressure (IOPcc)) ist eine Bestimmung des IOD mit einer, im Gegensatz zu anderen Messmethoden, geringeren Beeinflussung durch die individuellen Hornhauteigenschaften möglich [34, 38].

1.2.5 Beeinflussung der okulären Biomechanik durch Matrixmetalloproteinasen

Matrixmetalloproteinasen (MMPs) sind eine Familie von mindestens 23 zink- und calciumabhängigen Enzymen, die von Zellen sezerniert werden [39-41]. Sie bauen fast alle Proteinbestandteile der EZM ab und sind an Remodelingprozessen der EZM beteiligt [42]. Es konnte gezeigt werden, dass in der Familie der Metalloproteinasen MMP-1, MMP-2, MMP-3 und MMP-9 besonders am Abbau der EZM beteiligt sind [43]. Ihre natürlichen Regulatoren, sogenannte tissue inhibitors of metalloproteinases (TIMPs), bestehen aus vier Mitgliedern und werden von vielen Zelltypen des Auges sezerniert. Unter diesen konnte gezeigt werden, dass TIMP-1, TIMP-2 und TIMP-3 in Zellen des Sehnervs, des Trabekelmaschenwerks und der Cornea gebildet werden. [44-46] Das Gleichgewicht zwischen der Menge von MMPs und TIMPs ist wichtig für die Regulation der EZM. Deshalb führt ein Ungleichgewicht zu Gunsten der MMPs oder der TIMPs zu einem abnormalen Abbau oder zu einer Akkumulation von unterschiedlichen Komponenten der EZM, was möglicherweise die Biomechanik des Gewebes beeinflusst. [47, 48] In neueren Studien wird deshalb die Hypothese aufgestellt, dass das Ungleichgewicht zwischen diesen Enzymen und ihren Inhibitoren bei der Entwicklung des Glaukoms eine Rolle spielen könnte [49, 50].

1.3 Veränderungen und Beeinflussung der okulären Biomechanik bei Glaukom

Neben den strukturellen Veränderungen im Trabekelmaschenwerk besteht zudem die Hypothese, dass verminderte Dämpfungseigenschaften des Augapfels, verursacht durch Veränderungen der viskoelastischen Eigenschaften der Cornea und der Sklera, die Empfindlichkeit der glaukomatösen Augen für die Zerstörung des Sehnervenkopfs erhöhen [51-53]. Interessanterweise gibt es Hinweise, dass es einen strukturellen Zusammenhang zwischen der Cornea und dem Bindegewebe des Sehnervenkopfs sowie eine Verbindung zwischen dem biomechanischen Verhalten der Cornea und dem funktionellen Verhalten der Lamina cribrosa geben könnte [54]. Wegen verminderter Dämpfungseigenschaften bei glaukomatösen Augen ist das Risiko für den Sehnerv erhöht, geschädigt zu werden, wenn der IOD erhöht ist [55]. Üblicherweise findet sich in glaukomatösen Augen eine Akkumulation von EZM verursacht durch Remodeling des okulären Gewebes [56]. Es ist bekannt, dass derartige Veränderungen assoziiert sind mit Desorganisation oder funktionellen Veränderungen des Bindegewebes [45, 57]. Eine Vermehrung der EZM, die möglicherweise durch eine verminderte Aktivität von MMPs verursacht wird, kann zu Veränderungen in der okulären Biomechanik führen und so eine Abnahme der dämpfenden Eigenschaften des Augapfels bewirken [39, 45, 51, 52, 57].

Es gibt Hinweise, dass PGAs wie Travoprost, Latanoprost, Tafluprost und Bimatoprost neben ihren drucksenkenden Eigenschaften die MMP-Aktivität erhöhen. Deshalb scheint es wahrscheinlich, dass diese Medikamente einen Einfluss auf das Remodeling der EZM haben.

In vorangegangenen Studien konnte gezeigt werden, dass daraus resultierende Veränderungen der biomechanischen Eigenschaften des okulären Gewebes nach der Behandlung gemessen werden konnten. [58-61]

2 Zielsetzung

Ziel unserer Untersuchung war es, in einem ex-vivo Glaukommodell zu zeigen, dass eine topische Therapie mit PGAs die Proteinexpression der EZM in humanen Hornhäuten beeinflusst und es so zu messbaren Veränderungen in der cornealen Biomechanik kommt.

3 Material und Methoden

3.1 Ethik

Die Methoden zur Gewinnung menschlichen Gewebes entsprachen der Deklaration von Helsinki und wurden von der zuständigen Ethikkommission zugelassen [62]. Die schriftliche Einwilligung wurde von den nächsten Angehörigen eingeholt. Alle Spenderhornhäute, die für diese Studie verwendet wurden, waren aus verschiedenen Gründen, wie beispielsweise einer positiven Serologie für Infektionskrankheiten oder wegen einer zu geringen Endothelzellichte, nicht für eine Transplantation geeignet.

3.2 Humane Spenderhornhäute (HDC)

Es wurden zwölf humane Spenderhornhautpaare (HDC) aus der Hornhautbank der Ludwig-Maximilians-Universität München verwendet. Die Hornhäute wurden von humanen Spendern ohne Augenerkrankungen in der Vorgeschichte innerhalb der ersten 24 Stunden post mortem entnommen und in Organkultur kultiviert. Von jedem Paar wurde eine Hornhaut für 30 Tage mit einem Prostaglandin F₂ α Analogon (1 μ g/ml) behandelt, wobei die andere Hornhaut als unbehandelte Kontrolle diente.

3.3 Glaukommodell, ORA, Biomechanik

Nach einer Inkubationszeit von 30 Tagen wurden in einem künstlichen Vorderkammermodell (Barron Artificial Anterior Chamber, Barron Precision Instruments, Grand Blanc, MI, USA) unterschiedliche IOD-Werte (10-40 mmHg) simuliert. Die IOD-Werte wurden über die Höhe einer Wassersäule in einem Infusionssystem, das mit dem künstlichen Vorderkammermodell verbunden und mit steriler Kochsalzlösung gefüllt war, reguliert. Die eingespannten Spenderhornhäute wurden in einer genau festgelegten Position vor dem ORA-Gerät platziert. Es erfolgten die Messungen der biomechanischen Eigenschaften wie beispielsweise der CH (s. Abb. 12).

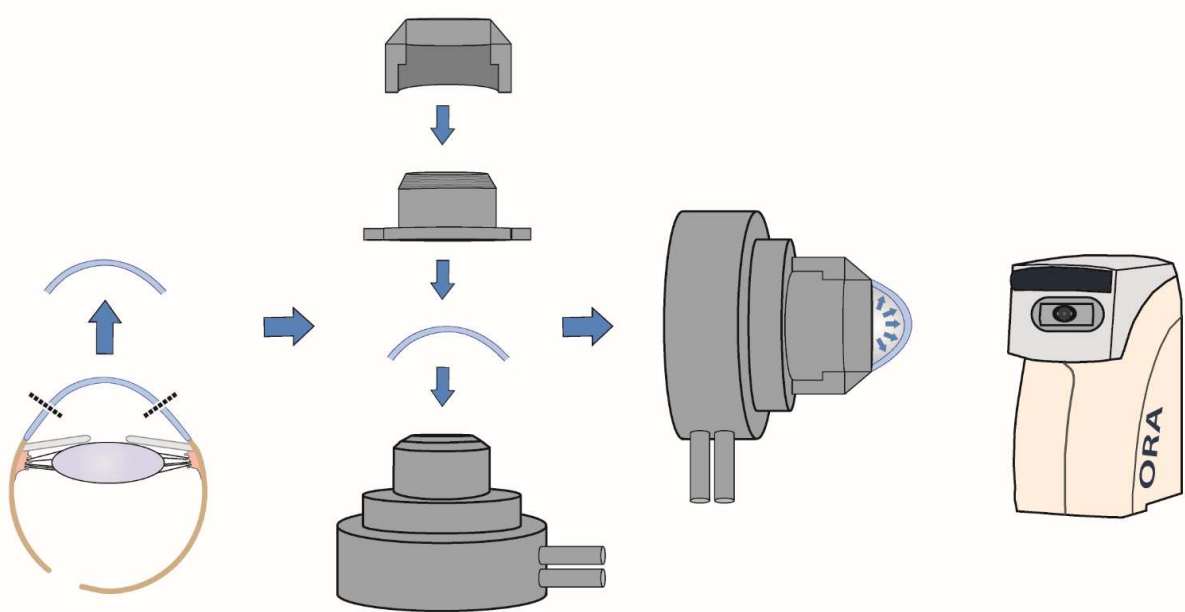


Abbildung 12: Versuchsaufbau: Entnahme der Spenderhornhaut, Positionierung der Hornhaut im künstlichen Vorderkammermodell und Positionierung des Modells zur Messung mit dem ORA; von 12 Hornhautpaaren wurde jeweils eine Hornhaut über 30 Tage mit einem Prostaglandinanalogen (PGA) behandelt und die andere Hornhaut diente als unbehandelte Kontrolle. Danach wurden die Hornhäute in ein künstliches Vorderkammermodell eingespannt. Über ein flüssigkeitsgefülltes Infusionssystem wurden unterschiedliche Drücke simuliert und die Messungen mit dem ORA durchgeführt.

Der ORA nutzt einen luftdruckgetriggerten, dynamischen, bidirektionalen Applanationsprozess der Hornhaut, der durch ein elektrooptisches System detektiert wird. Innerhalb von 20 ms verformt ein geregelter Luftstoß die Hornhaut. Sie wird dabei zunächst einwärts applaniert, durchläuft danach eine kurze konkave Phase und, nach Abschalten des Luftstoßes, kehrt sie in ihre Ausgangsform zurück, wobei sie eine zweite Applanationsphase durchläuft. Im Moment der Applanationsphase kommt es jeweils zu einer maximalen Reflexion, die sich in den beiden Peaks des Mess-Signals darstellt (s. Abb. 13). Mit einem elektrooptischen Infrarotsensor werden jeweils im Moment der maximalen Reflexion zwei Applanationsdrücke (P1 und P2) gemessen – einer bei Einwärtsbewegung der Cornea und der zweite bei der Rückkehr der Cornea in ihre ursprüngliche Form. Durch die biomechanischen Eigenschaften

der Cornea kommt es zu einer Verzögerung der Einwärts- und Auswärtsaplanation und dadurch zur Messung von zwei unterschiedlichen Drücken. Die Differenz dieser beiden Druckwerte ($P_1 - P_2$) wird als CH bezeichnet und ist ein Maß für die visköse Dämpfung des cornealen Gewebes (s. Abb. 13).

Außerdem wurden mit dem ORA auch der Goldmann-korrelierte IOD (IOP_G) und der CRF gemessen, der ein Maß für den Gesamtwiderstand der Hornhaut gegen Verformung ist und sich aus der viskösen Dämpfung und dem elastischen Widerstand zusammensetzt. Zudem wurde der IOP_{cc} gemessen, der weniger durch die cornealen Eigenschaften beeinflusst wird. Das Messprinzip des ORA wurde auch in Arbeiten von Spörl et al. und Schroeder et al. beschrieben. [34, 36] Bei der Durchführung der Messungen wurde besonders darauf geachtet, die Hornhaut nicht zu quetschen, was möglicherweise zu Veränderungen der biomechanischen Eigenschaften hätte führen können. Die CCT wurde mit der Ultraschall-Pachymetrie (Tomey SP-100 Pachymeter) gemessen.

