

Aus der Augenklinik und Poliklinik
der Universitätsmedizin der Johannes Gutenberg-Universität Mainz

Vergleich von Autoantikörpermustern unterschiedlicher
Glaukomformen im Kammerwasser

Inauguraldissertation
zur Erlangung des Doktorgrades der Zahnmedizin
der Universitätsmedizin
der Johannes Gutenberg-Universität Mainz

Vorgelegt von

Carolin Helena Gertraud Ammann
aus Leer

Mainz, 2022

Tag der Promotion:

06. Dezember 2022

Widmung

Für meine Eltern und Christian

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis	III
Abbildungsverzeichnis	VI
Tabellenverzeichnis	VII
1 Einleitung	1
2 Literaturdiskussion	3
2.1 Das Glaukom	3
2.1.1 Epidemiologie	4
2.1.2 Pathogenese des Glaukoms	4
2.1.3 Die Glaukomformen	6
2.1.4 Die Katarakt	11
2.1.5 Funktionsdiagnostik	11
2.1.6 Therapie des Glaukoms	14
2.1.6.1 Medikamentöse Therapie	15
2.1.6.2 Operative Therapie	17
2.2 Kammerwasser	18
2.2.1 Bildung	18
2.2.2 Funktion	20
2.2.3 Zusammensetzung	20
2.2.4 Immunprivileg des Auges	21
2.3 Autoimmunkomponente beim Glaukom	22
2.3.1 Struktur und Funktion des Immunsystems	22
2.3.1.1 Antikörperaufbau	25
2.3.1.2 Antigen/Antikörper- Bindung	27
2.3.1.3 Antikörperklassen	28
2.3.2 Autoimmunität	29
2.3.3 Autoimmunkomponente in der Glaukompathogenese	31
3 Material und Methoden	35
3.1 Patientenkollektiv	35
3.1.1 Kammerwassergewinnung	35
3.2 Antigene	36
3.3 Protein Microarray	37
3.3.1 Herstellen der Arrays	37
3.3.2 Inkubation	38
3.3.3 Scannen	38
3.3.4 Daten Vorverarbeitung	39
3.4 Statistische Analysen	40
4 Ergebnisse	41
4.1 Ergebnisse der Patientendaten	41
4.2 Ergebnisse der Microarrayanalyse	43
4.2.1 Ergebnisse der Autoantikörperreaktion gegen Caldesmon (CALD1)	43
4.2.2 Ergebnisse der Autoantikörperreaktion gegen beta-S-Crystallin (b-S-Crys)	45
4.2.3 Ergebnisse der Autoantikörperreaktion gegen beta-L-Crystallin (b-L-Crys)	46
4.2.4 Ergebnisse der Autoantikörperreaktion gegen das Lipidphosphat-Phosphatase- verwandten Proteine Typ 3 (LPPR3)	47
4.2.5 Ergebnisse der Autoantikörperreaktion gegen Vimentin (VIM)	48
4.2.6 Ergebnisse der Autoantikörperreaktion gegen das Gliafibrilläre saure Protein (GFAP)	49
4.2.7 Ergebnisse der Autoantikörperreaktion gegen Calreticulin (CALR)	50

4.2.8	Ergebnisse der Autoantikörperreaktion gegen das Das Komplement 1q-bindendes Protein (C1QBP)	51
4.2.9	Ergebnisse der Autoantikörperreaktion gegen das Heterogene nukleare Ribunukleoproteine F (hnRNP F)	52
4.2.10	Ergebnisse der Autoantikörperreaktion gegen Clathrin (CLTA)	53
4.2.11	Ergebnisse der Autoantikörperreaktion gegen Clusterin (CLUS)	54
4.2.12	Ergebnisse der Autoantikörperreaktion gegen Glutathion-S-Transferasen (GST)	55
5	Diskussion	56
5.1	Methodische Aspekte	56
5.2	Antikörper im Kammerwasser von Glaukompatienten	58
5.3	Analyse der Antigen-Autoantikörper-Reaktion der Patientenproben	59
5.3.1	Signifikante Antigen-Autoantikörper-Reaktionen in Zusammenhang mit dem Pseudoexfolationsglaukom	59
5.3.2	Signifikante Antigen-Autoantikörper-Reaktionen in Zusammenhang mit dem Primären Offenwinkelglaukom	64
5.3.3	Signifikante Antigen-Autoantikörper-Reaktionen in Zusammenhang mit dem Normaldruckglaukom	69
5.3.4	Signifikante Antigen-Autoantikörper-Reaktionen in Zusammenhang mit dem Pigmentdispersionsglaukom	73
5.4	Fazit und Ausblick	76
6	Zusammenfassung	78
7	Literaturverzeichnis	79
8	Anhang	93
9	Danksagung	94
10	Tabellarischer Lebenslauf	95

Abkürzungsverzeichnis

Abkürzungen	Erläuterungen
5-FU	5-Fluouracil
Abb.	Abbildung
ACAID	Vorderkammerassoziierte abweichende Immunantwort
ANOVA	Analysis of Variance
Average	durchschnittliche Nervenfaserschichtdicke
b-L-Crys	beta-L-Crystallin
b-S-Crys	beta-S-Crystallin
C1QBP	Komplement 1Q-bindendes Protein
CALD1	Caldesmon
CALR	Calreticulin
CDR	Cup-Disc-Ratio
CLTA	Clathrin-Leichtkette A
CLUS	Clusterin
COPD	chronisch-obstruktive Lungenerkrankung
Dm	Diabetes mellitus
Dunn's Test	multipler Mittelwertvergleich
ER	endoplasmatischen Retikulum
FcR	Fc-Rezeptor
GDx	Nerve Fiber Analyzer
GFAP	Gliafibrilläres saures Protein
GST	Glutathion-S-Transferase
HFA	Humphrey Field Analyser
HLA-Komplex	humane Leukozytenantigenkomplex
HNRNP F	Heterogen nukleares Ribonukleoprotein F
HRT	Heidelberg-Retina-Tomographie
HSP	Hitzeschockprotein
i.d.R.	in der Regel
Ig	Immunglobulin
IgA	Immunglobulin A
IgD	Immunglobulin D
IgE	Immunglobulin E
IgG	Immunglobulin G
IgM	Immunglobulin M

IV

Inferior Average	Nervenfaserschichtdicke im Bereich des unteren
Inter-Eye-Symmetrie	Abweichungen zwischen beiden Augen
IOD	intraokulärer Druck, Augeninnendruck
KAT	Katarakt
KP	Kanaloplastik
LC	Lamina cribrosa
LPPR3	Lipidphosphat-Phosphatase-verwandtes Protein Typ 3
mg	Milligramm
MHC	Hauphistokompatibilitätskomplex
ml	Milliliter
mm	Millimeter
MMC	Trabekulektomie mit Mytociin
mmHg	millimeter Quecksilbersäule
mS	multiple Sklerose
NDG	Normaldruckglaukom
NFI	normalisierte Fluoreszenzintensität
NFI	Nerve Fiber Indicator
nm	Nanometer
NRR	Nervenfasersaum
NSE	Neuronenspezifische Enolase
OHTS	Ocular hypertension treatment study
PBS	Phosphatgepufferte Kochsalzlösung/phosphat-buffered saline
PBST	phosphatgepufferte Kochsalzlösung mit 0,5% Tween-20
PDS	Pigmentdispersionsglaukom
PEX	Pseudoexfoliationsglaukom
PGA	Prostaglandinanaloga
POWG	Primäres Offenwinkelglaukom
RGZ	retinale Ganglienzellen
Slides	Glasträger
SNK	Sehnervenkopf
Superior Average	Nervenfaserschichtdicke im Bereich des oberen
TE	Trabekulektomie
TM	Trabekelwerk
TM-Zellen	Trabekelmaschenwerkzellen
TSNIT	Standardabweichung
VCC	Variable Cornea Compensation/ Korneakompensator
vgl.	Vergleich

VIM

z.B.

µm

Vimentin

zum Beispiel

Mikrometer

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Anatomie des Auges und der Netzhaut (Retina).....	3
Abbildung 2: Darstellung eines primären (A) und sekundären Glaukoms (B).....	6
Abbildung 3: Anatomie der Kammerwasserbildung und des Kammerwasserabflusses im Auge.....	19
Abbildung 4: Das Prinzip des Immunsystems.....	25
Abbildung 6: Antikörper-Antigen-Bindung und Aktivierung von Komplementsystem und Effektorzellen.....	27
Abbildung 7: Spotting Set-Up.....	36
Abbildung 8: Die Array-Objektträger werden mit einem piezoelektrischen berührungslosen Dispenser (Sci-FLEXARRAY; Scienion) gedruckt.....	37
Abbildung 9: Beispiel eines gescannten Antigen-Microarrays nach Inkubation mit Kammerwasser und Fluoro-phor-markierten anti-humanen IgG- Sekundärantikörpern.....	39
Abbildung 10: Microarray-Workflow.....	40
Abbildung 11: Kreisdiagramm des Patientenkollektivs – Übersicht der Gruppengrößen von KAT, POWG, PEX, NDG und PDS.....	42
Abbildung 12: Whisker-Plot für CALD1.....	44
Abbildung 13: Whisker-Plots für b-S-Crys.....	45
Abbildung 14: Whisker-Plots für b-L-Crys.....	46
Abbildung 15: Whisker-Plots für LPPR3.....	47
Abbildung 16: Whisker-Plots für VIM.....	48
Abbildung 17: Whisker-Plots für GFAP.....	49
Abbildung 18: Whisker-Plots für CALR.....	50
Abbildung 19: Whisker-Plots für C1QBP.....	51
Abbildung 20: Whisker-Plots für HNRNPF.....	52
Abbildung 21: Whisker-Plots für CLTA.....	53
Abbildung 22: Whisker-Plots für CLUS.....	54
Abbildung 23: Whisker-Plots für GST.....	55

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Übersicht über die relevanten Glaukomformen dieser Dissertation ...	2
Tabelle 2: Übersicht über die zentralen Bestandteile des Immunsystems	22
Tabelle 3: Patientenkollektiv	42
Tabelle 4: Kruskal-Wallis für CALD1	44
Tabelle 5: Kruskal-Wallis für b-S-Crys	45
Tabelle 6: Kruskal-Wallis für b-L-Crys	46
Tabelle 7: Kruskal-Wallis für LPPR3	47
Tabelle 8: Kruskal-Wallis für VIM	48
Tabelle 9: Kruskal-Wallis für GFAP	49
Tabelle 10: Kruskal-Wallis für CALR	50
Tabelle 11: Kruskal-Wallis für C1QBP	51
Tabelle 12: Kruskal-Wallis für HNRNPF	52
Tabelle 13: Kruskal-Wallis für CLTA	53
Tabelle 14: Kruskal-Wallis für CLUS	54
Tabelle 15: Kruskal-Wallis für GST	55
Tabelle 16: Auflistung der für die Herstellung der Protein-Microarrays verwendeten Antigene (vergl. 3.2.)	93

1 Einleitung

Das Glaukom beschreibt eine Gruppe an neurodegenerativen Erkrankungen und ist die zweithäufigste Ursache für irreversible Erblindung weltweit. Die Prävalenz des Glaukoms bei Menschen zwischen 40 bis 80 Jahren wird auf 3,5% geschätzt (1).

Definiert ist das Glaukom durch den Untergang retinaler Ganglienzellen (RGZ's) und ihrer Axone durch Apoptose was zu einem irreversiblen Gesichtsfeldschaden führt und schließlich im Verlust des Sehvermögens endet. Neben dem Alter, einer genetischen Disposition oder vaskulärer Dysregulation der retinalen Gefäße ist ein wesentlicher Risikofaktor ein erhöhter Augeninnendruck (IOD) (2, 3). Zu den Glaukomformen, die für diese Arbeit eine relevante Rolle spielen zählen das Primäre Offenwinkelglaukom (POWG), das Pseudoexfoliationsglaukom (PEX), das Normaldruckglaukom (NDG) und das Pigmentdispersionsglaukom (PDS). Eine prägnante Auflistung der relevanten Glaukomformen ist in **Tabelle 1** zu finden. Die verschiedenen Formen des Glaukoms lassen sich in „offen“ oder „geschlossenen“ Kammerwinkel sowie in „primär“ oder „sekundär“, je nach Art ihrer Entstehung, unterteilen. Die als primär eingestuftes Glaukome zeichnen sich durch eine Abflussbehinderung im Trabekelwerk (TM) aus, während die sekundären Glaukome durch Einlagerung von Zellen, Pigment oder Pseudoexfoliationsmaterial im TM gekennzeichnet sind (4).