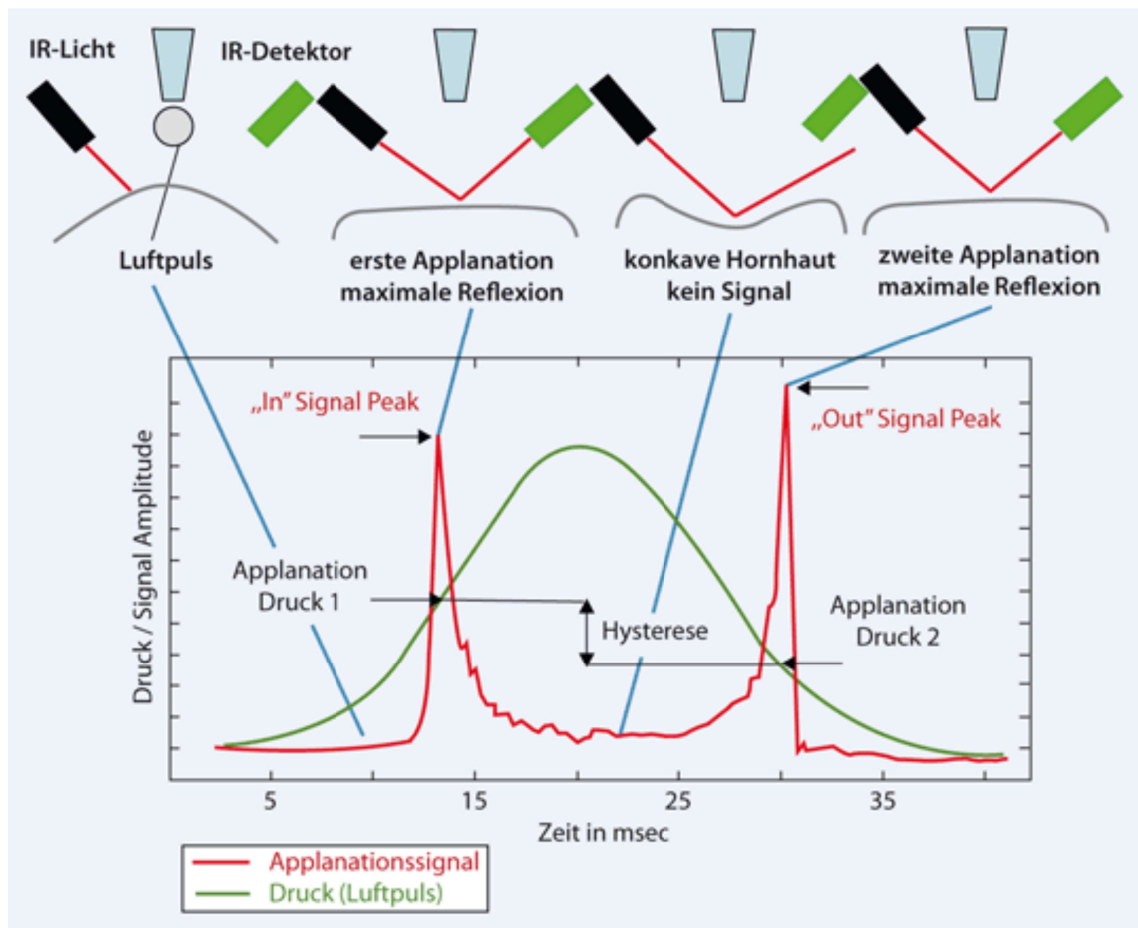


Abbildung 13: Messprinzip des ORA: ein geregelter Luftstoß verformt die Hornhaut. Dabei kommt es zu zwei Applanationsphasen. Im Moment der Applanation kommt es jeweils zu einer maximalen Reflexion, die sich in den beiden Peaks des Mess-Signals darstellt. Mit einem elektrooptischen Infrarotsensor werden, jeweils im Moment der maximalen Reflexion, zwei Applanationsdrücke (P1 und P2) gemessen. Durch die biomechanischen Eigenschaften der Cornea kommt es zu einer Verzögerung der Einwärts- und Auswärtsapplanation und dadurch zur Messung von zwei unterschiedlichen Drücken. Die Differenz dieser beiden Druckwerte ($P1 - P2$) ist die corneale Hysterese (CH).

3.4 Immunhistochemie

Nachdem die Messungen der biomechanischen Eigenschaften abgeschlossen waren, wurden die Spenderhornhäute für mindestens 24 Stunden in 4 % Paraformaldehyd (Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland) und 0,1 % Glutaraldehyd (Sigma-Aldrich Chemie GmbH,

Taufkirchen, Deutschland) gepuffert in 0,1-molarer phosphatgepufferter Salzlösung (PBS) mit einem pH-Wert von 7,4 bei 8°C fixiert und bis zur Verwendung gelagert. Danach wurden die Hornhäute routinemäßig für die Paraffineinbettung verarbeitet, mit einem Schlittenmikrotom (Reichert-Jung HN 40, Cambridge Instruments GmbH, Nußloch, Deutschland) in dünne Schnitte (1-2 µm) geschnitten und auf SuperFrost® Plus Objektträger (Menzel GmbH, Braunschweig, Deutschland) aufgebracht. Die Schnitte wurden mit Xylol (Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland) entparaffiniert, rehydriert durch eine absteigende Alkoholreihe und zweimal mit 0,1-molarer PBS gewaschen. Um Antigene und Epitope zu demaskieren wurden die in Paraformaldehyd fixierten Schnitte für 60 Minuten mit 0,1 % Pepsin (Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Taufkirchen, Deutschland) in 0,1-molarer PBS inkubiert und danach zweimal mit 0,1-molarer PBS gewaschen. Um unspezifische Bindungen von Immunglobulin G zu unterdrücken wurden die Schnitte mit einer Blockierlösung (Normal Donkey Serum, dianova GmbH, Hamburg, Deutschland), gelöst in Inkubationspuffer mit einer Verdünnung von 1:20, für drei Stunden inkubiert und danach dreimal mit Inkubationspuffer gewaschen. Der Inkubationspuffer bestand aus 0,1-molarer PBS, 0,5 % Rinderserumalbumin (Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Taufkirchen, Deutschland), 0,1 % Triton-X (Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Taufkirchen, Deutschland) und 0,1 % Natriumazid (Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland) und wurde für alle folgenden Verdünnungen, als Waschpuffer zwischen den nächsten Schritten und als Negativkontrolle verwendet. Die Schnitte wurden über Nacht (18-20 Stunden) mit den Primärantikörpern in einer Verdünnung von 1:10 inkubiert, danach dreimal gewaschen und für eine Stunde mit fluorochromkonjugierten Sekundärantikörpern in einer Verdünnung von 1:100 in einer dunklen, feuchten Kammer inkubiert. Alle chemischen Reaktionen fanden in einer feuchten Kammer bei Raumtemperatur statt.

Als Primärantikörper wurden ein polyklonaler Kaninchenantikörper gegen MMP-3 (sc-6839-R; Santa Cruz Biotechnology, Heidelberg, Deutschland) und ein monoklonaler Mausantikörper gegen MMP-9 (sc-21733; Santa Cruz Biotechnology, Heidelberg, Deutschland) verwendet. Die Sekundärantikörper waren ein polyklonaler Cy3-konjugierter Esel-anti-Maus Antikörper (715-165-150; dianova GmbH, Hamburg, Deutschland) und ein polyklonaler Cy2-konjugierter Esel-anti-Kaninchen Antikörper (711-225-152; dianova GmbH, Hamburg, Deutschland). Nach viermaligem Waschen mit Inkubationspuffer und dreimaligem Waschen mit 0,1-molarer PBS wurden die Schnitte mit DAPI Eindeckmedium (dianova GmbH, Hamburg, Deutschland) eingedeckt und im Dunkeln bei 8°C aufbewahrt. Als Negativkontrolle wurde der jeweilige Primärantikörper bei der Färbung weggelassen. Die histologische Morphologie der Proben wurde an Schnitten beurteilt, die mittels Hämatoxylin-Eosin-Färbung und Periodsäure-Schiff-Reaktion gefärbt waren.

3.5 Fotodokumentation

Die Bilder wurden mit einem ProgRes CF CapturePro 2,1 Optiksistem (Jenoptik Laser Optik Systeme GmbH, Jena, Deutschland) gemacht, das mit einem Leica DM 2500 Mikroskop (Leica Microsystems GmbH, Wetzlar, Deutschland) verbunden war. Zusätzlich wurde die externe Lichtquelle Leica EL6000 (Leica) zur Fluoreszenz-Bildgebung verwendet. Es wurden Bilder von repräsentativen Bereichen der Cornea gemacht, insbesondere vom Kammerwinkel sowie dem peripheren und zentralen Hornhautstroma, jeweils mit einer 10-, 20- und 40-fachen Vergrößerung.

3.6 RNA-Isolation und Realtime-PCR (RT-PCR)

Aus den Keratinozyten der humanen Spenderhornhäute wurde die Gesamt-RNA isoliert mit der Guanidium-Thiocyanate-Phenol-Chloroform Extraktionsmethode (Stratagene, Heidelberg, Deutschland) [63] und die Quantifizierung der MMP-3 und MMP-9 mRNA wurde mit speziellen Primern durchgeführt unter Verwendung eines LightCycler Systems (Roche Diagnostics, Mannheim, Deutschland). Die Primer und Proben wurden mittels der PrimerBank der Harvard Medical School (<https://pga.mgh.harvard.edu/cgi-bin/primerbank>) gefunden und mittels PrimerBlast auf ihre Spezifität getestet. Folgende Tabelle zeigt die Primer, die für die RT-PCR verwendet wurden.

Verwendete Primer	
Name	Sequenz (5' -> 3')
MMP-3	F: CTGGACTCCGACACTCTGGA
	R: CAGGAAAGGTTCTGAAGTGACC
MMP-9	F: AGACCTGGGCAGATTCCAAAC
	R: CGGCAAGTCTCCGAGTAGT

Die Höhe der MMP-3 und MMP-9 mRNA wurde im Verhältnis zu einem Housekeeping Gen durchgeführt. Hierfür verwendeten wir 18S rRNA. Alle Experimente wurden in dreifacher Ausfertigung vorgenommen und dreimal wiederholt.

3.7 Statistische Auswertung

Alle Daten wurden mit Prism 5 für Windows (Graphpad, La Jolla, CA, USA) ausgewertet. Für alle statistischen Tests wurde $p < 0.05$ als signifikant angesehen. Die Ergebnisse der quantitativen RT-PCR werden als mittleres Verhältnis der untersuchten mRNA zu der 18S rRNA einschließlich der Standardabweichung (SD) angegeben. Die übrigen Ergebnisse werden als Mittelwert \pm Standardabweichung ($M \pm SD$) dargestellt, beziehungsweise im Fall der CH als Mittelwert \pm Standardfehler ($M \pm SEM$). Der non-parametrische Mann-Whitney-U-Test wurde für die Analyse der Ergebnisse verwendet.

4 Ergebnisse

4.1 Ultraschall-Pachymetrie

Nach einer Inkubationszeit von 30 Tagen unterschied sich in unserem Versuchsaufbau die CCT nicht signifikant zwischen den mit einem PGA behandelten Hornhäuten und den unbehandelten Hornhäuten, die als Kontrolle dienten. Die CCT der unbehandelten Gruppe betrug $551,2 \pm 24,49 \mu\text{m}$ und bei den Hornhäuten, die mit einem PGA behandelt worden waren, betrug sie $536,5 \pm 27,08 \mu\text{m}$ ($p=0.1779$; n pro Gruppe=12) (s. Abb. 14).

Central Corneal Thickness (CCT)

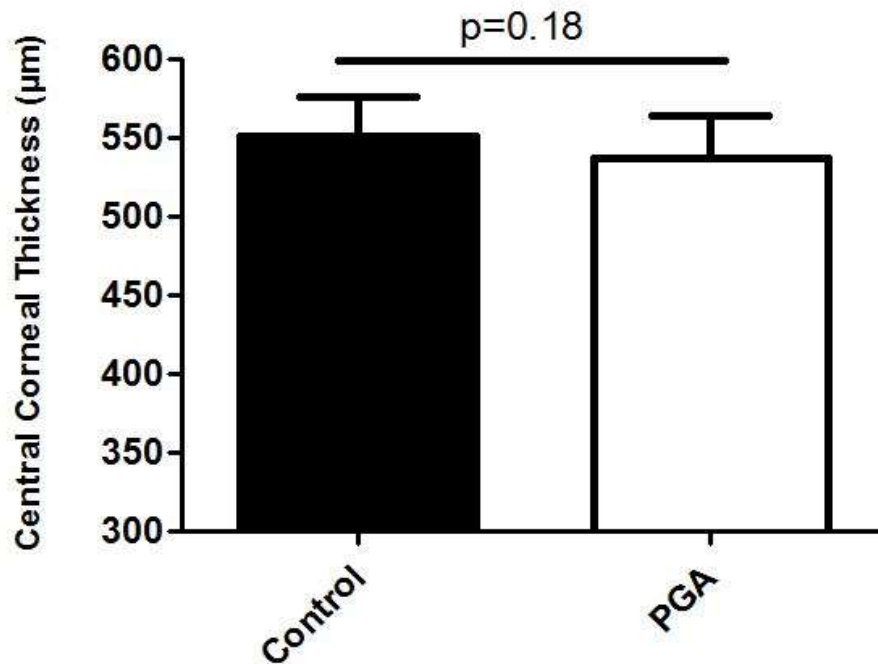


Abbildung 14: Die zentrale Hornhautdicke (CCT) wurde bei allen Hornhäuten mit Ultraschall-Pachymetrie gemessen. Es zeigte sich kein signifikanter Unterschied zwischen den behandelten und den unbehandelten Hornhäuten. Die CCT der unbehandelten Gruppe betrug $551,2 \pm 24,49 \mu\text{m}$ und die der mit PGA behandelten $536,5 \pm 27,08 \mu\text{m}$ ($p=0.18$; n pro Gruppe=12).

4.2 ORA-Messungen

Um unterschiedliche intraokulare Drucklevel zu erfassen, wurden in dem ex-vivo Vorderkammermodell wie oben beschrieben Druckwerte zwischen 10, 20 und 40 mmHg erzeugt. Nach der Behandlung mit einem PGA zeigten die Messungen der Biomechanik mit dem ORA insgesamt im Druckbereich von 10 bis 40 mmHg eine signifikant erhöhte CH bei den Hornhäuten, die mit einem PGA behandelt worden waren. Die mittlere CH der behandelten Hornhäute betrug $16,62 \pm 0,28 \text{ mmHg}$, verglichen mit $12,21 \pm 0,27 \text{ mmHg}$ bei den unbehandelten Kontrollen ($p<0.0001$; n pro Gruppe=12) (s. Abb. 15).

Mean Corneal Hysteresis IOP Range 10-40 mmHg

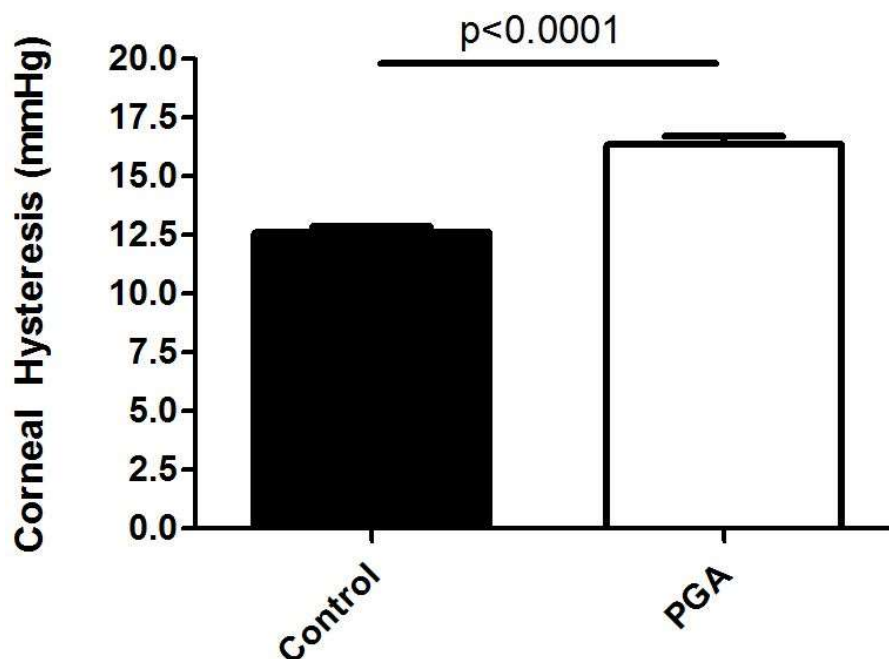


Abbildung 15: Die Messungen der Biomechanik mit dem ORA zeigten eine signifikant höhere CH bei den Hornhäuten, die mit einem PGA behandelt worden waren. Die mittlere CH bei Druckwerten zwischen 10 und 40 mmHg betrug $16,62 \pm 0,28$ mmHg bei den behandelten Hornhäuten und $12,21 \pm 0,27$ mmHg bei den unbehandelten Kontrollen ($p < 0.0001$; n pro Gruppe=12).

Im Druckbereich zwischen 10 und 20 mmHg war kein signifikanter Unterschied ($p=0.14$; n pro Gruppe=12) der CH zwischen den behandelten Hornhäuten und den unbehandelten Kontrollen zu erkennen. Dabei zeigte sich für die behandelte (PGA) Gruppe eine mittlere CH von $13,12 \pm 0,63$ mmHg und für die unbehandelte Gruppe von $12,34 \pm 0,49$ mmHg (s. Abb. 16).

Mean Corneal Hysteresis IOP Range 10-20 mmHg

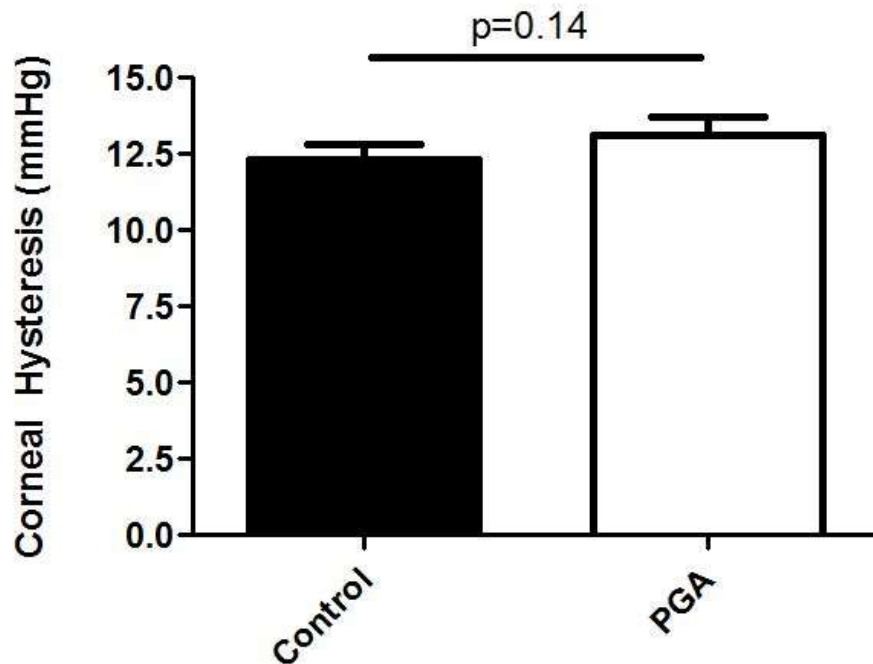


Abbildung 16: Im Druckbereich zwischen 10 und 20 mmHg zeigte sich kein signifikanter Unterschied der mittleren CH zwischen den behandelten Hornhäuten (PGA) ($CH=13,12 \pm 0,63$ mmHg) und den unbehandelten Kontrollen ($CH=12,34 \pm 0,49$ mmHg) ($p=0.14$; n pro Gruppe=12).

Im Druckbereich zwischen 20 und 40 mmHg zeigte sich bei den Hornhäuten nach Behandlung mit einem PGA eine signifikant erhöhte ($p<0.0001$) CH im Vergleich zu den unbehandelten Kontrollen (s. Abb. 17). Die mittlere CH der behandelten Hornhäute betrug $17,62 \pm 0,40$ mmHg, verglichen mit $11,60 \pm 0,39$ mmHg bei den unbehandelten Kontrollen ($p<0.0001$; n pro Gruppe=12).

Mean Corneal Hysteresis IOP Range 20-40 mmHg

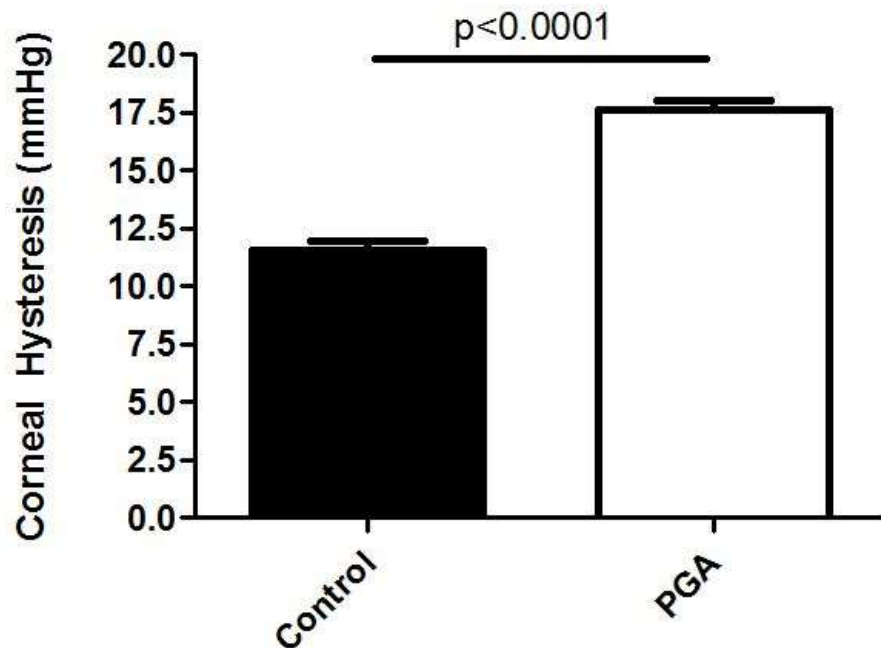


Abbildung 17: Im Druckbereich zwischen 20 und 40 mmHg zeigte sich ein signifikanter Unterschied der mittleren CH zwischen den behandelten Hornhäuten (PGA) ($CH=17,62 \pm 0,40$ mmHg) und den unbehandelten Kontrollen ($CH=11,60 \pm 0,39$ mmHg). Die CH war nach Behandlung signifikant erhöht ($p < 0.0001$; n pro Gruppe=12).

Es war keine signifikante Veränderung der CH nur aufgrund einer Drucksteigerung zu sehen (s. Abb. 18). Die mittlere CH betrug bei Druckwerten zwischen 10 und 20 mmHg $11,95 \pm 0,62$ mmHg und bei Druckwerten zwischen 20 und 40 mmHg $11,60 \pm 0,40$ mmHg ($p=0.72$; n pro Gruppe=12).

**Mean Corneal Hysteresis (CH)
in relation to intraocular pressure (IOP)
without treatment**

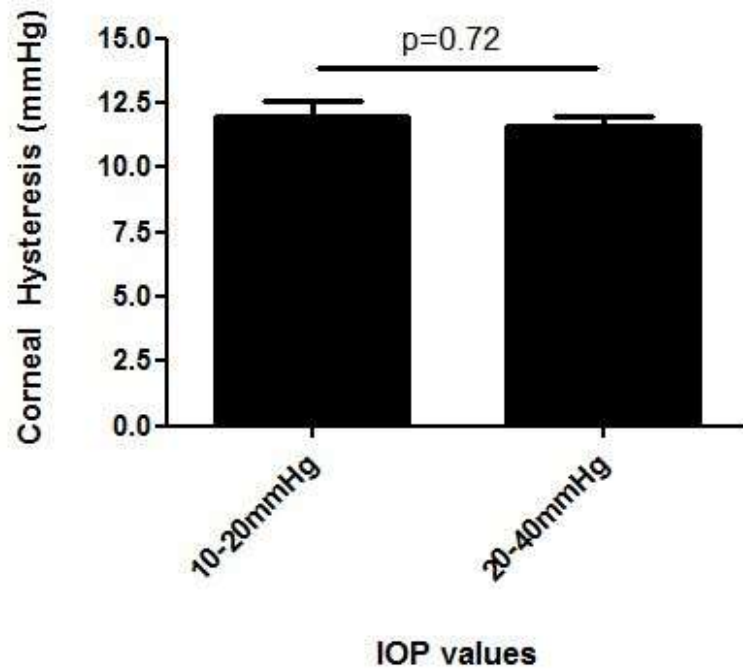


Abbildung 18: Es zeigte sich keine signifikante Veränderung der mittleren CH aufgrund einer reinen Drucksteigerung. Die mittlere CH betrug bei Druckwerten zwischen 10 und 20 mmHg 11,95 ± 0,62 mmHg und bei Druckwerten zwischen 20 und 40 mmHg 11,60 ± 0,40 mmHg ($p=0.72$; n pro Gruppe=12).

4.3 Immunhistochemie

Die Expression von MMP-3 und MMP-9 war in den für 30 Tage mit einem PGA behandelten Hornhäuten immunhistochemisch stärker zu beobachten als in den unbehandelten Hornhäuten, die als Kontrolle dienten. Hier zeigte sich nur eine schwache Färbung von MMP-3 und MMP-9 (s. Abb. 19 und 20).