Therapeutisch ist die Senkung des erhöhten IOD derzeit die relevanteste Methode um das Fortschreiten des Glaukoms zu verhindern. Neben Alter, Geschlecht und ethnischer Zugehörigkeit spielen weitere Faktoren eine wichtige Rolle bei der Pathogenese des Glaukoms. Hierzu zählen Funktionsänderungen im endoplasmatischen Retikulum (ER), mitochondriale Dysregulierungen und oxidativer Stress (5, 6).

Ein erhöhter IOD zählt als der größte Risikofaktor für die Entwicklung eines Glaukoms und ist als ≥ 21 mmHg definiert. Innerhalb von fünf Jahren beträgt die Wahrscheinlichkeit ein Glaukom zu entwickeln 9,5% bei konstant erhöhtem IOD (7). Dagegen zeigen Patienten mit NDG keinen erhöhten IOD. Die Ursache für einen erhöhten IOD variiert je nach Glaukomform. Beim POWG steigt der IOD auf ≥ 21 mmHg durch einen verminderten Kammerwasserabfluss. Es kommt durch molekulare Veränderungen im TM bedingt durch eine Vergrößerung des Aktinzytoskeletts und der Produktion von extrazellulärer Matrix zu einem erhöhten Abflusswiderstand. Beim PEX steigt der IOD hingegen durch die Ansammlung von Pseudoexfoliationsmaterial im TM und beim Pigmentdispersionsglaukom durch die Anhäufung von Pigmentmaterial im Kammerwinkel (6, 8).

Veränderungen in der humoralen Autoimmunität bei neurodegenerativen Erkrankungen wurden bereits bei Myasthenia gravis und der Multiplen Sklerose erforscht. In mehreren Studien konnten ebenfalls veränderte Autoantikörperreaktionen beim Glaukom nachgewiesen

werden (9-11). Sowohl im Serum als auch in der okulären Flüssigkeit selbst, dem Kammerwasser, konnten Veränderungen autoimmuner Mechanismen von Antikörpern gegen ausgewählte Antigene bei verschiedenen Glaukomformen nachgewiesen werden (11-14). Anhand eines Antigen-Microarray-Verfahrens mit ausgewählten Proteinen soll im Rahmen dieser Dissertation die Autoantikörper-Reaktion im Kammerwasser der vier Formen des Glaukoms sowie der Kontrollgruppe der Kataraktpatienten angewandt werden.

Die stetig zunehmende Zahl an Glaukompatienten stellt eine immer stärkere Belastung des Gesundheitssystems dar und die Krankheit selbst wird häufig zu einem zu späten Zeitpunkt diagnostiziert, weil sie initial oft asymptomatisch verläuft. Es bedarf neuer, leicht verfügbarer, diagnostischer Ansätze, um die Frühdiagnose des Glaukoms zu fördern und die Prävalenz von Erblindung zu verringern. Die Beteiligung immunologischer Komponenten an der Pathogenese des Glaukoms, könnte neue Ansätze für die Diagnose als auch die Therapie des Glaukoms bieten. Die Ergebnisse dieser Arbeit liefern sowohl signifikant erhöhte als auch erniedrigte Antigen-Antikörperreaktionen zwischen den Glaukomformen, die eine Involvierung der Autoimmunität bei der Pathogenese des Glaukoms belegen und als potenzielle Krankheits-Biomarker bewertet werden könnten.

Ziel ist es, die Eigenschaften und Funktionen der Autoantikörper im Kammerwasser zu verstehen und deren Rolle in der Pathogenese der Glaukomformen besser durchleuchten zu können, um daraus mögliche Konsequenzen für die Mechanismen des Glaukoms zu ziehen. Hierbei wollen wir untersuchen, ob die Autoantikörper Prozesse erleichtern oder bedingen, um Patienten eine bessere Vorhersage in der Behandlung des Glaukoms bieten zu können. Diese Veränderungen in der Immunität der Glaukompatienten könnte eine Chance sein, den Zustand und das Vorhandensein der Erkrankung anhand der Häufigkeit der spezifischen Autoantikörper zu ermitteln, und die Frühdiagnose des Glaukoms zu fördern.

<i>Klassifikation</i>	<i>Name</i>	<i>Abkürzung</i>	<i>Hauptmerkmale</i>
<i>Primär</i>	Primäres Offenwinkelglaukom	POWG	offener Kammerwinkel IOD \geq 21mmHg Verlust an RGZ's
	Normaldruckglaukom	NDG	offener Kammerwinkel IOD \leq 21 Verlust an RGZ's
<i>Sekundär</i>	Pseudoexfoliationsglaukom	PEX	Anhäufung von Pseudoexfoliationsmaterial in der Vorderkammer
	Pigmentdispersionsglaukom	PDS	Anhäufung von Pigmentmaterial im Kammerwinkel

Tabelle 1: Übersicht über die relevanten Glaukomformen dieser Dissertation

2 Literaturdiskussion

2.1 Das Glaukom

Der Begriff Glaukom (aus dem Griechischen *Glaukós*, grüner Star) bezeichnet eine Gruppe von Augenerkrankungen, die sich in ihrer Pathophysiologie, ihren Risikofaktoren, Behandlungen und Prognosen unterscheiden (15). Repräsentativ sind Veränderungen im Sehnervenkopf (SNK) und ein progressiver Verlust des Gesichtsfeldes durch den langsamen Abbau von RGZ's, sowie ein Zusammenhang mit anderen Allgemeinerkrankungen (16). Die RGZ sind Neuronen des zentralen Nervensystems, welche die Signale der Photorezeptoren empfangen und über den Sehnerv an das Gehirn weiterleiten (15). In **Abbildung 1** ist die Anatomie des Auges und der Netzhaut dargestellt.

Das Glaukom ist eine der führenden Erkrankungen für Erblindung weltweit und betrifft 2-3% der Menschen über 40 Jahren. Die Prävalenz des Glaukoms steigt mit zunehmendem Alter und liegt bei Menschen über 90 Jahren bei 10%. (15, 17, 18).

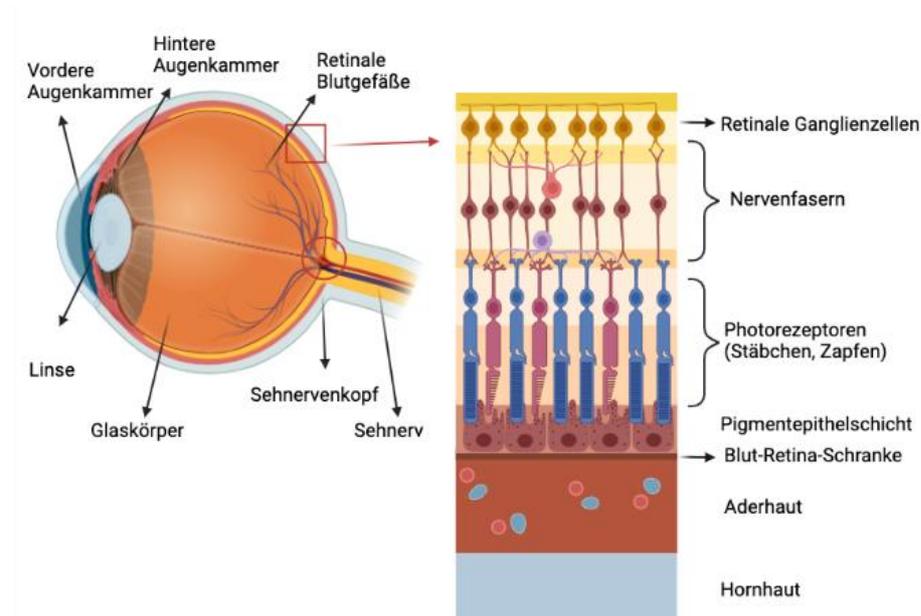


Abbildung 1: Anatomie des Auges und der Netzhaut (Retina)

2.1.1 Epidemiologie

Das Glaukom gilt als die zweithäufigste Ursache für irreversible Erblindung weltweit. Bis im Jahr 2020 sollten schätzungsweise ca. 80 Millionen Menschen auf der Welt von einer glaukomatösen Optikusneuropathie betroffen gewesen sein und 11,2 Millionen weitere Menschen irreversible erblindet sein (17, 19). Weitere 20 Jahre später soll die Anzahl der Erkrankten weltweit auf 111,8 Millionen ansteigen (20). In Deutschland zählt das Glaukom zu den häufigsten Augenerkrankungen mit einer Prävalenz von 0,9-2,4% und einer Häufigkeit von ca. 1 Millionen betroffenen Patienten (21, 22). Es stellt die häufigste Ursache für irreversible Erblindung nach der Makuladegeneration in Deutschland dar (23). Diese Zahlen machen deutlich wieviele Menschen vom Glaukom betroffen sind.

2.1.2 Pathogenese des Glaukoms

Das Glaukom ist eine Krankheit, die eine Gruppe von unterschiedlichen Erkrankungen umfasst. Allen Glaukomformen ist die progrediente Optikusneuropathie gemein, die im Verlauf zu Gesichtsfelddefekten führt. Der intraokuläre Druck (IOD) spielt dabei eine modifizierbare Schlüsselrolle. In der Allgemeinbevölkerung liegt der IOD im Mittel bei 16 mmHg. Der Bereich zwischen 11-21 mmHg gilt als Normalbereich (18).

Bei Individuen mit einem erhöhten IOD zwischen 24-36 mmHg steigt das Risiko von glaukomatösen Gesichtsfeldverlusten um das 13 bis 40-fache, während das Risiko bei Druckwerten von 15 mmHg oder weniger sehr gering ist. Das Risiko für glaukomatöse Sehnervenschädigungen steigt mit zunehmenden IOD (24). Die Senkung des IOD um 22,5% kann das 5-Jahres-Risiko für die Entwicklung eines POWG von 9,5% auf 4,4% senken (25). Dennoch sollte die individuelle, relative Höhe des IOD entgegen der statistisch, absoluten Höhe des IOD abgewogen werden (2).

Veränderung im Kammerwasserabfluss führen zu einem pathologischen Anstieg des IODs, der nach einiger Zeit, je nach der Durchblutungssicherheit der Papille, eine anatomische Schädigung des Sehnervs und eine funktionelle Schädigung des Gesichtsfeldes verursacht (26). Die Verletzung des Sehnervs kommt durch die Verformung der Lamina cribosa (LC) durch die Einwirkung des erhöhten IOD zustande und sorgt für den Tod von Axonen der RGZ's (27). Die RGZ laufen von den Ganglienzellkernen der Netzhaut zur Papille und mit den Kapillaren der Netzhaut durch die LC wo sie beim Austreten, umgeben von einer Myelinscheide, den Sehnerv bilden (15). Die LC und die Axone befinden sich zwischen zwei Druckzonen, dem IOD und dem Hirndruck (ICP). Die Differenz beider Druckgradienten wird als translaminarer Druck (IOP - ICP) bezeichnet (28). Die LC ist die Hauptgewebestruktur des SNK und dient als Unterstützung beim Übergang der RGZ-Axone vom Intraokularraum in den Sehnerv. Sie bildet eine siebartige Struktur aus Kollagen und enthält Astrozyten,

fibroblastenähnliche Zellen, Mikroglia sowie Kapillaren (15). Die Axone in der LC werden durch Kapillaren genährt und Schäden an Axonen, Kapillaren und Astrozyten durch eine Deformation der LC führen zum Verlust der RGZ's (28).