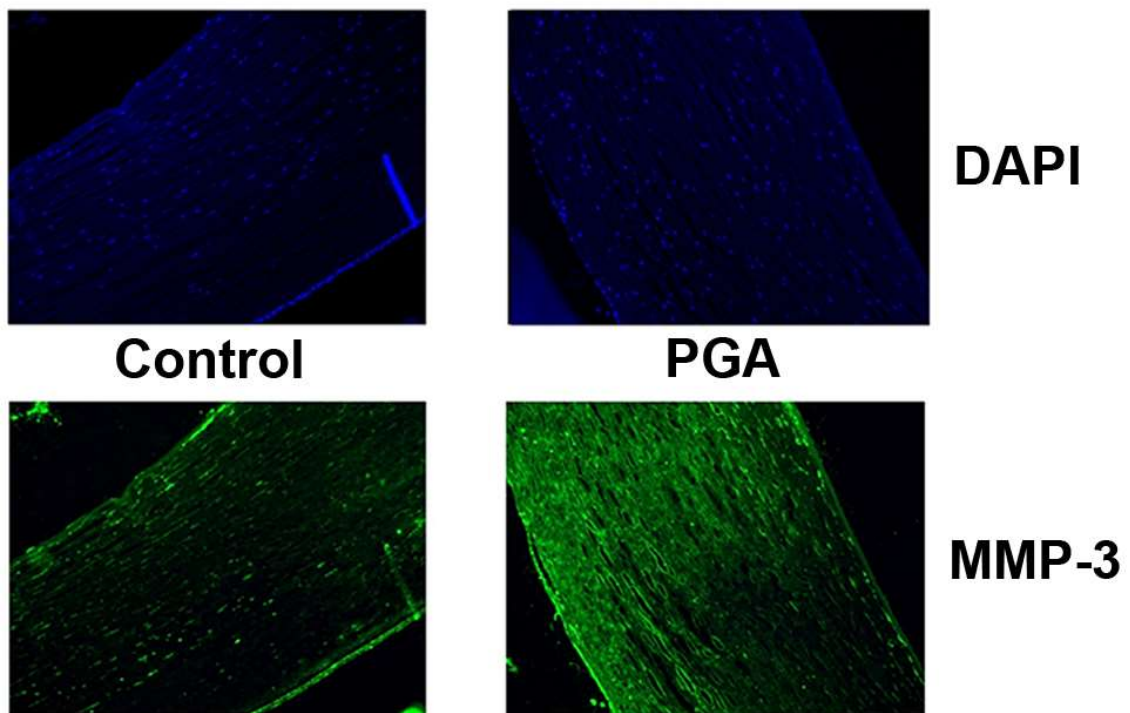


Abbildung 19: In der immunhistochemischen Färbung zeigten die über 30 Tage mit einem PGA behandelten Hornhäute eine deutlich erhöhte Expression von MMP-3 im Vergleich zu den unbehandelten Hornhäuten, die als Kontrolle dienten und nur eine schwache Färbung zeigten.

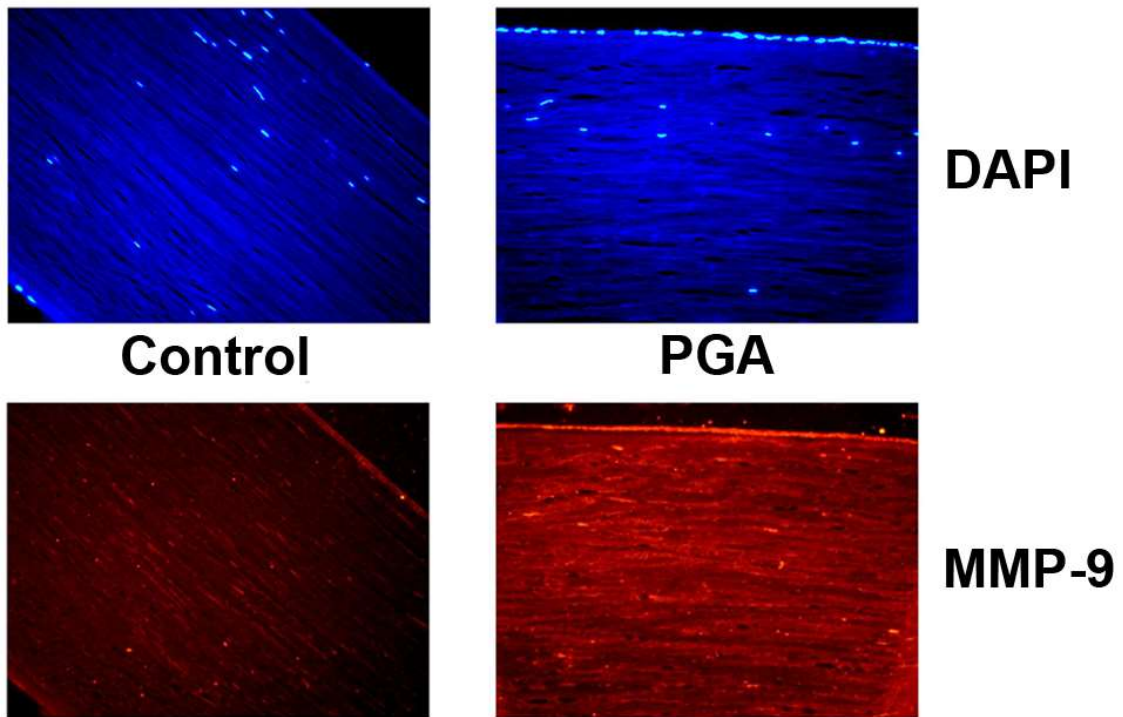


Abbildung 20: In der immunhistochemischen Färbung zeigten die über 30 Tage mit einem PGA behandelten Hornhäute eine deutlich erhöhte Expression von MMP-9 im Vergleich zu den unbehandelten Hornhäuten, die als Kontrolle dienten und nur eine schwache Färbung zeigten.

4.4 RT-PCR

Es waren in den behandelten Hornhäuten signifikante Unterschiede in der Expression der Matrixmetalloproteinasen MMP-3 und MMP-9 zu beobachten im Vergleich zur unbehandelten Kontrollgruppe. Für MMP-3 war der Anstieg mehr als sechsfach, während der Anstieg von MMP-9 mit einer etwa fünffachen Zunahme etwas niedriger war. Beide Ergebnisse waren signifikant höher im Vergleich zur unbehandelten Kontrolle ($p < 0.0001$) (s. Abb. 21).

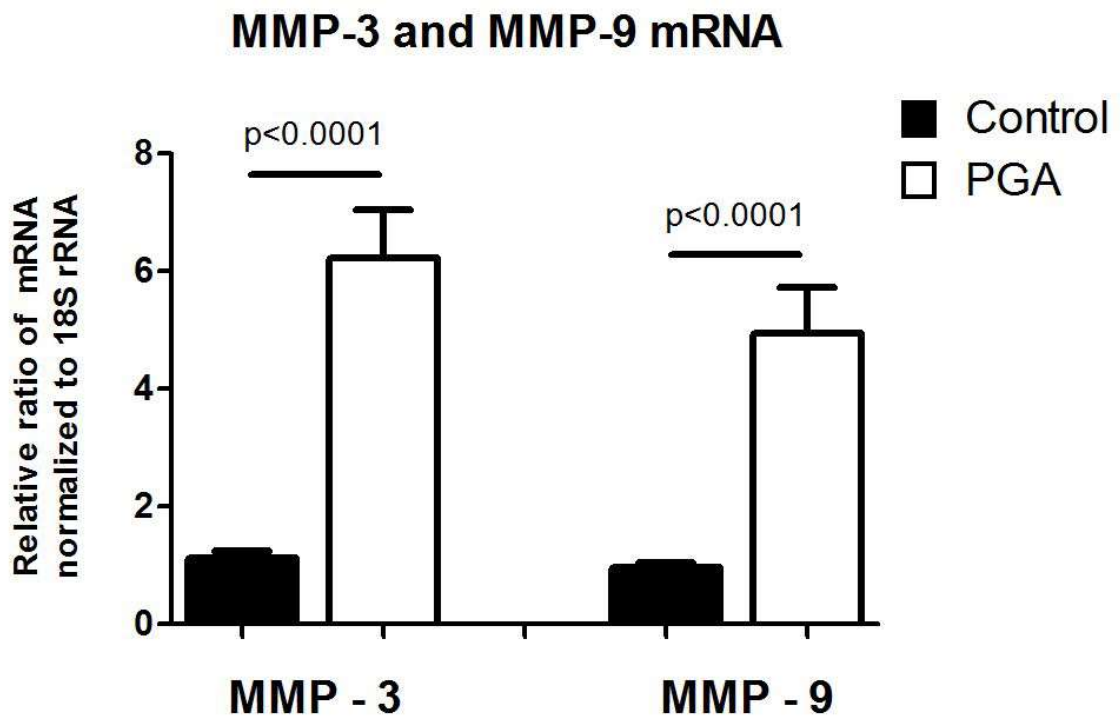


Abbildung 21: Die Realtime-PCR wurde angewandt um Unterschiede in der Expression von MMP-3 und MMP-9 zu messen. Es war eine signifikante Hochregulation von MMP-3 und MMP-9 bei den mit einem PGA behandelten Hornhäuten zu beobachten ($p < 0.0001$; n pro Gruppe=12).

5 Diskussion

PGAs gehören zu den First-Line-Medikamenten in der topischen Behandlung verschiedener Glaukomformen [25]. Sie haben kaum systemische Nebenwirkungen und sind deshalb auch für Patienten mit Begleiterkrankungen geeignet. Die einmal tägliche Anwendung der PGAs verbessert die Compliance der Patienten. [17, 25, 28] Zahlreiche Studien haben gezeigt, dass PGAs insbesondere beim primären Offenwinkelglaukom das Potenzial haben, den IOD um bis zu 25-35% des Ausgangswerts zu senken [25, 28, 64]. Man geht davon aus, dass dieser Effekt hauptsächlich durch eine Erhöhung des uveoskleralen Abflusses zustande kommt [65]. Dabei binden die PGAs an die Prostaglandin F (FP)-Rezeptoren, was zu einer Erweiterung des Ziliarmuskels und einer Dekompression des Gewebes führt, das die Zwischenräume zwischen den Fasern des Ziliarmuskels ausfüllt [66]. Bahler et al. konnten zeigen, dass PGAs auch den trabekulären Abfluss erhöhen [67]. Zudem gibt es zunehmend Belege, die darauf hinweisen, dass PGAs möglicherweise auch die biomechanischen Eigenschaften des okulären Gewebes verändern [59, 60, 68-70]. Der am besten untersuchte Parameter, der zu den biomechanischen Eigenschaften zählt, ist die CH, die ein Maß für die visköse Dämpfung ist und nach Spörl et al. vor allem durch den Gehalt und die Viskosität der Glykosaminoglykane und Proteoglykane sowie durch die Kollagen-Matrix-Wechselwirkungen verursacht wird [34, 36]. Zahlreiche Untersuchungen haben gezeigt, dass die CH vom IOD abhängt und bei Glaukom erniedrigt ist [34, 36, 53, 71-73]. Außerdem gibt es Hinweise, dass ein niedriger CH-Wert möglicherweise als ein unabhängiger Indikator für Glaukom und dessen Progression gesehen werden kann und somit ein hoher CH-Wert einen protektiven Faktor für das Fortschreiten einer Glaukomerkrankung darstellen könnte [34, 36, 53, 74].

Einige Studien haben gezeigt, dass die Behandlung mit einem PGA zu einer Erhöhung der CH führen könnte [69, 70, 75]. Eine erhöhte CH wiederum ist möglicherweise als zusätzlicher therapeutisch wirksamer Faktor in der Glaukomtherapie, neben der Senkung des IOD an sich, zu sehen [69, 70, 75].

Bolivar et al. untersuchten an 68 neu diagnostizierten Glaukompatienten den Effekt eines PGA auf die CH und konnten einen signifikanten Anstieg der CH nach einer sechsmonatigen PGA-Therapie feststellen [69]. Agarwal et al. zeigten in ihren Untersuchungen ebenfalls einen signifikanten Anstieg der CH unter Therapie mit einem PGA [75]. Sie beobachteten zusätzlich eine signifikant geringere Reduktion des IOD unter Therapie bei Patienten mit höheren basalen Hysteresewerten als bei denen mit niedrigeren basalen Hysteresewerten. Somit ist die Höhe der basalen CH möglicherweise ein prädiktiver Faktor für das Ausmaß der Drucksenkung. [75] Im Widerspruch dazu stehen die Ergebnisse einer Studie von Lazcano-Gomez et al. Die Gruppe untersuchte an zehn Neuseeland Kaninchen die Wirkung eines PGA auf den IOD und die biomechanischen Eigenschaften der Cornea. Die Messungen erfolgten mit dem ORA unter Anästhesie mit Pentobarbital vor einer dreimonatigen Behandlung und danach. Behandelt wurde jeweils nur das rechte Auge. Es zeigte sich eine signifikante Senkung des IOP_6 nach Gabe des PGA, jedoch keine Veränderungen der biomechanischen Eigenschaften. [76] Mögliche Gründe für diese Ergebnisse, die im Widerspruch zu anderen Untersuchungen stehen, sind die zu kurze Anwendungsdauer des PGA, die zu geringe Stichprobengröße sowie die Tatsache, dass es sich nicht um eine Studie an Menschen, sondern eine tierexperimentelle Studie handelt und korrelierende Daten zur Biomechanik der Hornhäute von Neuseeland Kaninchen und Menschen nicht verfügbar sind. [76]

Meda et al. untersuchten in ihrer Studie an 35 Glaukompatienten den Einfluss einer

Langzeittherapie mit PGAs auf die okuläre Biomechanik humanen Ursprungs. Sie beobachteten, dass die Beendigung einer PGA-Therapie bei Patienten, die zuvor über mindestens ein Jahr behandelt worden waren, zu einem Anstieg der CH führte. [77] Es wurden 35 Patienten mit einem primären Offenwinkelglaukom untersucht, die mit einer Monotherapie mit einem PGA über mindestens ein Jahr behandelt und gut eingestellt waren. Alle Patienten beendeten an einem Auge für sechs Wochen die PGA-Therapie und setzten sie am anderen Auge unverändert fort. Nach sechs Wochen wurde die Therapie an dem pausierten Auge wieder fortgesetzt. Am kontralateralen Kontrollauge wurde die Therapie nicht unterbrochen. Die Messungen der CCT, des IOD und der biomechanischen Eigenschaften erfolgten zu Beginn der Untersuchungen, sechs Wochen nach unilateralem Absetzen der Therapie, sowie nach weiteren sechs Wochen mit beidseitiger Therapie. Es zeigte sich nach sechswöchiger Therapiepause ein signifikanter Anstieg der CH, des CRF, der CCT und des IOD, der mit dem Goldmann-Appanationstonometer gemessen wurde. Diese Veränderungen waren nach Fortsetzung der Therapie komplett reversibel. Die Kontrollaugen zeigten keine Veränderungen. [77] Die Studien, die einen Anstieg der CH nach Therapie mit einem PGA beschreiben, wurden an Patienten durchgeführt, die zuvor nicht mit einem PGA behandelt worden waren [69, 70, 75], im Gegensatz zu den Patienten der Studie von Meda et al., die alle vor Beginn der Studie mindestens ein Jahr mit einem PGA vorbehandelt waren [77]. In weiteren Studien konnte gezeigt werden, dass es allein durch eine Senkung des IOD, beispielsweise durch eine medikamentöse Therapie oder durch eine operative Maßnahme, zu einem Anstieg der CH kommen kann [75, 78, 79]. Daher nahmen Meda et al. an, dass frühere Studien, die einen Anstieg der CH bei Patienten beobachteten, bei denen wegen eines primären Offenwinkelglaukoms eine Therapie mit einem PGA begonnen worden war,

einen Effekt beobachteten, der hauptsächlich ein Resultat der Reduktion des IOD war [77].

Deshalb war es das Ziel unserer Studie, den Effekt von PGAs auf humane Hornhäute bei unterschiedlichen intraokularen Drücken zu untersuchen. In der Studie verwendeten wir ein ex-vivo Glaukommodell, das wir in unserer Arbeitsgruppe erarbeitet haben. Es wurden humane Spenderhornhäute, die zuvor über 30 Tage mit einem PGA behandelt worden waren, in ein künstliches Vorderkammermodell eingespannt. Wir konnten zeigen, dass es durch die Behandlung mit einem PGA zu einem signifikanten Anstieg der CH um fast 25% kommt, im Vergleich zu den unbehandelten Kontrollen (s. Abb. 15). Wir konnten zudem zeigen, dass diese Veränderung der CH mit dem vorhandenen Augeninnendruck zusammenhängt. So zeigte sich, dass bei Druckwerten zwischen 10 und 20 mmHg in der künstlichen Vorderkammer kein signifikanter Unterschied in der CH zwischen beiden Gruppen gemessen werden konnte (s. Abb. 16).

Wir sahen jedoch einen signifikanten Unterschied in Bezug auf die CH als wir den Druck in der künstlichen Vorderkammer auf Werte zwischen 20 und 40 mmHg erhöhten. Dabei zeigte sich, dass die CH unter diesen Bedingungen von 11,6 mmHg auf 17,6 mmHg anstieg (s. Abb. 17). Diese Ergebnisse passen zu den klinisch detektierten Unterschieden in der Studie durch Meda et al. Auch hier konnte gezeigt werden, dass allein eine Drucksteigerung bereits eine Veränderung der CH bewirkt, wenn zuvor eine Behandlung mittels eines PGA stattgefunden hatte. [77]

Unsere Daten zeigen insgesamt, dass keine signifikante Veränderung der CH allein aufgrund einer Drucksteigerung zu sehen war (s. Abb. 18), die Veränderung der CH bei mit PGA behandelten Hornhäuten jedoch bei höherem Augeninnendruck vermehrt zum Tragen kam (s. Abb. 17).

Diese Ergebnisse weisen darauf hin, dass PGAs einen Effekt auf die strukturelle Integrität der Cornea haben, der besonders bei hohen intraokularen Druckwerten eine Rolle spielt.

Unsere Ergebnisse stehen daher mit den klinischen Ergebnissen von Meda et al. in Einklang, die zeigten, dass bei Patienten nach Beendigung einer PGA-Therapie ein Anstieg der CH zu beobachten war, während gleichzeitig auch der IOD anstieg [77]. Die hier vorgestellten Daten stützen die Hypothese, dass PGAs einen Einfluss auf den IOD und auf die CH haben. Der Effekt auf die CH ist jedoch stark vom IOD abhängig und nimmt bei den mit PGA behandelten Hornhäuten ab, sobald der IOD sinkt.

Es gibt Untersuchungen die zeigen, dass es bei gesunden Augen eine positive Korrelation zwischen der CH und der CCT gibt [34, 36, 73]. Bezüglich der Auswirkung von PGAs auf die CCT gibt es unterschiedliche Ansichten: Zhong et al. zeigten, dass eine topische Therapie mit PGAs assoziiert ist mit einer Abnahme der CCT [80]. Tsikripis et al. beobachteten einen Anstieg der CCT unter der Therapie mit einem PGA [70]. In unserer Studie gab es zwischen den beiden Gruppen keinen statistisch signifikanten Unterschied der CCT, so dass es nicht nötig war, die Messungen des IOD an die CCT anzupassen (s. Abb. 14).

Um weiter zu untersuchen, ob es trotz der Tatsache, dass sich die CCT nicht unterscheidet, nach einer Therapie mit einem PGA strukturelle Veränderungen in der Cornea gibt, untersuchten wir die Expression und Anwesenheit von Faktoren, die üblicherweise mit cornealer Biomechanik assoziiert sind.

Die Biomechanik des okulären Gewebes, einschließlich der Cornea, wird bestimmt durch Interaktionen von Gewebebestandteilen mit unterschiedlichen biomechanischen Eigenschaften [30]. Die biomechanischen Eigenschaften der Cornea werden, ebenso wie die der Sklera, hauptsächlich durch Kollagen-Matrix-Wechselwirkungen geprägt [30]. Die Cornea

ist ein viskoelastisches Gewebe, das aus elastischen Kollagenfasern und visköser Grundsubstanz besteht, die zusammen die EZM bilden [30, 33]. Kollagen I, III, V und VI sind insbesondere im Stroma exprimiert. Kollagen IV und VII sind in der epithelialen Basalmembran und Kollagen IV und VIII in der endothelialen Basalmembran reichlich exprimiert. [81-89]

Es konnte gezeigt werden, dass eine strukturelle Beziehung zwischen der Cornea und dem Bindegewebe des Sehnervenkopfs besteht [54, 90] und es wurde eine Verbindung zwischen dem biomechanischen Verhalten der Cornea und dem funktionellen Verhalten der Lamina cribrosa angenommen [54]. Wells et al. konnten nachweisen, dass bei zunehmendem Druck die Lamina cribrosa bei Glaukompatienten eine geringere Compliance aufweist im Vergleich zu gesunden Augen und sie korrelierten diesen Zusammenhang mit der CH. Wenn die CH groß war, konnte bei Druckerhöhung eine starke Verformbarkeit des Sehnervenkopfs gemessen werden. [55] Bei einem Glaukom ist die CH erniedrigt, der Sehnervenkopf weniger verformbar und somit die Lamina cribrosa fester [55]. Bochman et al. konnten zeigen, dass die CH bei Glaukompatienten mit einer erworbenen Grubenbildung im Bereich des Sehnervenkopfs signifikant niedriger war als bei denen ohne Grubenbildung [74]. Eine vermehrte visköse Dämpfung des Gewebes könnte möglicherweise positive Auswirkungen auf glaukomatöse Augen haben, da die erhöhten Dämpfungseigenschaften die Spannung reduzieren, die durch den erhöhten Druck im Auge auf den Sehnervenkopf wirkt. Wenn eine verminderte CH nicht durch eine generelle Ausdünnung der cornealen Struktur verursacht wird, wie wir in der ultraschallgestützten Dickenmessung im Rahmen unserer Studie zeigen konnten (s. Abb. 14), ist anzunehmen, dass möglicherweise andere strukturelle Umbauprozesse des cornealen Gewebes ursächlich dafür sind.

MMPs sind Enzyme, die fast alle Proteine der EZM abbauen. Sie spielen deshalb eine wichtige Rolle im Umsatz der EZM und somit für die corneale Biomechanik. [30, 33, 39, 47] In glaukomatösen Augen findet sich eine Akkumulation von EZM [56]. Rönkkö et al. konnten zeigen, dass es bei einem Glaukom zu einer Dysbalance zwischen der Expression von MMPs und ihren Inhibitoren (TIMPs) kommt [44]. Außerdem gibt es Untersuchungen, die zeigen, dass es bei einem Glaukom zu einer verminderten Expression von MMPs kommt [49]. Möglicherweise kommt es daher zu einer Akkumulation der EZM und in Folge dessen zu einer vermehrten Rigidität des okulären Gewebes und so zu einer erhöhten Verletzlichkeit der neuronalen Strukturen bei Druckerhöhung.

MMP-3, auch bekannt als Stromelysin-1, und MMP-9 sind zwei Mitglieder dieser Gruppe von Enzymen [39, 47]. MMP-3 baut Kollagen Typ II, III, IV, IX und X ab sowie Proteoglykane, Gelatin, Fibronectin, Laminin und Elastin [39, 40, 44, 47, 91]. MMP-9, auch bekannt als 92 kDa Typ IV Kollagenase, 92 kDa Gelatinase oder Gelatinase B (GELB) baut Kollagen Typ I, III, IV, V, VII, X und XIV ab sowie Gelatin, Laminin, Fibronectin und Elastin [39, 41, 47, 92-98].

In unseren Untersuchungen konnten wir zeigen, dass es nach der Behandlung mit einem PGA zu einer signifikanten Erhöhung der Expression von MMP-3 und MMP-9 in den Spenderhornhäuten kam, verglichen mit den unbehandelten Kontrollen (s. Abb. 19, 20 und 21). Sowohl die qualitativen immunhistochemischen Experimente, die zeigten, dass die Proteinexpression von MMP-3 (s. Abb. 19) und MMP-9 (s. Abb. 20) bei den mit einem PGA vorbehandelten Hornhäuten erhöht war, als auch die Ergebnisse der quantitativen mRNA-Messungen, die wir nach Präparation der Hornhäute und Durchführung einer RT-PCR erhielten, stützen diese Erkenntnisse. In diesen Messungen konnten wir eine starke Induktion der Expression von MMP-3 und MMP-9 bei den mit PGA behandelten Hornhäuten erfassen,

verglichen mit den unbehandelten Kontrollen (s. Abb. 21). Die erhöhte MMP-Expression, verursacht durch die Behandlung mit einem PGA, könnte also einen stärkeren Abbau der EZM induzieren und somit einen Anstieg der CH bewirken. Diese Theorie wird auch durch die Ergebnisse von Weinreb et al. gestützt, die zeigen konnten, dass eine Therapie mittels PGAs auch zu einer Reduktion der EZM im Kammerwinkel führt [66]. Weinreb et al. konnten darüber hinaus nachweisen, dass die topische Anwendung eines PGA zu einer vermehrten Expression von MMPs in den Muskelzellen des Ziliarkörpers führt [59]. Diese Beobachtung stützt die Hypothese, dass eine vermehrte Expression von MMPs in den Muskelzellen des Ziliarkörpers nach Anwendung eines PGA bei der Erhöhung des uveoskleralen Abflusses eine Rolle spielt [59]. Es konnte auch gezeigt werden, dass PGAs die MMP-Genexpression in der Sklera erhöhen [60]. Ito et al. fanden, dass PGAs das Gleichgewicht zwischen MMPs und TIMPs beeinflussen und so den Abbau der EZM im okulären Gewebe stimulieren [58].