Der IOD wird auf die Axone der RGZ's durch die Sklera auf das Bindegewebe des SNK übertragen, indem er eine translaminare Druckdifferenz im SNK sowie eine Zugspannung in der Sklera induziert (29, 30). Die Sklera ist so konfiguriert, dass sie der Belastung dort widerstehen kann, wo sie am höchsten ist, an der peripapillären Sklera. Das sklerale Bindegewebe besteht aus miteinander verwobenen Lamellen aus Kollagen, Elastin und Proteoglykanen wobei 20% der Skleradicke aus zellulären Lamellen besteht, die Sklerafibroblasten enthalten. Menschliche Glaukospenderaugen mit RGZ-Verlust sind messbar steifer als Kontrollaugen (30). Die Biomechanik des SNK wird durch die Steifheit der Sklera sowie der LC beeinflusst und spielt eine dominante Rolle bei der mechanischen Reaktion des SNK auf akute Veränderungen des IOD bei der Pathogenese des Glaukoms (31). Allerdings können die Ursachen für einen erhöhten IOD je nach Glaukomform variieren. Beim POWG kommt es durch eine Vergrößerung des Aktinzytoskeletts und einer extremen Produktion von extrazellulärer Matrix im TM zu einer Behinderung des Kammerwasserabflusses während der Abflusswiderstand beim PEX durch eine Häufung von Pseudoexfolationsmaterial erhöht ist (11).

Der erhöhte IOD kann nicht die alleinige Ursache für die Pathogenese des Glaukoms klären. Somit weisen Patienten mit einem NDG, die 30% der Glaukompatienten ausmachen, nie einen erhöhten IOD auf oder sie leiden unter einer okulären Hypertension (OHT), bei denen zwar ein erhöhter IOD vorliegt aber kein Glaukomschaden. Die Wahrscheinlichkeit für OHT Patienten ein Glaukom zu entwickeln liegt bei 10% innerhalb von 5 Jahren (7).

Weitere Risikofaktoren sind neben einer genetischen Prädisposition, ein erhöhtes Alter sowie eine familiäre Disposition (20, 32, 33).

Außerdem sind erhöhte Glutamat-Konzentrationen in retinalen Müller-Zellen sowie Veränderungen des Stickoxid-Stoffwechsels im Plasma und Kammerwasser der Patienten zu nennen, durch deren Erhöhung sich eine gesteigerte Neurotoxizität einstellt (34, 35).

Zudem spielen oxidativer Stress sowie Gefäßschäden und Hypoxie eine grundlegende Rolle beim Fortschreiten der RGZ Apoptose (36, 37). Der oxidative Stress wird durch den erhöhten IOD begünstigt und kann im Kammerwasser von Glaukompatienten vermehrt nachgewiesen werden (38, 39). Im Rahmen von oxidativen Vorgängen kann es während des Alterungsprozesses zu posttranslationalen Veränderung, z.B. Oxidationen okulärer Antigene kommen und es wäre denkbar, dass diese veränderten Antigene die Vorgänge die zur Oxidation von okulären Antigenen beitragen, befürworten und in ihrer Zahl mit dem Alter zunehmen (10).

Die Beteiligung des Immunsystems im Zusammenhang mit der Glaukompathogenese wurde ebenso bereits in vielen Studien diskutiert und wird in Kapitel 2.3 aufgegriffen (11, 40, 41).

2.1.3 Die Glaukomformen

Man unterscheidet primäre und sekundäre Glaukomformen.

Primäre Glaukome treten ohne am und im Auge nachweisbare Veränderungen spontan auf. Sekundäre Glaukome dagegen, können anhand klinischer, dem Eintritt des Glaukoms vorausgehender Allgemeinerkrankungen oder Erkrankungen des Auges nachgewiesen werden (8, 42). In **Abbildung 2** wird ein primäres und sekundäres Glaukom schematisch dargestellt.

Allgemeine Risikofaktoren sind ein niedriger systolischer Blutdruck, arterielle Hypertonie, Diabetes mellitus (Dm), kardiovaskuläre Erkrankungen im Allgemeinen und Stoffwechselstörungen (43).

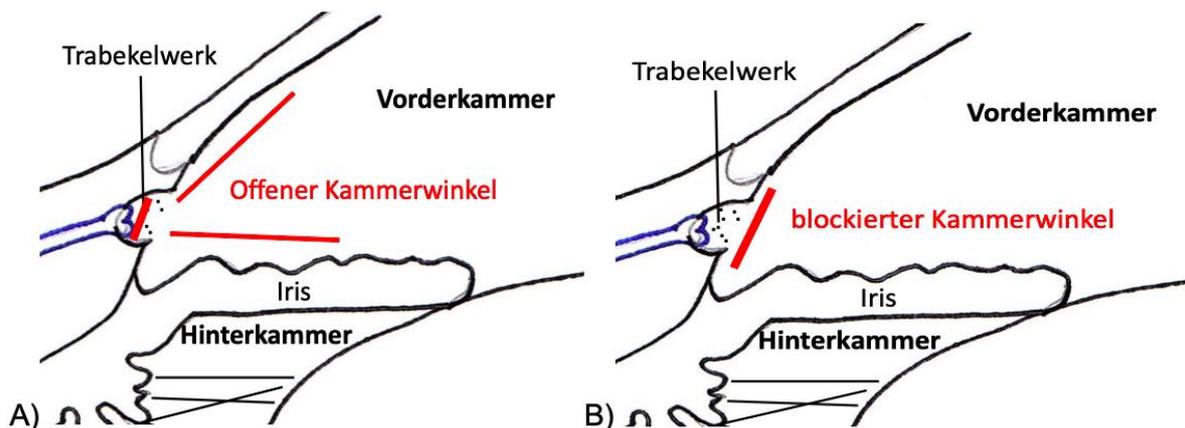


Abbildung 2: Darstellung eines primären (A) und sekundären Glaukoms (B)

Zu den primären Glaukomformen zählen das POWG, das NDG, das chronische Winkelblockglaukom, das akute Winkelblockglaukom (Glaukomanfall) und das kongenitale (juvenile) Glaukom (44).

Das POWG stellt mit mehr als 90% aller Glaukome den häufigsten Glaukomtyp dar (8). Es ist eine Optikusneuropathie, die durch einen erhöhten IOD von >21 mmHg, die Apoptose von RGZ's und einen allmählichen Sehverlust gekennzeichnet ist (45). Typisch sind glaukomatöse Papillenschädigungen sowie korrespondierende Gesichtsfelddefekte. Die Erkrankung läuft initial symptomfrei ab und wird meist erst in einem fortgeschrittenen Stadium diagnostiziert. 26% der Patienten nehmen von den Symptomen ihrer Erkrankung zunächst nichts wahr (46). Eine positive Familienanamnese, das Lebensalter, die Ethnizität (schwarze Hautfarbe), eine hohe Myopie (>-4 dpt) und Gefäßerkrankungen zählen zu den Risikofaktoren für ein POWG.

Funktionsdiagnostisch stellen eine große Papillenexkavation von mehr als 60% der Papillenfläche, eine Seitendifferenz der Papillenexkavation von mehr als 20% und eine dünne, zentrale Hornhautdicke ($<500\mu$) Risikofaktoren dar (8, 33, 47, 48).

Der erhöhte IOD beim POWG wird durch pathologische Veränderungen im TM ausgelöst. Der Abflusswiderstand im TM wird durch die Zellen und die extrazelluläre Matrix im juxtakanikulären Abschnitt des TM's gebildet, die einem dauerhaften Umbau unterliegen, um den Kammerwasserabfluss aufrechtzuerhalten. Aufgrund einer Fehlregulation der Signalwege, die die Ablagerung der extrazellulären Matrix, das Aktin-Zytoskelett und die Zell-Zell/Zell-Matrix-Verbindungen regulieren, kommt es zu glaukomatösen Veränderungen im Auge (49, 50). Das Risiko für ein POWG steigt durch Ablagerungen von hyalinem Material (Plaque) im TM, insbesondere im kribriformen Anteil des TM's, welches an den Schlemm-Kanal grenzt, wodurch das TM-Gewebe dichter wird und sich der Kammerwasserabfluss verringert (48, 51). Außerdem nimmt die Quervernetzung des Aktin-Zytosketts im TM zu, wodurch die Fähigkeit des Gewebes sich durch Actomyosin-vermittelte Kontraktion von Trabekelmaschenwerkzellen (TM-Zellen) aktiv an sich verändernde IOD-Werte anzupassen, eingeschränkt wird. Dies führt dazu, dass die Gesamtsteifigkeit des Gewebes zunimmt und der Abflusswiderstand im TM ansteigt (52). Durch die Veränderungen in der TM-Biomechanik ist das TM beim POWG ca. 20-mal steifer als bei gesunden Menschen. (53, 54). Mit zunehmendem Alter (> 40 –80 Jahren) steigt die Prävalenz des POWG an (26, 33). Männer erleiden 1,3 mal häufiger ein POWG als Frauen (55).

Die okuläre Hypertension (OHT) ist vom Glaukom abzugrenzen. Zwar liegt der IOD über der statistischen Norm aber es liegen weder eine Papillenschädigung noch eine Gesichtsfeldeinschränkung vor. Sie zählt zu den wichtigsten Risikofaktoren für die Entstehung eines manifesten POWG (7, 48). Bei einer okulären Hypertension von >24 mmHg liegt das 5-Jahres-Risiko für ein POWG bei 9% (33).

Das NDG zeichnet sich durch einen $IOD \leq 21$ mmHg bei offenem Vorderkammerwinkel aus, der zu glaukomtypischen Schädigungen des SNK, einer Ausdünnung der Nervenfaserschicht der Netzhaut und zu Gesichtsfeldausfällen führt. NDG Patienten leiden unter größeren Druckschwankungen wodurch nächtliche IOD Spikes schnell übersehen werden (56). Der IOD trägt zur Pathophysiologie des NDG bei und die Senkung des IOD kann von Vorteil sein. Die Drucktheorie beim NDG allein kann allerdings nicht ausreichend erklären, wie der Verlust des Sehvermögens beim NDG verursacht wird. Studien deuten auf einen verringerten Blutfluss der zu hämodynamischen Veränderungen führt hin. Hauptursachen für ein NDG sind vaskuläre Dysregulationen, die zu einer gestörten Autoregulation der Gefäßversorgung der Papille führen (56, 57). Gefäßdysregulationen beschreiben die Inkompetenz eines Gewebes eine

gleichbleibende Blutversorgung zu gewährleisten, trotz Änderung des Perfusionsdrucks die zur Ischämie und Schädigung des Sehnervs führen (28). Außerdem wurde eine Schwäche der LC genannt, wodurch die RGZ's unter physiologischem IOD anfälliger für mechanische Schäden sind, die durch Kompression und Verzerrung der LC an der Schädigung der Axone der RGZ's des Sehnervs beteiligt sein könnten (58, 59).

Im Vergleich zum POWG und anderen Glaukomformen sind beim NDG häufiger Papillenrandblutungen zu beobachten, die meistens einseitig auftreten (60). Abnormale Vasoregulationen die zum Raynaud Phänomen oder kalten Händen und Füßen beitragen, werden häufiger mit dem NDG assoziiert. Dasselbe gilt für nicht-IOD abhängige kardiovaskuläre Dysfunktionen wie Hypotonie und Herzrhythmusstörungen. (56, 60-62). Der verringerte Blutdruck sorgt für eine Reduktion des Augenperfusionsdruckes mit der Folge, dass der Augenblutfluss verringert ist und der Sehnerv von den Kapillaren folglich weniger versorgt werden kann (28). Frauen aus Ostasien sind häufiger betroffen als Männer (63, 64). Die zentrale Hornhautdicke ist im Vergleich zu Patienten mit POWG dünner (65).

Das chronische Winkelblockglaukom (Glaucoma chronicum simplex) stellt weniger als 5% der Glaukome dar. Es sorgt durch eine Anlagerung der Irisbasis an das TM für eine Abflussbehinderung des Kammerwassers und führt in Folge dessen zu glaukomatösen Papillenschäden (66, 67).