Es konnte so mehrfach nachgewiesen werden, dass es nach Applikation eines PGA zu Remodelingprozessen in der EZM und zu einem vermehrten Abbau der EZM kommt [58-60, 66]. Geht man von einem strukturellen und funktionellen Zusammenhang zwischen Cornea, Sklera und Lamina cribrosa aus [54, 55, 90], kommt es in allen Teilen des okulären Gewebes zu diesen strukturellen Veränderungen. Möglicherweise kommt es durch den vermehrten Abbau der EZM zu Veränderungen der okulären Biomechanik, die durch die Kollagen-Matrix-Wechselwirkungen bestimmt wird. Somit ist anzunehmen, dass die Erhöhung der CH, die man nach der Anwendung eines PGA messen kann, ein Zeichen für die Verbesserung der viskösen Dämpfung des okulären Gewebes ist. Durch eine Erhöhung der dämpfenden Eigenschaften, auch im Bereich der Lamina cribrosa, werden möglicherweise die Nervenfasern des Sehnervs vor Druckschäden geschützt. Durch die klinischen Ergebnisse

lässt sich letztlich nicht sagen, ob die veränderte CH durch die Langzeittherapie mit einem PGA bei gleichen Druckwerten zu einer verlangsamten Progression von glaukomatösen Schäden führen kann. Legt man die Ergebnisse unserer Studie zu Grunde, die zeigen, dass die Erhöhung der viskösen Dämpfung unter PGA-Therapie bei hohen intraokularen Druckwerten verstärkt zum Tragen kommt, könnte es sein, dass der Sehnerv unter PGA-Therapie durch die verbesserte Dämpfung, insbesondere bei intraokularen Druckspitzen, geschützt wird.

Trotz dieser vielversprechenden Ergebnisse besteht eine Reihe von Faktoren, die die Ergebnisse dieser Studie limitieren. Diese beinhaltet, dass die präsentierten Daten von einem experimentellen Ansatz abgeleitet wurden und die Zahl der untersuchten Hornhäute relativ niedrig ist. Deshalb bedarf es weiterer experimenteller und klinischer Studien, um den Effekt auf MMPs und weitere Faktoren, die stark mit den biomechanischen Eigenschaften der Cornea assoziiert sind, zu beurteilen und um so unsere experimentellen Ergebnisse zu belegen.

Unsere Ergebnisse sind, soweit wir wissen, die ersten, die zeigen, dass der Anstieg der CH bei mit PGA behandelten Hornhäuten abhängig ist vom IOD und nicht andersherum. Wir konnten auch beobachten, dass mit PGA behandelte Hornhäute ex vivo eine direkte Hochregulation der MMP-Expression, also von wichtigen Regulatoren der biomechanischen Eigenschaften, zeigen. Diese Ergebnisse, zusammen mit der Tatsache, dass es für andere Substanzklassen aus der antiglaukomatösen Therapie nur wenige Daten bezüglich einer Beeinflussung der CH gibt, was wir erwarten würden, wenn die Reduktion des IOD selbst die CH verändern würde, lässt uns vermuten, dass Augentropfen mit PGAs tatsächlich einen direkten Effekt auf eine Erhöhung der CH ausüben. Dieser Effekt, dem im Rahmen eines Glaukoms positive Eigenschaften nachgesagt werden, wird bei erhöhtem IOD noch verstärkt.

6 Zusammenfassung

Das Glaukom ist eine der Hauptursachen für Erblindung und Sehminderung weltweit. Da Inzidenz und Prävalenz durch die veränderte Demographie in den nächsten Jahren zunehmen werden, gewinnen Diagnostik und Therapie der Erkrankung zunehmend an Bedeutung. Die Erkrankung ist charakterisiert durch den Verlust von retinalen Ganglienzellen, eine Exkavation des Sehnervenkopfs und die daraus resultierenden Gesichtsfelddefekte. Der Hauptrisikofaktor für Entstehung und Progression dieser chronischen Neuropathie des Sehnervs ist ein erhöhter intraokularer Druck. Ursächlich ist ein verminderter Kammerwasserabfluss bedingt durch strukturelle Veränderungen im Trabekelmaschenwerk, die den Kammerwasserabflusswiderstand erhöhen. Das Glaukom ist eine häufige Ursache für Erblindung im erwerbsfähigen Alter. Das Tückische an der Erkrankung ist, dass die Veränderungen von den Patienten erst sehr spät wahrgenommen werden. Die Therapie stützt sich auf medikamentöse und operative Ansätze. Bei der medikamentösen Therapie zählen neben Beta-Blockern auch Prostaglandinanaloga zu den First-Line-Medikamenten. Letzteren wird neben der drucksenkenden Wirkung durch die Erhöhung des uveoskleralen Abflusses, auch ein Effekt über die Erhöhung der cornealen Hysterese zugesprochen. In der vorliegenden Arbeit konnte in einem neuartigen ex-vivo-Modell unter Verwendung von humanen Hornhäuten gezeigt werden, dass mit Prostaglandinanaloga ein positiver Effekt auf die corneale Hysterese durch Regulation von Matrixmetalloproteinasen erreicht werden kann. Jedoch zeigt sich dieser Effekt vornehmlich bei hohen intraokularen Druckwerten, so dass weitere klinische Studien nötig sein werden, um den tatsächlichen Effekt der durch Prostaglandinanaloga gesteigerten cornealen Hysterese bei statistisch normwertigen

intraokularen Druckwerten im Rahmen einer Glaukomerkrankung zu untersuchen.

7 Abkürzungsverzeichnis

CCT	central corneal thickness (zentrale Hornhautdicke)
CH	corneale Hysterese
CRF	cornealer Resistenzfaktor (Widerstandsfaktor)
EZM	extrazelluläre Matrix
HDC	humane Spenderhornhaut
IOD	intraokularer Druck
IOP	intraocular pressure
IOP_{cc}	corneal compensated intraocular pressure (corneal korrigierter intraokularer Druck)
IOP_G	Goldmann-korrelierter intraokularer Druck
MMP	Matrixmetalloproteinase
ORA	Ocular Response Analyzer
PBS	phosphate buffered saline (phosphatgepufferte Salzlösung)
PGA	Prostaglandinanalogen
RNA	Ribonukleinsäure
mRNA	messenger RNA
rRNA	ribosomale RNA
RT-PCR	Realtime-PCR (Polymerase-Kettenreaktion in Echtzeit)
SD	Standardabweichung
SEM	Standardfehler
TIMP	tissue inhibitor of metalloproteinases

8 Literaturverzeichnis

1. Casson RJ, Chidlow G, Wood JP, Crowston JG, Goldberg I (2012) Definition of glaucoma: clinical and experimental concepts. *Clinical & experimental ophthalmology* 40: 341-349 DOI 10.1111/j.1442-9071.2012.02773.x
2. Grehn F (2012) *Augenheilkunde*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, Berlin Heidelberg
3. Van Buskirk EM, Cioffi GA (1992) Glaucomatous optic neuropathy. *American journal of ophthalmology* 113: 447-452
4. (2017) European Glaucoma Society Terminology and Guidelines for Glaucoma, 4th Edition - Chapter 2: Classification and terminology. *The British journal of ophthalmology* 101: 73-127 DOI 10.1136/bjophthalmol-2016-EGSguideline.002
5. (2016) [Position statement of the German Ophthalmological Society on early recognition of glaucoma: August 2015]. *Der Ophthalmologe : Zeitschrift der Deutschen Ophthalmologischen Gesellschaft* 113: 30-34 DOI 10.1007/s00347-015-0180-x
6. Kass MA, Heuer DK, Higginbotham EJ, Johnson CA, Keltner JL, Miller JP, Parrish RK, 2nd, Wilson MR, Gordon MO (2002) The Ocular Hypertension Treatment Study: a randomized trial determines that topical ocular hypotensive medication delays or prevents the onset of primary open-angle glaucoma. *Archives of ophthalmology (Chicago, Ill : 1960)* 120: 701-713; discussion 829-830
7. Heijl A, Leske MC, Bengtsson B, Hyman L, Bengtsson B, Hussein M (2002) Reduction of intraocular pressure and glaucoma progression: results from the Early Manifest Glaucoma Trial. *Archives of ophthalmology (Chicago, Ill : 1960)* 120: 1268-1279
8. Kingman S (2004) Glaucoma is second leading cause of blindness globally. *Bulletin of the World Health Organization* 82: 887-888 DOI /S0042-96862004001100019
9. Tham YC, Li X, Wong TY, Quigley HA, Aung T, Cheng CY (2014) Global prevalence of glaucoma and projections of glaucoma burden through 2040: a systematic review and meta-analysis. *Ophthalmology* 121: 2081-2090 DOI 10.1016/j.ophtha.2014.05.013
10. Traverso CE, Walt JG, Kelly SP, Hommer AH, Bron AM, Denis P, Nordmann JP, Renard JP, Bayer A, Grehn F, Pfeiffer N, Cedrone C, Gandolfi S, Orzalesi N, Nucci C, Rossetti L, Azuara-Blanco A, Bagnis A, Hitchings R, Salmon JF, Bricola G, Buchholz PM, Kotak SV, Katz LM, Siegartel LR, Doyle JJ (2005) Direct costs of glaucoma and severity of the disease: a multinational long term study of resource utilisation in Europe. *The British*

journal of ophthalmology 89: 1245-1249 DOI 10.1136/bjo.2005.067355

11. Krakau CE (1981) Intraocular pressure elevation-cause or effect in chronic glaucoma? *Ophthalmologica Journal international d'ophtalmologie International journal of ophthalmology Zeitschrift fur Augenheilkunde* 182: 141-147
12. Bonomi L, Marchini G, Marraffa M, Morbio R (2001) The relationship between intraocular pressure and glaucoma in a defined population. Data from the Egna-Neumarkt Glaucoma Study. *Ophthalmologica Journal international d'ophtalmologie International journal of ophthalmology Zeitschrift fur Augenheilkunde* 215: 34-38 DOI 50823
13. Schmidl D, Schmetterer L, Garhofer G, Popa-Cherecheanu A (2015) Pharmacotherapy of glaucoma. *Journal of ocular pharmacology and therapeutics : the official journal of the Association for Ocular Pharmacology and Therapeutics* 31: 63-77 DOI 10.1089/jop.2014.0067
14. (2017) European Glaucoma Society Terminology and Guidelines for Glaucoma, 4th Edition - Chapter 1. *The British journal of ophthalmology* 101: 1-72 DOI 10.1136/bjophthalmol-2016-EGSguideline.001
15. Alvarado J, Murphy C, Juster R (1984) Trabecular meshwork cellularity in primary open-angle glaucoma and nonglaucomatous normals. *Ophthalmology* 91: 564-579
16. Rohen JW, Lutjen-Drecoll E, Flugel C, Meyer M, Grierson I (1993) Ultrastructure of the trabecular meshwork in untreated cases of primary open-angle glaucoma (POAG). *Experimental eye research* 56: 683-692
17. Distelhorst JS, Hughes GM (2003) Open-angle glaucoma. *American family physician* 67: 1937-1944
18. Tatton WG, Chalmers-Redman RM, Tatton NA (2001) Apoptosis and anti-apoptosis signalling in glaucomatous retinopathy. *European journal of ophthalmology* 11 Suppl 2: 12-22
19. Gloor BR (2010) Hans Goldmann (1899-1991). *European journal of ophthalmology* 20: 1-11
20. Alguire PC (1990) Tonometry. In: Walker HK, Hall WD, Hurst JW (eds) *Clinical Methods: The History, Physical, and Laboratory Examinations*. Butterworth Publishers, a division of Reed Publishing., Boston: Butterworth.
21. Bang SP, Lee CE, Kim YC (2017) Comparison of intraocular pressure as measured by three different non-contact tonometers and goldmann applanation tonometer for non-glaucomatous subjects. *BMC ophthalmology* 17: 199 DOI 10.1186/s12886-017-

22. Kohlhaas M, Boehm AG, Spoerl E, Pursten A, Grein HJ, Pillunat LE (2006) Effect of central corneal thickness, corneal curvature, and axial length on applanation tonometry. *Archives of ophthalmology (Chicago, Ill : 1960)* 124: 471-476 DOI 10.1001/archophth.124.4.471
23. Lleo A, Marcos A, Calatayud M, Alonso L, Rahhal SM, Sanchis-Gimeno JA (2003) The relationship between central corneal thickness and Goldmann applanation tonometry. *Clinical & experimental optometry* 86: 104-108
24. Broman AT, Congdon NG, Bandeen-Roche K, Quigley HA (2007) Influence of corneal structure, corneal responsiveness, and other ocular parameters on tonometric measurement of intraocular pressure. *Journal of glaucoma* 16: 581-588 DOI 10.1097/IJG.0b013e3180640f40
25. (2017) European Glaucoma Society Terminology and Guidelines for Glaucoma, 4th Edition - Chapter 3: Treatment principles and options. *The British journal of ophthalmology* 101: 130-195 DOI 10.1136/bjophthalmol-2016-EGSguideline.003
26. Garway-Heath DF, Crabb DP, Bunce C, Lascaratos G, Amalfitano F, Anand N, Azuara-Blanco A, Bourne RR, Broadway DC, Cunliffe IA, Diamond JP, Fraser SG, Ho TA, Martin KR, McNaught AI, Negi A, Patel K, Russell RA, Shah A, Spry PG, Suzuki K, White ET, Wormald RP, Xing W, Zeyen TG (2015) Latanoprost for open-angle glaucoma (UKGTS): a randomised, multicentre, placebo-controlled trial. *Lancet (London, England)* 385: 1295-1304 DOI 10.1016/s0140-6736(14)62111-5
27. Lee DA, Higginbotham EJ (2005) Glaucoma and its treatment: a review. *American journal of health-system pharmacy : AJHP : official journal of the American Society of Health-System Pharmacists* 62: 691-699
28. Arranz-Marquez E, Teus MA (2008) Prostanoids for the management of glaucoma. *Expert opinion on drug safety* 7: 801-808 DOI 10.1517/14740330802465474
29. Boland MV, Ervin AM, Friedman DS, Jampel HD, Hawkins BS, Vollenweider D, Chelladurai Y, Ward D, Suarez-Cuervo C, Robinson KA (2013) Comparative effectiveness of treatments for open-angle glaucoma: a systematic review for the U.S. Preventive Services Task Force. *Annals of internal medicine* 158: 271-279 DOI 10.7326/0003-4819-158-4-201302190-00008
30. Lombardo M, Lombardo G, Carbone G, De Santo MP, Barberi R, Serrao S (2012) Biomechanics of the anterior human corneal tissue investigated with atomic force microscopy. *Investigative ophthalmology & visual science* 53: 1050-1057 DOI 10.1167/iovs.11-8720

31. Dupps WJ, Jr., Wilson SE (2006) Biomechanics and wound healing in the cornea. *Experimental eye research* 83: 709-720 DOI 10.1016/j.exer.2006.03.015
32. Glass DH, Roberts CJ, Litsky AS, Weber PA (2008) A viscoelastic biomechanical model of the cornea describing the effect of viscosity and elasticity on hysteresis. *Investigative ophthalmology & visual science* 49: 3919-3926 DOI 10.1167/iovs.07-1321
33. Brown KE, Congdon NG (2006) Corneal structure and biomechanics: impact on the diagnosis and management of glaucoma. *Current opinion in ophthalmology* 17: 338-343 DOI 10.1097/01.icu.0000233951.01971.5b
34. Spörl E, Terai N, Haustein M, Bohm AG, Raiskup-Wolf F, Pillunat LE (2009) [Biomechanical condition of the cornea as a new indicator for pathological and structural changes]. *Der Ophthalmologe : Zeitschrift der Deutschen Ophthalmologischen Gesellschaft* 106: 512-520 DOI 10.1007/s00347-008-1910-0
35. Pschyrembel W, Dornblüth O, Hildebrandt H (1994) *Pschyrembel Klinisches Wörterbuch*. Walter de Gruyter, Berlin, pp. 1641.
36. Schroeder B, Hager A, Kutschan A, Wiegand W (2008) [Measurement of viscoelastic corneal parameters (corneal hysteresis) in patients with primary open angle glaucoma]. *Der Ophthalmologe : Zeitschrift der Deutschen Ophthalmologischen Gesellschaft* 105: 916-920 DOI 10.1007/s00347-008-1690-6
37. Kirwan C, O'Keefe M, Lanigan B (2006) Corneal hysteresis and intraocular pressure measurement in children using the reichert ocular response analyzer. *American journal of ophthalmology* 142: 990-992 DOI 10.1016/j.ajo.2006.07.058
38. Kouchaki B, Hashemi H, Yekta A, Khabazkhoob M (2017) Comparison of current tonometry techniques in measurement of intraocular pressure. *Journal of current ophthalmology* 29: 92-97 DOI 10.1016/j.joco.2016.08.010
39. Visse R, Nagase H (2003) Matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases: structure, function, and biochemistry. *Circulation research* 92: 827-839 DOI 10.1161/01.res.0000070112.80711.3d
40. Okada Y, Nagase H, Harris ED, Jr. (1986) A metalloproteinase from human rheumatoid synovial fibroblasts that digests connective tissue matrix components. Purification and characterization. *The Journal of biological chemistry* 261: 14245-14255
41. Murphy G, Ward R, Hembry RM, Reynolds JJ, Kuhn K, Tryggvason K (1989) Characterization of gelatinase from pig polymorphonuclear leucocytes. A metalloproteinase resembling tumour type IV collagenase. *The Biochemical journal* 258: 463-472

42. Nagase H, Visse R, Murphy G (2006) Structure and function of matrix metalloproteinases and TIMPs. *Cardiovascular research* 69: 562-573 DOI 10.1016/j.cardiores.2005.12.002
43. Valimaki J, Uusitalo H (2015) Matrix metalloproteinases (MMP-1, MMP-2, MMP-3 and MMP-9, and TIMP-1, TIMP-2 and TIMP-3) and markers for vascularization in functioning and non-functioning bleb capsules of glaucoma drainage implants. *Acta ophthalmologica* 93: 450-456 DOI 10.1111/aos.12654
44. Rönkkö S, Rekonen P, Kaarniranta K, Puustjarvi T, Terasvirta M, Uusitalo H (2007) Matrix metalloproteinases and their inhibitors in the chamber angle of normal eyes and patients with primary open-angle glaucoma and exfoliation glaucoma. *Graefe's archive for clinical and experimental ophthalmology = Albrecht von Graefes Archiv fur klinische und experimentelle Ophthalmologie* 245: 697-704 DOI 10.1007/s00417-006-0440-1
45. Agarwal R, Agarwal P (2010) Future target molecules in antiglaucoma therapy: tgf-Beta may have a role to play. *Ophthalmic research* 43: 1-10 DOI 10.1159/000246571
46. Hernandez MR (2000) The optic nerve head in glaucoma: role of astrocytes in tissue remodeling. *Progress in retinal and eye research* 19: 297-321
47. Kerrigan JJ, Mansell JP, Sandy JR (2000) Matrix turnover. *Journal of orthodontics* 27: 227-233 DOI 10.1179/ortho.27.3.227
48. Dollery CM, McEwan JR, Henney AM (1995) Matrix metalloproteinases and cardiovascular disease. *Circulation research* 77: 863-868
49. Schlotzer-Schrehardt U, Lommatzsch J, Kuchle M, Konstas AG, Naumann GO (2003) Matrix metalloproteinases and their inhibitors in aqueous humor of patients with pseudoexfoliation syndrome/glaucoma and primary open-angle glaucoma. *Investigative ophthalmology & visual science* 44: 1117-1125
50. Ashworth Briggs EL, Toh T, Eri R, Hewitt AW, Cook AL (2015) TIMP1, TIMP2, and TIMP4 are increased in aqueous humor from primary open angle glaucoma patients. *Molecular vision* 21: 1162-1172
51. Albon J, Purslow PP, Karwatowski WS, Easty DL (2000) Age related compliance of the lamina cribrosa in human eyes. *The British journal of ophthalmology* 84: 318-323
52. Zeimer RC, Ogura Y (1989) The relation between glaucomatous damage and optic nerve head mechanical compliance. *Archives of ophthalmology (Chicago, Ill : 1960)* 107: 1232-1234
53. Congdon NG, Broman AT, Bandeen-Roche K, Grover D, Quigley HA (2006) Central

- corneal thickness and corneal hysteresis associated with glaucoma damage. *American journal of ophthalmology* 141: 868-875 DOI 10.1016/j.ajo.2005.12.007
54. Lesk MR, Hafez AS, Descovich D (2006) Relationship between central corneal thickness and changes of optic nerve head topography and blood flow after intraocular pressure reduction in open-angle glaucoma and ocular hypertension. *Archives of ophthalmology (Chicago, Ill : 1960)* 124: 1568-1572 DOI 10.1001/archophth.124.11.1568
 55. Wells AP, Garway-Heath DF, Poostchi A, Wong T, Chan KC, Sachdev N (2008) Corneal hysteresis but not corneal thickness correlates with optic nerve surface compliance in glaucoma patients. *Investigative ophthalmology & visual science* 49: 3262-3268 DOI 10.1167/iovs.07-1556
 56. Crawford Downs J, Roberts MD, Sigal IA (2011) Glaucomatous cupping of the lamina cribrosa: a review of the evidence for active progressive remodeling as a mechanism. *Experimental eye research* 93: 133-140 DOI 10.1016/j.exer.2010.08.004
 57. Rhee DJ, Haddadin RI, Kang MH, Oh DJ (2009) Matricellular proteins in the trabecular meshwork. *Experimental eye research* 88: 694-703 DOI 10.1016/j.exer.2008.11.032
 58. Ito T, Ohguro H, Mamiya K, Ohguro I, Nakazawa M (2006) Effects of antiglaucoma drops on MMP and TIMP balance in conjunctival and subconjunctival tissue. *Investigative ophthalmology & visual science* 47: 823-830 DOI 10.1167/iovs.05-0902
 59. Weinreb RN, Kashiwagi K, Kashiwagi F, Tsukahara S, Lindsey JD (1997) Prostaglandins increase matrix metalloproteinase release from human ciliary smooth muscle cells. *Investigative ophthalmology & visual science* 38: 2772-2780
 60. Weinreb RN, Lindsey JD, Marchenko G, Marchenko N, Angert M, Strongin A (2004) Prostaglandin FP agonists alter metalloproteinase gene expression in sclera. *Investigative ophthalmology & visual science* 45: 4368-4377 DOI 10.1167/iovs.04-0413
 61. Lopilly Park HY, Kim JH, Lee KM, Park CK (2012) Effect of prostaglandin analogues on tear proteomics and expression of cytokines and matrix metalloproteinases in the conjunctiva and cornea. *Experimental eye research* 94: 13-21 DOI 10.1016/j.exer.2011.10.017
 62. (2004) World Medical Association Declaration of Helsinki: ethical principles for medical research involving human subjects. *Journal international de bioethique = International journal of bioethics* 15: 124-129
 63. Chomczynski P, Sacchi N (1987) Single-step method of RNA isolation by acid guanidinium thiocyanate-phenol-chloroform extraction. *Analytical biochemistry* 162:

156-159 DOI 10.1006/abio.1987.9999

64. Parrish RK, Palmberg P, Sheu WP (2003) A comparison of latanoprost, bimatoprost, and travoprost in patients with elevated intraocular pressure: a 12-week, randomized, masked-evaluator multicenter study. *American journal of ophthalmology* 135: 688-703
65. Toris CB, Camras CB, Yablonski ME (1993) Effects of PhXA41, a new prostaglandin F2 alpha analog, on aqueous humor dynamics in human eyes. *Ophthalmology* 100: 1297-1304
66. Weinreb RN, Toris CB, Gabelt BT, Lindsey JD, Kaufman PL (2002) Effects of prostaglandins on the aqueous humor outflow pathways. *Survey of ophthalmology* 47 Suppl 1: 53-64
67. Bahler CK, Howell KG, Hann CR, Fautsch MP, Johnson DH (2008) Prostaglandins increase trabecular meshwork outflow facility in cultured human anterior segments. *American journal of ophthalmology* 145: 114-119 DOI 10.1016/j.ajo.2007.09.001
68. Sagara T, Gatton DD, Lindsey JD, Gabelt BT, Kaufman PL, Weinreb RN (1999) Topical prostaglandin F2alpha treatment reduces collagen types I, III, and IV in the monkey uveoscleral outflow pathway. *Archives of ophthalmology (Chicago, Ill : 1960)* 117: 794-801
69. Bolivar G, Sanchez-Barahona C, Teus M, Castejon MA, Paz-Moreno-Arrones J, Gutierrez-Ortiz C, Mikropoulos DG (2015) Effect of topical prostaglandin analogues on corneal hysteresis. *Acta ophthalmologica* 93: e495-498 DOI 10.1111/aos.12689
70. Tsikripis P, Papaconstantinou D, Koutsandrea C, Apostolopoulos M, Georgalas I (2013) The effect of prostaglandin analogs on the biomechanical properties and central thickness of the cornea of patients with open-angle glaucoma: a 3-year study on 108 eyes. *Drug design, development and therapy* 7: 1149-1156 DOI 10.2147/dddt.s50622
71. Hirneiss C, Neubauer AS, Yu A, Kampik A, Kernt M (2011) Corneal biomechanics measured with the ocular response analyser in patients with unilateral open-angle glaucoma. *Acta ophthalmologica* 89: e189-192 DOI 10.1111/j.1755-3768.2010.02093.x
72. Ang GS, Bochmann F, Townend J, Azuara-Blanco A (2008) Corneal biomechanical properties in primary open angle glaucoma and normal tension glaucoma. *Journal of glaucoma* 17: 259-262 DOI 10.1097/IJG.0b013e31815c3a93
73. Mangouritsas G, Morphis G, Mourtzoukos S, Feretis E (2009) Association between corneal hysteresis and central corneal thickness in glaucomatous and non-glaucomatous eyes. *Acta ophthalmologica* 87: 901-905 DOI 10.1111/j.1755-