Das akute Winkelblockglaukom (Glaukomanfall) sorgt durch eine vollständige Blockade des Kammerwinkels zu einer erhöhten Steigerung des IOD. Die Vorderkammer ist flach und die Irisbasis vorgewölbt und an das TM angelagert, sodass es permanent blockiert ist (66, 67). Es kann in kurzer Zeit zu einer Enukleation des Auges führen (68).

Bei 14% der Fälle sind beide Augen betroffen. Das Auge ist stark gerötet und der Patient erleidet ausgeprägte Schmerzen. Die Hornhaut erscheint milchig aufgrund des vermehrten Flüssigkeitsgehalts. Dieses Hornhautödem sorgt für eine Visusminderung und das Wahrnehmen von Lichthöfen (Halos). In Folge des erhöhten IOD ist die Funktion des M.spinctor pupillae eingeschränkt und eine Lichtreaktion der Pupille bleibt aus (lichtstarre Pupille) (67). Am häufigsten treten das akute und chronische Winkelblockglaukom in Südostasien und bei den Inuit auf (69). Frauen sind häufiger betroffen als Männer (67).

Das kongenitale (infantile, juvenile) Glaukom beschreibt eine Entwicklungsstörung der Abflusswege des Kammerwassers im Kammerwinkel, die bei der Geburt oder in den ersten Lebensmonaten diagnostiziert wird (70). Eine frühe Manifestation ist eine Vergrößerung des Augapfels (Buphthalmus, Hydrophthalmie) sowie tränende Augen (Epiphora), Photophobie und Lidkrämpfe (Blepharospasmus) bei vergrößerter Kornea (71). Manifestiert sich das

kongenitale Glaukom nach dem 2. Lebensmonat so spricht man von infantilen Glaukomen. Manifestiert es sich nach dem 2. Lebensjahr, so wird es als juveniles Glaukom bezeichnet. Es tritt typischerweise beidseitig auf und farbige Kinder sind eher betroffen als weiße. Die Häufigkeit beträgt 1:20 000 Geburten (72, 73).

Zu den sekundären Glaukomen zählen das PEX-Glaukom, das Neovaskularisationsglaukom, das PDS-Glaukom, das Steroidglaukom und das traumatisch bedingte Glaukom (44).

Das PEX-Glaukom ist die häufigste Form der Sekundärglaukome und entwickelt sich bei ca. 50% der Patienten mit PEX-Syndrom. Die Pseudoexfoliation erhöht das Risiko für ein POWG um das 4- 6-fache (33).

Es ist bekannt für eine exzessive Produktion und progressive Ablagerung eines fibrillären extrazellulären Materials, den sogenannten PEX-Fibrillen, in verschiedene intra- und extraokuläre Gewebe (74, 75). Die überschießende Produktion der fibrillären Proteine werden vom Linsenepithel, dem nicht pigmentierten Ziliarepithel, dem Epithel des TM's, dem Epithel der Hornhaut, von den Endothelzellen der Gefäße sowie fast allen Zellen der Iris verursacht (76). Zu den Gründen, die zu dem Ungleichgewicht zwischen Produktion und mangelndem Abtransport führen, zählen die Zusammensetzung der PEX-Fibrillen und des Kammerwassers, sowie genetische Faktoren und die Versorgung mit Sauerstoff (77).

Durch die progressive Ablagerung der PEX-Fibrillen im TM trägt es zur chronischen Druckerhöhung bei, indem der trabekuläre und uveosklerale Abflusswiderstand erhöht wird (78). Die PEX-Fibrillen lagern sich sowohl in den zu dem Schlemmkanal führenden Kanälchen an als auch um den Schlemmkanal herum und führen somit zu einer Verstopfung des trabekulären Kammerwasserabfluss bei einer gleichzeitigen Kompression von außen (79, 80). Die Matrixakkumulation und Aggregation der PEX-Fibrillen entsteht durch ein Ungleichgewicht fibrogener Wachstumsfaktoren und proteolytischer Enzyme (81). Die Menge der Ablagerungen korreliert mit der Höhe des IOD und dem Verlust an RGZ's und im Laufe der Zeit kommt es zu einer Kopplung der PEX-Fibrillen an das Gewebe (76, 82). Dieser Prozess wird durch oxidativen Stress, der durch Hypoxie und freie Radikale induziert wird, gefördert. Die oxidative-antioxidative Balance ist sowohl im Kammerwasser als auch im Serum und okulären Geweben von PEX-Patienten verändert und der daraus resultierende oxidative Stress spielt neben hohem Alter und weiblichen Geschlecht eine wichtige Rolle in der Pathogenese des PEX-Glaukoms (74, 81, 83).

Das PEX-Glaukom gilt als ernste, hypertensive Glaukomform mit schlechter Prognose aufgrund eines akuten Druckanstiegs, starker Druckschwankungen, schneller Papillenschädigung und progredienter Gesichtsfeldausfälle (74, 75).

Das Neovaskularisationsglaukom tritt häufig durch eine retinale Ischämie auf, die Folge eines Zentralvenenverschlusses oder durch diabetische Veränderung bedingt ist. Mit 10-15% Eukleationen ist die Prognose schlecht (84). Durch die Proliferation von feinen Gefäßen, die im weiteren Verlauf eine Membran bilden, welche das TM blockieren, kommt es zu einer irreversiblen Verlegung des Abflusssystems mit entsprechender Steigerung des IOD. Später treten zunehmend Fibrosierungen auf, die zu Goniosynchien und einem Kammerwinkelschluss führen (85, 86).

Das PDS-Glaukom tritt meist beidseitig auf und entsteht durch mechanischen Abrieb von Pigmentgranula durch Kontakt der Irisrückfläche mit den Zonulafasern. Das ausgeschwemmte Pigment wird im Kammerwinkel abgelagert und führt zu einer Steigerung des IOD. Die Pigmentablagerungen erscheinen in Form einer vertikalen Linie, der Krukenberg-Spindel, und das TM erscheint vermehrt pigmentiert (8, 48).

Bei 2% der weißen Bevölkerung mit einem Pigmentdispersionssyndrom entsteht in ca. 35% ein PDS. Die Manifestation des Glaukoms tritt meistens im 3. Lebensjahrzent auf. Typischerweise sind junge, myope Männer betroffen (87-89).

Das Steroidglaukom entsteht durch Einnahme von Steroiden, die den Abbau Mucopolysacchariden hemmen und zu einer vermehrten Anhäufung dieser im TM führen. Das Ausmaß ist abhängig von Art und Dauer der Steroidanwendung. Die höchste IOD-steigernde Potenz hat Dexamethason (8, 90).

Das traumatisch bedingte Glaukom ist durch ein vielfältig Schädigungsursachen und –mechanismen gekennzeichnet. Es spielen nicht nur die Art des Traumas (z.B. stumpfe und eröffnende Bulbustrauen, Verätzungen), sondern auch unterschiedliche pathogenetische Prozesse eine Rolle. Bei ca. 10% ist ein traumatisches Sekundärglaukom Anlass zur Eukleation (91).

2.1.4 Die Katarakt

Die Katarakt (KAT) dient in dieser Studie als gesunde Kontrollgruppe, um die Validität der Ergebnisse zu belegen. In dieser Studie findet sich eine Anzahl an Patienten, die sowohl an einem Glaukom als auch einem KAT erkrankt sind (siehe **Tabelle 3**). Als KAT werden alle Trübungen der kristallinen Linse im Auge, die das Sehvermögen behindern, bezeichnet (92). Die häufigste Form der KAT ist die senile, altersabhängige KAT. Sie ist mit 20 Millionen Sehbehinderten die häufigste Erblindungsursache weltweit (93). Oxidative sowie photooxidative Beeinträchtigungen der Linse stellen ätiologische Faktoren für die Entstehung und Progression der KAT dar (94). Durch die Natrium-Kalium-Pumpen im Linsenepithel wird die optische Durchlässigkeit der Linsen normalerweise aufrechterhalten. Kommt es im Rahmen von Alterungsprozessen zur Bildung von oxidativen Stress, wird das Gleichgewicht gestört (95). Weitere Risikofaktoren sind Rauchen, Dm, das weibliche Geschlecht sowie verschiedene Arten der Strahlung (95, 96). Immer Häufiger wird das gemeinsame Auftreten von Glaukom und KAT in der Praxis beobachtet (97).

2.1.5 Funktionsdiagnostik

Zu den wichtigsten Untersuchungen in der Erkennung des Glaukoms, zählt die Augeninnendruckmessung, die Untersuchung des Kammerwinkels, des Gesichtsfeldes sowie der Papille.

Der wichtigste Risikofaktor für die Entstehung eines Glaukoms ist der erhöhte IOD.

Als Goldstandard für die Messung des IODs gilt die Goldmann-Appplanationstonometrie und wird an der Spaltlampe am sitzenden Patienten gemessen. Die Hornhaut wird durch Oberflächenanästhesie betäubt und mit einem Messkölbchen mit einer definierten Fläche applaniert. Man misst die Kraft, die notwendig ist um ein planes Messkörperchen soweit mit der Hornhaut in Verbindung zu bringen, sodass eine Fläche von 3,06 mm Durchmesser abgeplattet wird. Dann entspricht der Anpressdruck dem IOD (8, 98). Der IOD verändert sich im Tagesverlauf mit Herzschlag, Blutdruck und Atmung. Er unterliegt einem zirkadianen Rhythmus und ist nachts geringer als tagsüber (18). Augendruckanstiege von > 3mmHg, insbesondere nachts, sind ausgeprägter bei Patienten mit einem POWG (8).

Der Visus (Sehschärfe) bezeichnet das räumliche Auflösungsvermögen des Auges. Er gehört zu den häufigsten Untersuchungen in der Augenheilkunde. Um die Sehschärfe zu bestimmen, werden Sehzeichen verschiedener Art, Größe und Anzahl angeboten, wobei jedem Zeichen ein bestimmter Sehschärfenwert zugeordnet ist und jede Zeile mit Sehzeichen einer Visusstufe entspricht. Der Visus eines jungen Erwachsenen liegt bei >1,0. Bei Kindern und älteren Menschen gelten Visuswerte >1,0 als normal (99).

Die Perimetrie dient der Untersuchung des Gesichtsfeldes. Die Sehschärfe ist auf der Spitze des Gesichtsfeldberges am besten (in der Fovea) und nimmt zur Peripherie ab (18). Während einer Spaltlampenuntersuchung kann die Lokalisation der Fundusläsion lokalisiert werden. Der Patient wird an das Goldmann-Perimeter gesetzt und zentral fixiert. Es wird eine Runde Lichtmarke (Durchmesser 0,2 mm) auf den Fundus projiziert und bewegt. Der Patient soll angeben, ob sich das Licht vom Gesichtsfelddefekt (Skotom) weg oder hinbewegt. Bei zentralen Skotomen gelingt eine direkte Lokalisation des Defektes mittels Amsler-Netz. Eine anschließende Untersuchung des Fundus zeigt oft eine retinale oder prä-retinale Pathologie als Ursache für das Skotom (100).

Gesichtsfeldausfälle treten in direkter Korrelation mit Papillen Exkavationen auf. Sie treten erst dann auf, wenn bereits >30% der Nervenfasern zugrunde gegangen sind. Das parazentrale Gesichtsfeld (= bogenförmige Skotome) wird typischerweise zuerst geschädigt und das Zentrum lange ausgespart, weshalb die Sehschärfe, trotz Glaukomschaden, lange gut bleibt. Die automatische Standardperimetrie (SAP) ist heute die routinemäßig eingesetzte Untersuchungsmethode. Automatische Perimeter sind der Humphrey Field Analyser (HFA) und Octopus. Die mittlere Defekttiefe (mean deviation) gibt das Maß für den gesamten Gesichtsfeldverlust an und wird von den durchschnittlichen Werten der totalen Deviation abgeleitet (18).

Die Ophthalmoskopie beschreibt die Untersuchung der Papille und des Nervenfasersaums (NRR). Der Nervus opticus und die retinalen Nervenfasern stellen das intrapapilläre Äquivalent zum NRR dar. Eine progrediente Veränderung der Form des NRR sprechen für einen glaukomatösen Defekt. Die Form des NRR steht in Abhängigkeit zur Größe, Form, Verdrehung und Neigung des SNK's (101).