3768.2008.01370.x

74. Bochmann F, Ang GS, Azuara-Blanco A (2008) Lower corneal hysteresis in glaucoma patients with acquired pit of the optic nerve (APON). *Graefe's archive for clinical and experimental ophthalmology = Albrecht von Graefes Archiv fur klinische und experimentelle Ophthalmologie* 246: 735-738 DOI 10.1007/s00417-007-0756-5
75. Agarwal DR, Ehrlich JR, Shimmyo M, Radcliffe NM (2012) The relationship between corneal hysteresis and the magnitude of intraocular pressure reduction with topical prostaglandin therapy. *The British journal of ophthalmology* 96: 254-257 DOI 10.1136/bjo.2010.196899
76. Lazcano-Gomez G, Ancona-Lezama D, Gil-Carrasco F, Jimenez-Roman J (2016) Effects of topical travoprost 0.004% on intraocular pressure and corneal biomechanical properties in an animal model. *Digital journal of ophthalmology : DJO* 22: 1-5 DOI 10.5693/djo.01.2015.03.001
77. Meda R, Wang Q, Paoloni D, Harasymowycz P, Brunette I (2017) The impact of chronic use of prostaglandin analogues on the biomechanical properties of the cornea in patients with primary open-angle glaucoma. *The British journal of ophthalmology* 101: 120-125 DOI 10.1136/bjophthalmol-2016-308432
78. Iordanidou V, Hamard P, Gendron G, Labbe A, Raphael M, Baudouin C (2010) Modifications in corneal biomechanics and intraocular pressure after deep sclerectomy. *Journal of glaucoma* 19: 252-256 DOI 10.1097/IJG.0b013e3181aff419
79. Sun L, Shen M, Wang J, Fang A, Xu A, Fang H, Lu F (2009) Recovery of corneal hysteresis after reduction of intraocular pressure in chronic primary angle-closure glaucoma. *American journal of ophthalmology* 147: 1061-1066, 1066.e1061-1062 DOI 10.1016/j.ajo.2009.01.008
80. Zhong Y, Shen X, Yu J, Tan H, Cheng Y (2011) The comparison of the effects of latanoprost, travoprost, and bimatoprost on central corneal thickness. *Cornea* 30: 861-864 DOI 10.1097/ICO.0b013e3182000c27
81. Zimmermann DR, Fischer RW, Winterhalter KH, Witmer R, Vaughan L (1988) Comparative studies of collagens in normal and keratoconus corneas. *Experimental eye research* 46: 431-442
82. von der Mark H, Aumailley M, Wick G, Fleischmajer R, Timpl R (1984) Immunocytochemistry, genuine size and tissue localization of collagen VI. *European journal of biochemistry* 142: 493-502
83. von der Mark K (1981) Localization of collagen types in tissues. *International review of connective tissue research* 9: 265-324

84. Newsome DA, Gross J, Hassell JR (1982) Human corneal stroma contains three distinct collagens. *Investigative ophthalmology & visual science* 22: 376-381
85. Linsenmayer TF, Mentzer A, Irwin MH, Waldrep NK, Mayne R (1986) Avian type VI collagen. Monoclonal antibody production and immunohistochemical identification as a major connective tissue component of cornea and skeletal muscle. *Experimental cell research* 165: 518-529
86. Zimmermann DR, Trueb B, Winterhalter KH, Witmer R, Fischer RW (1986) Type VI collagen is a major component of the human cornea. *FEBS letters* 197: 55-58
87. Sakai LY, Keene DR, Morris NP, Burgeson RE (1986) Type VII collagen is a major structural component of anchoring fibrils. *The Journal of cell biology* 103: 1577-1586
88. Labermeier U, Kenney MC (1983) The presence of EC collagen and type IV collagen in bovine Descemet's membranes. *Biochemical and biophysical research communications* 116: 619-625
89. Newsome DA, Foidart JM, Hassell JR, Krachmer JH, Rodrigues MM, Katz SI (1981) Detection of specific collagen types in normal and keratoconus corneas. *Investigative ophthalmology & visual science* 20: 738-750
90. Eilaghi A, Flanagan JG, Simmons CA, Ethier CR (2010) Effects of scleral stiffness properties on optic nerve head biomechanics. *Annals of biomedical engineering* 38: 1586-1592 DOI 10.1007/s10439-009-9879-7
91. Okada Y, Konomi H, Yada T, Kimata K, Nagase H (1989) Degradation of type IX collagen by matrix metalloproteinase 3 (stromelysin) from human rheumatoid synovial cells. *FEBS letters* 244: 473-476
92. Allan JA, Docherty AJ, Barker PJ, Huskisson NS, Reynolds JJ, Murphy G (1995) Binding of gelatinases A and B to type-I collagen and other matrix components. *The Biochemical journal* 309 (Pt 1): 299-306
93. Sires UI, Dublet B, Aubert-Foucher E, van der Rest M, Welgus HG (1995) Degradation of the COL1 domain of type XIV collagen by 92-kDa gelatinase. *The Journal of biological chemistry* 270: 1062-1067
94. Shipley JM, Doyle GA, Fliszar CJ, Ye QZ, Johnson LL, Shapiro SD, Welgus HG, Senior RM (1996) The structural basis for the elastolytic activity of the 92-kDa and 72-kDa gelatinases. Role of the fibronectin type II-like repeats. *The Journal of biological chemistry* 271: 4335-4341
95. John A, Tuszynski G (2001) The role of matrix metalloproteinases in tumor angiogenesis and tumor metastasis. *Pathology oncology research : POR* 7: 14-23

96. Okada Y, Gonoji Y, Naka K, Tomita K, Nakanishi I, Iwata K, Yamashita K, Hayakawa T (1992) Matrix metalloproteinase 9 (92-kDa gelatinase/type IV collagenase) from HT 1080 human fibrosarcoma cells. Purification and activation of the precursor and enzymic properties. *The Journal of biological chemistry* 267: 21712-21719
97. Syggelos SA, Aletras AJ, Smirlaki I, Skandalis SS (2013) Extracellular matrix degradation and tissue remodeling in periprosthetic loosening and osteolysis: focus on matrix metalloproteinases, their endogenous tissue inhibitors, and the proteasome. *BioMed research international* 2013: 230805 DOI 10.1155/2013/230805
98. Lu CY, Lai SC (2013) Matrix metalloproteinase-2 and -9 lead to fibronectin degradation in astroglia infected with *Toxoplasma gondii*. *Acta tropica* 125: 320-329 DOI 10.1016/j.actatropica.2012.11.002

9 Abbildungsnachweis

Abbildung 1:

Helmut Hinghofer-Szalkay, Struktur des Auges, physiologie.cc, URL:
<http://physiologie.cc/XIV.5.htm> Stand: 14.02.2019

Abbildung 2:

Bill Andrews, 2003, Normal and abnormal aqueous humor outflow, URL:
<http://www.aafp.org/afp/2003/0501/afp20030501p1937-f1.gif>, [17] Stand: 12.02.2019

Abbildung 3:

Helmut Hinghofer-Szalkay, Bildung und Abfluss des Kammerwassers, physiologie.cc, URL:
<http://physiologie.cc/XIV.5.htm> Stand: 14.02.2019

Abbildung 4:

Aus dem Bildarchiv der Augenklinik der LMU München (modifiziert)

Abbildung 5:

Aus dem Bildarchiv der Augenklinik der LMU München

Abbildung 6:

Aus dem Bildarchiv der Augenklinik der LMU München

Abbildung 7:

Jason7825, 2007 at English Wikipedia, The slit lamp of a Goldmann tonometer, URL:
https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Slit_lamp.jpg Stand: 12.02.2019

Abbildung 8:

European Glaucoma Society (2014), Terminologie und Leitlinien für das Glaukom, Abb 1.1,
Technik der Applanationstonometrie nach Goldmann [14]

Abbildung 9:

Aus dem Bildarchiv der Augenklinik der LMU München

Abbildung 10:

Reichert Technologies, 2010, Ocular Response Analyzer, URL:
<http://doclibrary.com/MSC167/PRM/13880-101-Rev-E-UG08501105.pdf>, Stand: 14.02.2019

Abbildung 11:

Reichert Technologies, 2019, URL: http://www.reichert.com/product_details.cfm?

Abbildung 12:

Eigene Zeichnung

Abbildung 13:

Spörl E, Terai N, Haustein M, Bohm AG, Raiskup-Wolf F, Pillunat LE. [Biomechanical condition of the cornea as a new indicator for pathological and structural changes]. Der Ophthalmologe : Zeitschrift der Deutschen Ophthalmologischen Gesellschaft 2009;106:512-520, Abb.1 Messprinzip des Ocular Response Analyzer [34]

Abbildungen 14 – 21:

Ergebnisse aus eigenen experimentellen Untersuchungen

10 Anhang

10.1 Veröffentlichung

Die Ergebnisse dieser Studie wurden bei dem 109. Kongress der Deutschen Ophthalmologischen Gesellschaft (DOG) 2011 in Berlin im Rahmen einer Posterpräsentation vorgestellt.

Bei der Jahrestagung der Vereinigung Bayerischer Augenärzte (BayOG) 2012 in Regensburg wurden die Ergebnisse in Form eines Vortrags präsentiert.

10.2 Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich bei den Menschen bedanken, die diese Doktorarbeit ermöglicht haben und entscheidend zu ihrer Entstehung und Vollendung beigetragen haben.

Zunächst danke ich meinem Doktorvater Herrn Prof. Dr. med. Marcus Kernt ganz herzlich für die Überlassung dieses interessanten Themas und die Betreuung der Arbeit.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Dr. med. Raffael Liegl, der meine Arbeit mit sehr großem Einsatz betreut hat, immer ein offenes Ohr für meine Fragen hatte und mich mit vielen Anregungen bei der Erstellung dieser Doktorarbeit unterstützt hat.

Für die technische Unterstützung bei der Durchführung der Versuche und die sehr angenehme und gute Zusammenarbeit bedanke ich mich ganz herzlich bei Frau Renate Scheler, Frau Annette Serbin und Frau Katja Widholzer.

Außerdem bedanke ich mich von ganzem Herzen bei meiner Familie, die mich immer unterstützt hat, immer für mich da war und da ist und die mir ermöglicht hat all das zu erreichen, was ich bisher erreicht habe. Ich danke meiner Schwester Carolina ganz besonders für die Korrektur der Arbeit.

10.3 Eidesstattliche Versicherung

Bürger, Alexandra Katharina Marianne

Ich erkläre hiermit an Eides statt,

dass ich die vorliegende Dissertation mit dem Titel

Einfluss von Prostaglandin F2 α Analoga auf die Biomechanik der Cornea und die Transkription und Expression von Molekülen der extrazellulären Matrix

selbstständig verfasst, mich außer der angegebenen keiner weiteren Hilfsmittel bedient und alle Erkenntnisse, die aus dem Schrifttum ganz oder annähernd übernommen sind, als solche kenntlich gemacht und nach ihrer Herkunft unter Bezeichnung der Fundstelle einzeln nachgewiesen habe.

Ich erkläre des Weiteren, dass die hier vorgelegte Dissertation nicht in gleicher oder in ähnlicher Form bei einer anderen Stelle zur Erlangung eines akademischen Grades eingereicht wurde.

Starnberg, 07.09.2020

Alexandra Bürger