Die **ISNT**-Regel beschreibt, dass der NRR inferior am breitesten und superior, nasal und temporal dünner ist. Glaukomverdacht besteht, wenn der NRR inferior und/oder superior am dünnsten ist (48).

Folgende Befunde sind Indiz für eine glaukomatöse Papillenexkavation;

Eine progrediente Veränderung der Form des NRRs, eine relative Vergrößerung der Exkavation bis an den Rand der Papille bei der keine Nervenfasern durch die Lamina cribrosa austreten und bis zu 60% der Papillenoberfläche eingenommen sind (8). Die Cup-Disc-Ratio (CDR) beschreibt das vertikale Verhältnis von Exkavation zur Papille. Sie ist abhängig von der Papillengröße und kann daher individuell stark variieren. Jedoch ist der CDR typischerweise zwischen rechtem und linkem Auge symmetrisch weshalb eine Differenz der vertikalen CDR von >0,2 zwischen den Augen als Glaukom verdächtig gilt (48, 101).

Außerdem sprechen hochovale Exkavationen und Kerbenbildung des NRRs der Papille für ein Glaukom. Am oberen und unteren Pol der Papille laufen normalerweise viele Nervenfasern ein, während beim Glaukom zuerst die oberen und unteren Nervenfasern zugrunde gehen (8, 48).

Nerve Fiber Analyzer (GDx) und Heidelberg-Retina-Tomograph (HRT) sind computergestützte Messgeräte zur Analyse der Papille und der Nervenfaserschicht zur Erkennung eines Glaukomschadens und einer glaukomatösen Progression. Da einmal entstandene Schäden irreversibel sind, ist eine frühzeitige Diagnose sowie Verlaufskontrolle von besonderer Bedeutung, damit eine adäquate Behandlung früh eingeleitet werden kann (102, 103).

Das HRT ermöglicht dreidimensionale Messungen der Papillenoberfläche mithilfe der Laser-Scanning-Tomographie. Das Gerät fertigt mittels eines Laserstrahles (Wellenlänge: 670 nm) von der höchsten Papillenprominenz ausgehend nach hinten in 32 frontalen Ebenen Bilder an. Aus diesen Bildern rekonstruiert das Gerät ein dreidimensionales Bild der Papillenoberfläche. Die Messungen dauern weniger als 2 Sekunden. Es werden drei $15^\circ \times 15^\circ$ -Aufnahmen zu einer gemittelt und die Papillengrenze vom Untersucher eingezeichnet (per Mausclick). Die Referenzplatte der Messung wird automatisch $50 \mu\text{m}$ unter dem Makulapapillären Bündel platziert. Zur Beschreibung der Form und Ausdehnung der Papille klassifiziert die Software zwischen „normal“ (positive Werte) oder „glaukomatös“ (negative Werte) indem sie mit Normdatenbanken verglichen werden (Moorfield-Regressionsanalyse) (18, 102, 104). Die Moorfields-Regressionsanalyse wertet das Verhältnis zwischen Randsaum- zu Papillenfläche aus (105).

Die erhobenen Daten werden als Tabelle dargestellt und Werte, die außerhalb der Norm liegen, werden gekennzeichnet (18).

Das GDx (Glaucoma Diagnostics) beruht auf dem Prinzip der Scanning-Laser-Polarimetrie und dient der Beurteilung der Dicke der peripapillären retinalen Nervenfaserschicht. Mithilfe eines Lasers mit einer Wellenlänge von 780nm werden parapapilläre Scans der retinalen Nervenfaserschicht erstellt. Das Prinzip der Retardation (= Verzögerung) beruht auf dem Auftreffen von polarisiertem Licht auf die parallel angeordneten Mikrotubuli der retinalen Nervenfaserschicht. Durch Doppelbrechung zweier phasenverschobener Teilstrahlen entstehen zwei unterschiedliche Geschwindigkeiten. Diese Phasenverschiebung wird als Retardation bezeichnet und wird vom Gerät gemessen. Der Wert der Retardation ist proportional zu Nervenfaserschichtdicke. Die Messung dauert 0,7 Sekunden und erfolgt im Feld von $15^\circ \times 15^\circ$ mit Zentrum der Papille (104, 106).

Ein variabler Korneakompensator (Variable Cornea Compensation, VCC) wurde in das Gerät integriert, da nicht nur die Nervenfaserschicht, sondern auch die Kornea und die Linse doppelbrechende Eigenschaften aufweisen.

Die vorderen Augensegmente werden somit einzeln vermessen und aus dem Signal der Nervenfaserschicht herausgerechnet. Mittels VCC konnte eine deutlich verbesserte Fähigkeit des GDx nachgewiesen werden (106, 107). Die Auswertung orientiert sich an einer Vergleichsdatenbank und stellt die Nervenfaserschichtdicke farbkodiert dar (106).

Es werden aus ca. 200 Messparametern nur die 6 wichtigsten des GDx dargestellt; Average (durchschnittliche Nervenfaserschichtdicke) Superior Average (Nervenfaserschichtdicke im Bereich des oberen) und Inferior Average (im Bereich des unteren Nervenfaserbündels), TSNIT (Standardabweichung), Inter-Eye-Symmetrie (Abweichungen zwischen beiden Augen) und der NFI (nerve Fiber Indicator).

Aus dem Gesamtwert aller GDx-Parameter (ca.200) wird die Wahrscheinlichkeit der Schädigung der Nervenfaserschicht ausgewertet. Dabei gelten NFI-Werte bis ca. 30 als „normal“, Werte zwischen 30 und 60 als „verdächtig“ und Werte >70 als „wahrscheinlich“ für eine glaukomatöse Schädigung (103).

Die Pachymetrie misst die zentrale Hornhautdicke, da diese nicht nur einen erheblichen Einfluss auf die Messung des IOD ausübt, sondern auch eine Bedeutung für die Glaukomprogression hat. Man unterscheidet im Wesentlichen Kontakt- (Ultraschall-Pachymetrie) und Non-Kontakt-Verfahren (optische Pachymetrie).

Die Ultraschall-Pachymetrie wird heute als Referenzmethode für alle Pachymetrieverfahren eingesetzt. Die zentrale Hornhautdicke hat in verschiedenen ethnischen Gruppen erhebliche Unterschiede. Afrikaner haben mit 528,8 µm im Mittel eine signifikant niedrigere Hornhautdicke als Kaukasier mit 545,2 µm. Mit einer abnehmenden zentralen Hornhautdicke nimmt das Risiko für ein Glaukom deutlich zu (108).

2.1.6 Therapie des Glaukoms

Im Wesentlichen zielt die Therapie des Glaukoms darauf ab, den individuellen IOD zu senken. In mehreren Studien wurde nachgewiesen, dass pro 1mmHg Senkung das Risiko einer Progression des Glaukoms um 10-20% sinkt (8, 109, 110). Die Ocular hypertension treatment study (OHTS) befasst sich mit der Behandlung der okulären Hypertension vor Auftreten eines Papillen- oder Gesichtsfeldschadens (7). Kass et al. belegten, dass eine frühzeitige Medikation das Auftreten von glaukomatösen Schäden von 22 auf 16% über einen Zeitraum von 13 Jahren erniedrigt (111).

Erst wenn unter medikamentöser Behandlung dennoch eine Progression des Glaukoms zu beobachten ist oder Nebenwirkungen auftreten, wird eine Lasertherapie oder eine operative Therapie in Erwägung gezogen. Schlechte Compliance, schlecht medikamentös einstellbare Druckschwankungen oder -Spitzen können eine primär operative Therapie indizieren (112, 113).

Generell gilt, dass die Therapie so gewählt wird, dass der Zieldruck bei dem ein Optikusschaden oder ein Gesichtsfeldverfall unwahrscheinlich ist, erreicht wird. Der Zieldruck ist dem Risikoprofil und Krankheitsstatus des Patienten individuell angepasst. Er hängt von dem Ausmaß des Glaukomschadens, dem IOD zum Zeitpunkt der Erstdiagnose, dem allgemeinmedizinischen Risikoprofil, der Progressionsgeschwindigkeit und der Lebenserwartung des Patienten ab. Er ist der einzige behandelbare Risikofaktor beim Glaukom und wird durch die Rate an Kammerwasserproduktion und -Abfluss bestimmt (8, 113).

Zwar kann die Senkung des IOD das Fortschreiten des Glaukoms beschränken jedoch gibt es bisher keinen Schutz der absterbenden Zellen. Neuroprotektive Mittel zielen darauf ab eine Schädigung der Ganglienzellen der Netzhaut zu verhindern (114). Bisher gibt es jedoch keine Evidenz für ein wirksames neuroprotektives Medikament (115).

2.1.6.1 Medikamentöse Therapie

Die medikamentöse Therapie greift durch Senkung der Kammerwasserproduktion einerseits (z.B. Betablocker, Karboanhydrasehemmer, Sympathomimetika) oder durch die Verbesserung des Abflusses andererseits (Parasympathomimetika, Prostaglandinanaloga (PGA) und Pilocarpin) in die Balance des IOD ein (112, 113, 116).

Zu den wirksamsten Mitteln zur Reduktion des IOD zählen die PGA Bimatoprost, Travoprost, Latanoprost und Timolol mit einer Drucksenkung bis zu 33%, (112, 117). Obwohl die PGA-Analoga eine solide IOD-Reduktion vorweisen, benötigt ein Großteil der Patienten mehr als ein Medikament (Mehrfachtherapie) oder eine Kombinationstherapie, um den Ziel-IOD zu erreichen. Die Verwendung fester Kombinationen hat stetig zugenommen, da sie Vorteile wie die Vereinfachung des Dosierungsschemas, die Minimierung des Auswascheffektes und die Exposition gegenüber Konservierungsmitteln verringern (8, 118, 119).

Prostaglandinanaloga (Latanoprost, Travoprost, Tafluprost) ist die neueste und potenteste Substanzgruppe und wird als Mittel der Wahl angesehen (120). Sie wirken durch Steigerung des uveoskleralen Abflusses indem sie die extrazelluläre Matrix im Ziliarmuskel umbauen und so den Kammerwasserabfluss erhöhen (121). Es kann eine Drucksenkung bis zu 30% erzielt werden. Sie werden i.d.R. 1-mal abends getropft. Neben der drucksenkenden Wirkung können sie zu Rötung und Hyperämie am Auge führen sowie zu Wimpernlängenwachstum und einer

Braunfärbung der Iris. Die Wirkstoffe sind mit allen Antiglaukomatosa kombinierbar, außer Pilocarpin (8, 113, 122).

Parasympathomimetika (Pilocarpin) sorgen durch Aktivierung des Acetylcholinrezeptors, für eine Kontraktion des Ziliarmuskels, sodass im TM die fibrillären Fasern aufgespannt werden. Die Fazilität wird durch die mechanische Spreizung der Maschen des TM's erhöht und eine Senkung des IOD bis zu 20% kann erzielt werden (8, 113). Anwendung finden sie heute in der Therapie des Engwinkelglaukoms, PDS sowie dem PEX zur Ruhigstellung der Iris. Nebenwirkungen wie eingeschränktes Nachtsehen, Myopisierung, Ziliarspasmus und Verstärkung von Asthma können auftreten weshalb die Verordnung von Pilocarpin als Mono- und Kombinationstherapie abgenommen hat (112, 113, 120). Sie müssen 3-4-mal täglich appliziert werden aufgrund ihrer geringen Bioverfügbarkeit. (8, 113).

Alpha-2-Agonisten (Brimonidin, Clonidin und Apraclonidin) senken den IOD bis zu 27% durch eine Hemmung der Kammerwasserproduktion, indem sie die präsynaptische Noradrenalin-Freisetzung reduzieren. Brimonidin gilt heute als Standardpräparat (112, 120). Die Substanzen können Herzfrequenz und Blutdruck teilweise beeinflussen, weshalb Patienten mit Hypertonie bevorzugt mit Alpha-2-Agonisten behandelt werden können. Kontraindikation besteht bei Patienten die mit Monoaminoxidasehemmern und trizyklischen Antidepressiva behandelt werden. In Kombination mit Betablockern, Carboanhydrasehemmern und PGA-Analoga besteht eine gute additive Wirkung (8, 113). Sie zeigen eine hohe Allergisierungsrate über 25% und sollten nicht bei stillenden Müttern, in der Schwangerschaft oder Kindern bis zum 8.Lebensjahr angewendet werden (112).

Betablocker (Timolol) reduzieren die Kammerwasserproduktion und erreichen eine Drucksenkung bis zu 25% (112). Sie können über den venösen Kreislauf aufgenommen werden und können daher auch systemisch wirksam sein. Daher sind anamnestisch abzuklären, ob Asthma oder eine chronisch-obstruktive Lungenerkrankungen (COPD) vorliegen. Weitere Kontraindikationen sind Herzrhythmusstörungen, AV-Block II. und III. Grades und Herzinsuffizienz (112, 113). Am Auge können sie die Hornhautsensibilität herabsetzen und somit zu einem verstärkt trockenen Auge führen, was insbesondere bei Kontaktlinsenträgern problematisch ist und zu einer Sicca-Symptomatik führen kann (8, 112). Die Verordnung von Betablockern als Monotherapie ist in den vergangenen Jahren zurückgegangen. Sie kommen meistens als klassische Kombinationstherapie zum Einsatz (120).

Carboanhydraseinhibitoren (Acetazolamid, Dorzolamid, Brinzolamid) hemmen die Kammerwassersekretion durch Hemmung der Carboanhydrase II im Ziliarkörper und erreichen eine Nettodrucksenkung von 20-25% (112, 113). Sie spielen allerdings nur noch bei akuten Glaukomanfällen eine Rolle wobei ihr Nutzen/Risiko-Verhältnis eine gute Wirkung zeigt (120, 123). Brinzolamid ist inzwischen das führende Monopräparat der Carboanhydrasehemmerstoffe da es besser verträglich, preisgünstiger und nur zweimal anstatt dreimal täglich im Vergleich zu Dorzolamid appliziert werden muss. Sie können sowohl lokal (Dorzolamid, Brinzolamid) als auch systemisch (Acetazolamid) eingesetzt werden. Wobei bei systemischer Gabe oft Nebenwirkungen wie Unwohlsein, Diurese und Hypokaliämie zu beobachten sind. Okuläre Nebenwirkungen sind Brennen, Stechen, verschwommenes Sehen, abnormaler Geschmack, Keratitis, Kopfschmerzen und Urticaria (8, 113, 124). Carboanhydrasehemmer werden heute überwiegend in Kombination (mit Timolol) verordnet (120)

2.1.6.2 Operative Therapie

Die Trabekulektomie (TE) mit Mytocin C (MMC) stellt den Goldstandard in der Glaukom Chirurgie dar (125). Ziel ist es, einen neuen Abflussweg unter der Bindehaut zu schaffen wo das Kammerwasser von Lymphgefäßen und Venen aufgenommen werden kann. Im Bereich des TM's wird an der Oberfläche der Sklera ein Deckel präpariert und eine rechteckige Öffnung durch das TM in die vordere Augenkammer präpariert. Der Skleradeckel wird anschließend wieder über die Öffnung gelegt und fixiert, sodass es den Kammerwasserfluss drosselt. Ein Sickerkissen entsteht welches vom Oberlid bedeckt und geschützt wird (8). Um Vernarbungen des Sickerkissens zu verhindern, werden Antimetaboliten wie Mitomycin C während der Operation lokal aufgebracht und im späteren Verlauf 5-Fluorouracil (5-FU). Sie verbessern den Langzeiterfolg, können jedoch auch zu Komplikationen wie Hypotonie, Makulopathie und avaskulären Filterkissen führen (125). Die Patienten sollen 2 Wochen vor der Operation die antiglaukomatöse Lokaltherapie absetzen und konservierungsmittelfreies Steroid 5 x täglich im zu behandelnden Auge applizieren. Diamox Tabletten 250 mg werden bis zu 3 x täglich gegeben. Zur Hemmung der Fibrosierung wird die TE standardmäßig mit Mytocin C 0,02 % oder bei dünnen Konjunktiven mit 0,01 % durchgeführt (126).

Die Kombinierte Phako-Trabekulektomie ist eine Operationsmethode zur Augendruckregulierung und gleichzeitiger Visusverbesserung. Sie ist indiziert bei Glaukom mit einem operationswürdigen KAT (127).

Die Kanaloplastik (KP) ist ein Verfahren, bei dem das TM mittels eines Fadens, der in den Schlemm-Kanal eingeführt wird, aufgespannt wird und somit den Kammerwasserabfluss

wiederherstellt. Die KP zeigt in Kombination mit einer KAT-OP eine stärkere Drucksenkung. Sie kann als Ergänzung zur TE indiziert sein (128).

2.2 Kammerwasser

Kammerwasser spielt eine zentrale Rolle in der Physiopathologie des Auges. Der IOD (Normwert $15,5 \pm 2,75$ mmHg) entsteht durch das Kammerwasser in den gefüllten Augenkammern. Der IOD wird durch das Verhältnis von Kammerwasserproduktion und Kammerwasserabfluss reguliert (129). Die Kammerwasserproduktion beträgt 2 bis 3 $\mu\text{l min}^{-1}$ und ist unabhängig vom IOD. Im Zusammenhang mit dem IOD ist die Zirkulation des Kammerwassers für die Pathogenese des Glaukoms von großer Bedeutung. Im Auge sind die Vorderkammer, d.h. der Hohlraum zwischen Hornhaut, Iris- und Linsenvorderfläche sowie die Hinterkammer, d.h. die Iris- und Linsenhinterfläche und die Vorderfläche des Glaskörpers mit Kammerwasser gefüllt. Die Produktion des Kammerwassers erfolgt mit einer konstanten Rate, wobei diese bei Nacht um ca. 40% verringert ist. Beim Glaukom liegt keine erhöhte Kammerwasserproduktion vor, sondern ein gestörter Abfluss des Kammerwassers im TM (98, 130).

2.2.1 Bildung

Das Kammerwasser wird durch den Ziliarkörper (corpus ciliare) in einer Menge von ca. 2,4 mm^3/min produziert (98).

Der Ziliarkörper ist eine ringförmige Struktur, welche mit etwas Abstand kreisrund um die Linse liegt. Im Ziliarkörper sind die Zonulafasern verankert, die ihn mit der Linse verbinden. Im Ziliarkörper liegt der Musculus ciliaris der bei Kontraktion die Zonulafasern entspannt, wodurch weniger Zug auf die Linse ausgeübt wird.

Der Schlemm-Kanal liegt im Kammerwinkel, dort wo die Hornhaut auf die Iris trifft. Er ist ein kreisrund verlaufendes Sammelrohr, welches das Kammerwasser aufnimmt und es über kleine Abflusskanälchen in die Venen im Bereich der Lederhaut abtransportiert.

Zwischen Kammerwinkel und Schlemm-Kanal liegt das TM mit Spalten (Fontana-Räume). Durch diese Spalten gelangt das Kammerwasser aus dem Kammerwinkel in den Schlemm-Kanal (129).

Das Kammerwasser verlässt die Hinterkammer durch die Pupille in die Vorderkammer auf drei Wegen; trabekulär, uveoskleral und in die Iris. In **Abbildung 3** ist eine Übersicht über den Kammerwassabfluss dargestellt.

90% des Kammerwassers fließt durch das TM in den Schlemm-Kanal (trabekulärer, konventioneller Abfluss) und wird von episkleralen Venen aufgenommen. Der Abfluss ist

abhängig von Wassermenge und ausgeübten Druck, sodass eine Druckerhöhung zu einem erhöhten Abfluss führt (18).

Dabei ist der natürliche Hauptwiderstand der Drainage im TM zu finden, welches von innen nach außen einen dreischichtigen Aufbau hat. Das uveale Maschenwerk stellt die Begrenzung zur Vorderkammer dar, welches aus strangartigen, weiten Maschen besteht und einen geringen Strömungswiderstand besitzt. Als Mittelteil dient das korneosklerale Maschenwerk, welches aus blattartigen Maschen mit intertrabekulären Poren gebildet wird und für einen größeren Strömungswiderstand sorgt. Der Haupt-Strömungswiderstand befindet sich im endothelialen Maschenwerk als Begrenzung zum Schlemm'schen Kanal (130).

10% des Kammerwassers wird über den uveoskleralen, unkonventionellen Abfluss über den suprachoroidalen Raum in den venösen Kreislauf in Ziliarkörper, Choroidea und Sklera drainiert. Der kleine Rest des Kammerwassers fließt über die Iris ab (18).

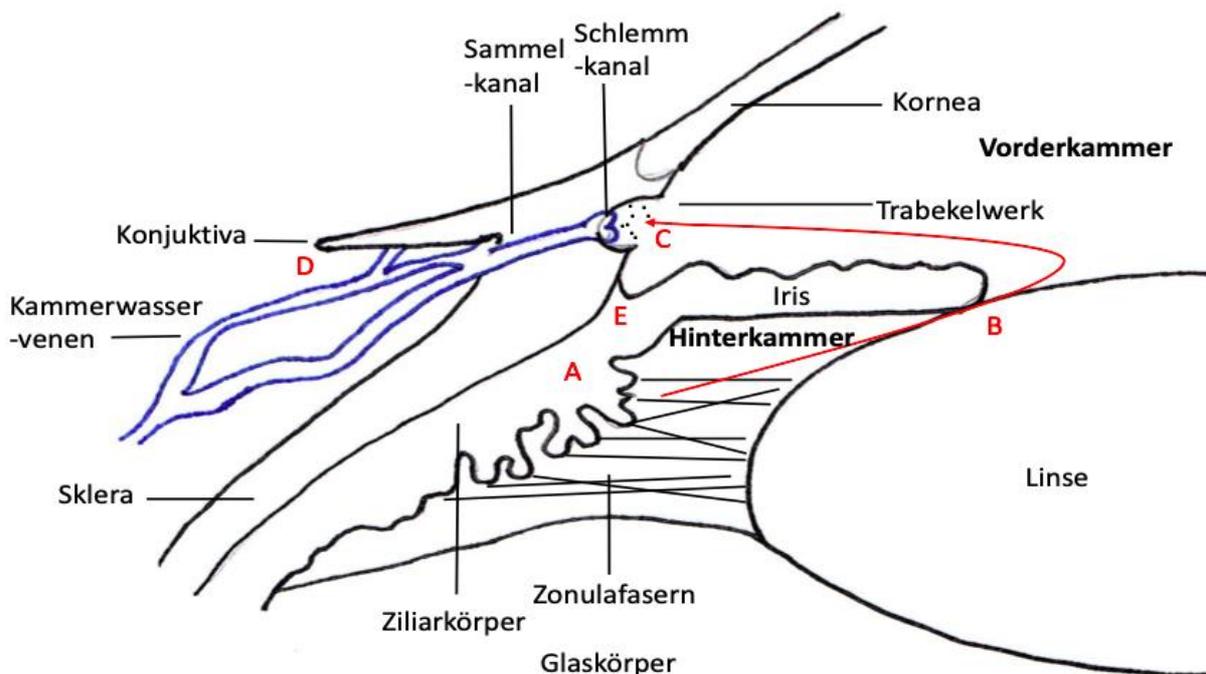


Abbildung 3: Anatomie der Kammerwasserbildung und des Kammerwasserabflusses im Auge

Bildung des Kammerwassers im Ziliarkörperepithel (A); Strömung des Kammerwassers durch die Hinterkammer an der Iris vorbei (B) in die Vorderkammer; Konventioneller trabekulärer Abfluss über das TM (C) und 20 bis 30 radiale Sammelkanäle in die episkleralen Kammerwasservenen (D); Unkonventioneller Abfluss über den uveoskleralen Kammerwasserweg (E)

80% des Kammerwassers werden über aktive Sekretionsmechanismen, 5% über Diffusion und 15% über Ultrafiltration gebildet. Die Bildung des Kammerwassers unterliegt einem zirkadianen Rhythmus.

Man geht davon aus, dass die Kammerwasserproduktion über humorale und periphere sowie zentrale neuronale Mechanismen gesteuert wird (131).

Das TM stellt eine „Schlüssel“-Region in der Pathogenese des Glaukoms dar und ist ein spezialisiertes Gewebe, das den Kammerwasserabfluss reguliert und den IOD kontrolliert. Es dient als ein biologischer Filter, der vom Kammerwasser durchlaufen werden muss, um zum Schlemm-Kanal zu gelangen (132). Es hat die Funktion Zelltrümmer aus dem Kammerwasser zu entfernen, bevor der herkömmliche Abflussweg erreicht wird. TM-Zellen wie Makrophagen müssen zelluläre Komponenten verarbeiten und entsorgen. TM-Zellen können durch Endozytose große Zelltrümmer in handhabbare exosomale Vesikel umwandeln und somit die Homoöstate im Auge, die den IOD kontrolliert, aufrechterhalten, wodurch die Bedeutung von Schäden der TM-Zellen bei der Pathogenese des Glaukoms erkannt wurde (132, 133).

2.2.2 Funktion

Das Kammerwasser ist für die Versorgung von bradytrophen Geweben des Auges wie die Linse und die Hornhaut zuständig. Außerdem hat es eine lichtbrechende Funktion (dioptrischer Apparat) und ist Teil des visuellen Systems (129).

Es transportiert Sauerstoff und Nährstoffe zur Augenlinse und transportiert Stoffwechselprodukte ab. Darüber hinaus trägt es durch seine hohe Konzentration von Ascorbinsäure zur Neutralisation freier Radikale bei (130). Zudem reguliert es den IOD und dient dem Erhalt der Form des Auges (134).

2.2.3 Zusammensetzung

Die Bildung des Kammerwassers kommt durch die Blut-Kammerwasserschranke (epithelial/endothelial), sowie den aktiven Transport von organischen und anorganischen Substanzen durch das Epithel des Ziliarkörpers zustande.

Es hat im Unterschied zum Plasma niedrigere Proteinkonzentrationen (20mg/100ml, entspricht etwa 200-mal weniger) und hohe Konzentrationen von Ascorbinsäure (Vitamin C, 20-mal mehr). Letzteres dient als Schutz der vorderen Augenstrukturen vor oxidativem Stress. Als Folge glykolytischer Aktivität von Hornhaut, Linse und anderen okulären Strukturen ist eine erhöhte Laktatkonzentration im Kammerwasser vorzufinden (131).

2.2.4 Immunprivileg des Auges

Das Immunprivileg des Auges ist durch einmalige immunregulatorische Mechanismen definiert. Das Auge hat einen Weg gefunden sich gegen Krankheitserreger vor einem entzündungsbedingten Verlust des Sehvermögens zu schützen. Dieser Weg wird als „Immunprivileg“ bezeichnet und ergibt sich aus zellulären, molekularen sowie anatomischen Spezialisierungen des Auges und des Immunsystems (135). Zu den Organen, die eine Immunreaktion nach Auftreten von Antigenen tolerieren oder im Stande sind diese zu unterdrücken, zählen neben dem Auge, das Zentralnervensystem, die Plazenta und der Fötus sowie der Thymus (77).

An der Regulation des Immunprivilegs des Auges ist unter anderem die Separation der Blut-Retina-Barriere und der Blut-Kammerwasser-Barriere durch tight-junctions beteiligt, welche durch ihre enorme Stabilität verhindern, dass unreife Leukozyten und Krankheitserreger im Blut das Auge passieren können. Die „Anterior-Chamber-Associated-Immuno-Deviation“ = Vorderkammerassoziierte abweichende Immunantwort“ (ACAID) zeichnet sich durch eine starke systemische Immunantwort aus. Sie wird durch Histokompatibilitätsantigene, tumorspezifische Antigene, Haptene, Herpes-Virus-Antigene und lösliche Proteine ausgelöst, welche in der Vorderkammer von antigenpräsentierenden Zellen erfasst werden und in die Milz und den Thymus wandern und dort natürliche Killer-T-Zellen aktivieren (136, 137). Die Rückführung von intraokulären Stoffen erfolgt über das TM und den Schlemm-Kanal in das venöse System. Die Milz wird somit auf direktem Weg erreicht, ohne das lymphatische System vorher durchlaufen zu haben (136).

Es können nur aktivierte T-Lymphozyten die Blut-Retina-Barriere durchlaufen. Diese werden im Kammerwasser durch entzündungshemmende Neuropeptide, Zytokine und Wachstumsfaktoren an der Aktivierung ihrer Eigenschaften gehindert und haben das Potenzial eine Augenentzündung zu verhindern. Diese immunsuppressive Eigenschaft wird dem Kammerwasser zugeschrieben (135, 137-139).

In Studien konnten sowohl im Serum als auch im Kammerwasser antigenspezifische Antikörper nachgewiesen werden, die in beiden Körperflüssigkeiten gegen mehr als 80% der Antigene übereinstimmten. Das Kammerwasser hat hierbei eine besondere Bedeutung, da es räumlich vom Blutkreislauf durch die Blut-Retina-Schranke getrennt ist und im direkten Kontakt mit der Retina steht (9, 140).

Die Netzhaut kann sich nach einer destruktiven Entzündung nicht regenerieren, daher arbeiten das Auge und das Immunsystem gemeinsam, um das Immunprivileg des Auges durch regulatorische T-Zellen, welche durch die Vorderkammer assoziierte Immunabweichung gebildet werden, sowie durch okuläre residente Zellen, wie Hornhaut-Endothelzellen und Augenpigmentepithelzellen und das Kammerwasser aufrechtzuerhalten (141).

2.3 Autoimmunkomponente beim Glaukom

2.3.1 Struktur und Funktion des Immunsystems

Das Immunsystem bildet mit einer Gesamtmasse von 2-3kg eine der größten funktionellen Einheiten unseres Körpers und unterliegt einem ständigen Wandel. Durch seine Fähigkeit körpereigene von körperfremden Strukturen, sogenannte Antigene zu unterscheiden, hat es eine herausragenden Schutzfunktion gegenüber Krankheitserregern wie z.B. Bakterien oder Viren (142). Es besteht aus einer Vielzahl an differenzierten Zellen die aus pluripotenten, hämapoetischen Stammzellen im Knochenmark entspringen (143). Man unterscheidet das angeborene, unspezifische und das adaptive, spezifische Immunsystem, die jeweils aus zellulären sowie humoralen Komponenten bestehen. Eine Übersicht über die zentralen Bestandteile des Immunsystems findet sich in **Tabelle 2**.

	Unspezifische Abwehrzellen	Spezifische Abwehrzellen
Zelluläre Komponenten	Granulozyten Natürliche Killerzellen Makrophagen/Monozyten Dendritische Zellen Mastzellen	T-Zellen <ul style="list-style-type: none"> • Zytotoxische T-Zellen • T-Helferzellen • T-Gedächtniszellen B-Zellen <ul style="list-style-type: none"> • Plasmazellen • B-Gedächtniszellen
Humorale Komponenten	Zytokine Akute-Phase-Proteine Komplementsystem Lysozym	Antikörper Zytokine

Tabelle 2: Übersicht über die zentralen Bestandteile des Immunsystems

Das spezifische Immunsystem ist von Geburt an funktionsfähig. Seine Funktion zielt nicht auf die Erkennung spezifischer Antigene ab, sondern greift ein breites Spektrum an Erregern an. Es besteht aus humoralen Komponenten wie Enzymen, dem Komplementsystem, Lysozymen und Akute-Phase-Proteinen sowie zellulären Komponenten wie Monozyten, Makrophagen und deren Vorläufern, den Monozyten, Granulozyten, dendritischen Zellen, Mastzellen und natürlichen Killer-Zellen. Diejenigen Komponenten die als humoral bezeichnet werden, befinden sich im Plasma, dem zellfreien Anteil des Blutes (143, 144).

Je nach Pathogen (Bakterium, Virus, Pilz, Parasit) sind unterschiedliche Zellen für die Ausschaltung eines Eindringlings notwendig. Zur erleichterten Kommunikation der Zellen untereinander dienen Zytokine. Zytokine sind meist lösliche Proteine und wirken auf verschiedenste Weise (145). Als erste Barriere des unspezifischen Abwehrsystems zählen physiologische Barrieren der Epithelzellschichten der Organe wie der Haut, der Mundhöhle

und der Lunge. Zellen wie Makrophagen, Granulozyten oder natürliche Killer-Zellen bekämpfen Pathogene durch Phagozytose oder extrazelluläre zytotoxische Substanzen indem sie die Erreger anhand ihrer Oberflächensignatur mittels Rezeptoren erkennen. Diese Rezeptorsysteme nennen sich Pattern-Recognition-Rezeptoren und dienen der Aktivierung der angeborenen Immunzellen. Einer dieser Rezeptortypen stellt der Toll-like Rezeptor dar, der Erreger-spezifische molekulare Muster auf Bakterien, Pilzen, Viren oder Parasiten erkennt (144).

Körpereigene Zellen können von körperfremden Erregern durch den Hauphistokompatibilitätskomplex („major histocompatibility complex, MHC) unterschieden werden. Beim Menschen wird der MHC-Komplex als „HLA-Komplex“ bezeichnet (humane Leukozytenantigen) (146). Sie dienen als Leitmoleküle zur Erkennung von Fremdantigenen, indem sie T-Zellen Peptide fremder Proteine darbieten (146). T-Lymphozyten haben ihren Ursprung im Thymus und werden in Milz und Lymphknoten aktiviert. Sie verfügen über einen T-Zell-Rezeptor, der Teile (Peptidfragmente) von Krankheitserregern erkennt. Diese Peptide werden mittels Glykoproteinen der MHC-Molekül an der Zelloberfläche präsentiert (147).

Praktisch alle Körperzellen exprimieren MHC-Klasse-I-Moleküle während die MHC-Klasse-II-Moleküle nur auf Körperzellen des Immunsystems (Makrophagen, Monozyten, Granulozyten, usw.) exprimiert werden. Die Peptide werden zwei verschiedenen Typen von T-Effektorzellen präsentiert: den zytotoxischen CD8+-T-Zellen, die infizierte Zielzellen abtöten und immer nur ein Antigen mit einem MHC-I-Moleküle erkennen und den CD4+-T-Zellen, die Makrophagen und B-Zellen aktivieren und immer ein MHC-II-Molekül zur Antigenerkennung benötigen (144, 147).

B-Zellen werden dagegen von freien Antigenen aktiviert und haben ihren Ursprung im Knochenmark (144). Bei Aktivierung ihrer Oberflächenimmunglobuline an ein Antigen differenzieren sie sich zu Plasmazellen oder B-Gedächtniszellen (147).

Eine weitere wichtige Komponente des unspezifischen Immunsystems stellt die Aktivierung des Komplementsystems dar. Es besteht aus Proteinen, die entweder über den klassischen Weg oder den alternativen Weg (Lectin) kaskadenähnlich aktiviert werden und die Lyse des Erregers vermitteln (144, 148).

Das adaptive, spezifische Immunsystem ist durch seine Lernfähigkeit charakterisiert. Es reagiert bei einer Erstinfektion zunächst langsam auf den Erreger, kommt es jedoch zu einer Zweitinfektion so antwortet es mit einer schnelleren und effektiveren Immunantwort (immunologisches Gedächtnis). Es ist in die humorale und die zellvermittelte Abwehr gegliedert. Das zentrale Ereignis der adaptiven Immunantwort ist die Bildung von Antikörpern (143). Immunkompetente Zellen werden im Knochenmark gebildet, wo sie als T- oder B-Lymphozyten auswandern. T-Lymphozyten induzieren die zelluläre Immunantwort und B-

Lymphozyten sind Vermittler der erworbenen humoralen Immunantwort. B-Zellen entwickeln sich zu Plasmazellen. Eine Plasmazelle sezerniert Antikörper einer Spezifität und einer Klasse äquivalent des stimulierenden Antigens ins Plasma. Nach Zweitkontakt mit einem Antigen bauen Gedächtnis-B-Zellen eine stärkere Immunantwort auf (immunologisches Gedächtnis) (149, 150).

Neben der direkten Bindung eines Antigens an B-Zellen, kann die Aktivierung des adaptiven Immunsystems durch den MHC-II-Komplex aktiviert werden (151). Sobald eine antigen-präsentierende Zelle (dendritische Zellen, Monozyten und Makrophagen) ein Pathogen durch Phagozytose aufgenommen hat, wird das Antigenfragment über den MHC-II-Komplex an der Membranoberfläche für T-Zellen präsentiert und von den Antigenrezeptoren der T-Lymphozyten (T-Zell-Rezeptor) erkannt. Sobald die T-Helferzellen den MHC-Klasse-II-Komplex des Makrophagen erkennen, initiieren sie die adaptive Immunantwort. Diese wird durch die Proliferation von T-Helferzellklonen sowie der Bildung von Zytokinen induziert (147). Die T-Helferzellen können B-Zellen stimulieren, die anschließend spezifischen Antikörper produzieren können (77, 143, 144). Antikörper besitzen im Wesentlichen zwei Aufgaben zur Eliminierung des Antigens: a) die Antigenerkennung und b) die Interaktion mit Effektormolekülen und Effektorzellen (z.B. Makrophagen, Leukozyten, Mastzellen) (152). Zur Veranschaulichung ist das Zusammenspiel aus unspezifischer und spezifischer Immunantwort in **Abbildung 4** dargestellt.

Bei immunkompetenten, gesunden Menschen befinden sich die Elemente des Immunsystems im Gleichgewicht. Kommt es jedoch zu einer unkontrollierten Zielrichtung der Immunantwort auf körpereigene Strukturen, so können sich Autoimmunerkrankungen entwickeln. Andererseits kann infolge einer zu schwachen Immunantwort, bei der die Elemente des Immunsystems nicht perfekt ineinandergreifen wie z.B. bei einer HIV-Infektion, kein ausreichender Schutz vor Pathogenen gewährleistet werden (153).

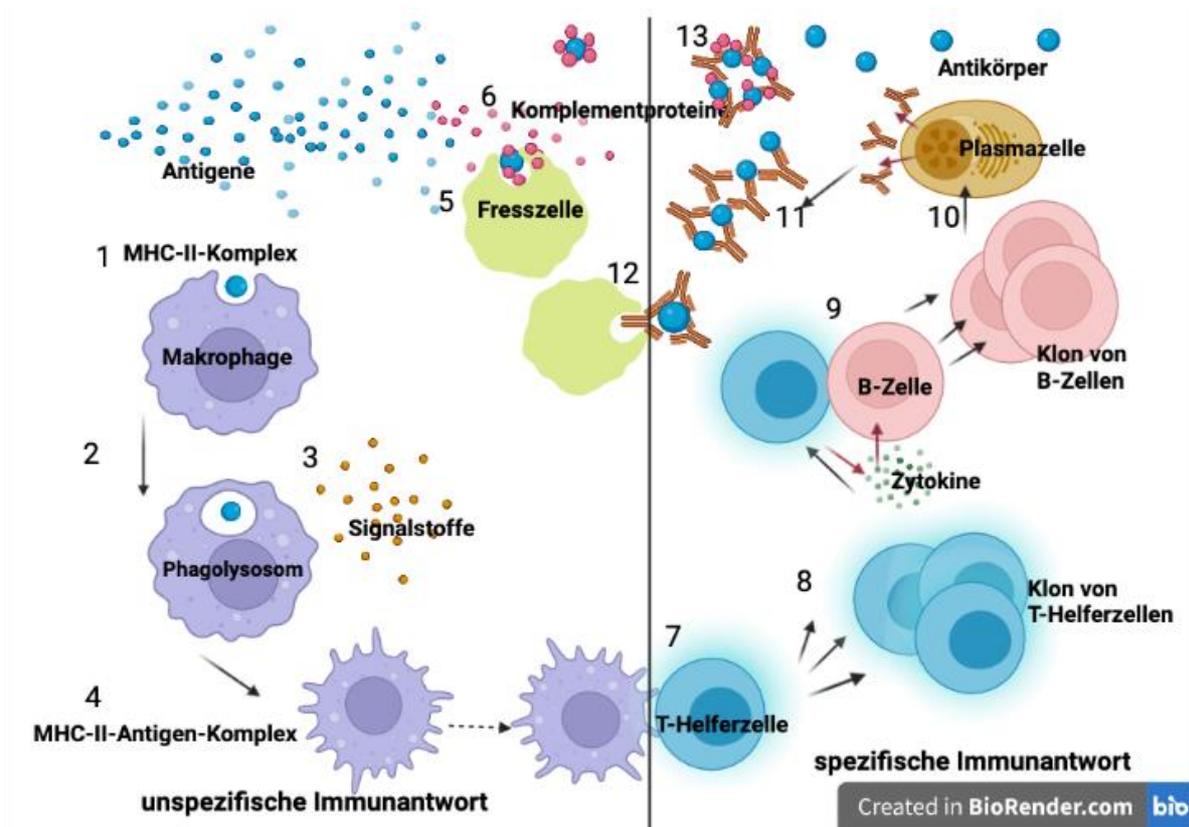


Abbildung 4: Das Prinzip des Immunsystems

2.3.1.1 Antikörperaufbau

Antikörper sind Immunglobuline (Ig) und Bestandteil von Serum, exkretorischen Flüssigkeiten (Milch, Tränen, Speichel) sowie von Oberflächen von Zellen lymphatischer Gewebe (154). Ig's werden von B-Zellen produziert und können sowohl als membranständige Rezeptoren vorliegen, als auch von aktivierten B-Zellen in die Umgebung sezerniert werden (77).

Das Ig Grundmodell bildet die Form eines Y und besteht aus zwei leichten Ketten (L-Ketten, Molekularmasse 25 000 Dalton) und 2 schweren Ketten (H-Ketten von heavy = schwer, Molekularmasse 50 000 bis 70 000 Dalton je nach Ig-Klasse) (155, 156). Die leichten und schweren Ketten in einem Ig-Molekül sind jeweils identisch und werden durch Disulfidbrücken zusammengehalten. Die Antikörperdomäne hat durch die Disulfidbrücke die Struktur einer Schleife (156). In **Abbildung 5** wird die Antikörper-Grundstruktur und ihre Domänen dargestellt.

Die leichte Kette besteht aus ca. 220 Aminosäuren. Bei Antikörpern umfasst eine Domäne einen Abschnitt von ca. 110 Aminosäuren. Die aminoterminalen 110 Aminosäuren zeigen bei Antikörpern verschiedener Spezifität eine hohe Variabilität. Man bezeichnet diesen Bereich daher als variable Region der leichten Kette (VL). Die variable Region vermittelt die Antigenbindungsstelle (142, 157). Die karboxyterminalen 107 Aminosäuren bilden die konstante Region (CL). Die variable und konstante Region der L-Kette bestehen aus jeweils

einer Domäne. Die schweren Ketten sind aus ca. 440 oder 550 Aminosäuren aufgebaut. Die variable Region (VH) am aminoterminalen Ende besteht aus einer Domäne von 110 Aminosäuren, während die konstante Region (CH) in 3 bzw. 4 Domänen aus jeweils 110 Aminosäuren gegliedert ist. Die Domänen im konstanten Teil der schweren Ketten werden CH1, CH2, CH3 bezeichnet (157).

Der Antikörper besteht aus 3 Fragmenten; zwei sind identisch und bilden die Antigen-spezifität, die Fab-Fragmente (fragment of antigen binding). Das 3. Fragment kristallisiert leicht aus und wird Fc-Stück genannt (fragment crystallizable). Das Fc-Stück vermittelt die biologische Funktion je nach Antikörper. Das Fab-Fragment ist für jeden Antikörper individuell und hat eine hohe Diversität (155).

Die Gelenkregion verbindet Fab- und Fc- Fragment zwischen der ersten und zweiten konstanten Region der schweren Kette. Schätzungen zufolge besitzt jeder Mensch mindestens 10^6 verschiedene Antikörperspezifitäten, die durch das hochvariable Fab-Fragment vermittelt werden. Das Fc-Fragment kommt dagegen nur in fünf unterschiedlichen Varianten vor (142).

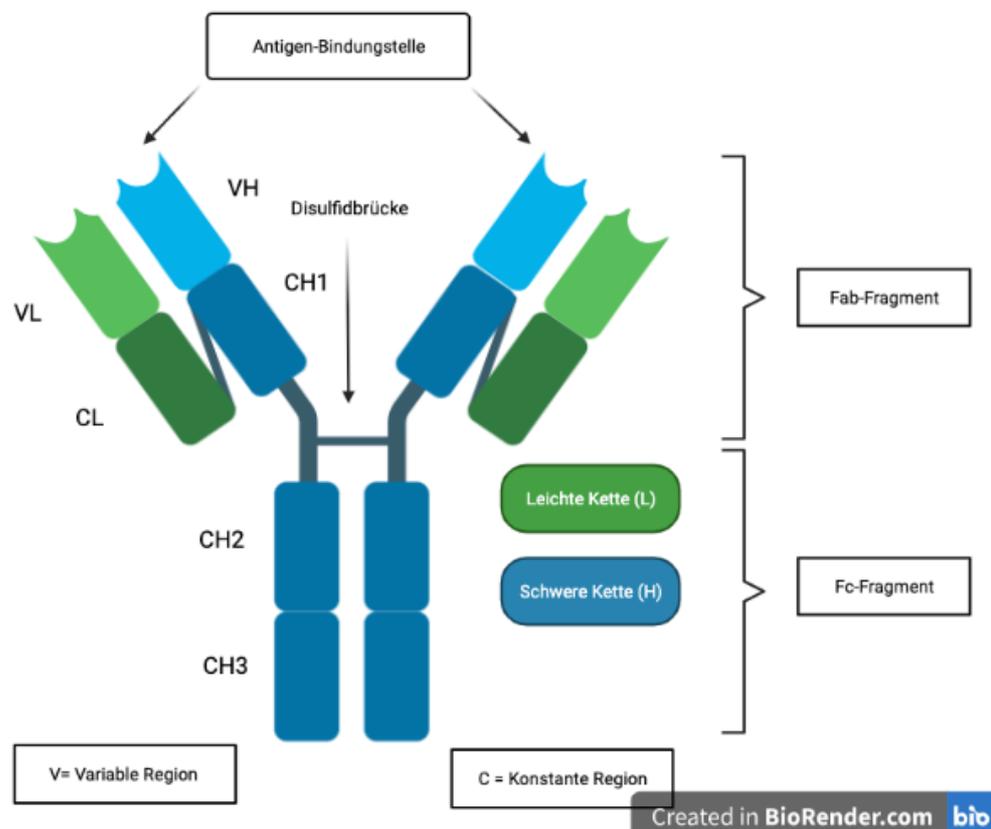


Abbildung 5: Antikörper-Grundstruktur und Domänen

Anhand der konstanten Region der Antikörper, können diese in die Isotypen IgM, IgD, IgG, IgA und IgE eingeteilt werden. Hat ein Antikörper ein Antigen an das Fab-Fragment gebunden, ändert sich dessen räumliche Struktur und der Antikörper kann mit dem Fc-Fragment an das

Komplement-Protein C1q binden und somit den klassischen Weg der Komplementkaskade aktivieren. Fc-Fragmente können ebenso an spezifische Fc-Rezeptoren (FcR) auf Effektorzellen binden und deren spezifische Effektorfunktion aktivieren (155). In **Abbildung 6** wird die Antikörper-Antigen-Bindung und Aktivierung des Komplementsystems mit Effektorzellen exemplarisch veranschaulicht.

Antikörper haben im Wesentlichen zwei Funktionen: Sie erkennen Antigene mit sehr hoher Spezifität und Affinität und lösen immunologische Effektor Mechanismen gegen das erkannte Antigen aus (142).

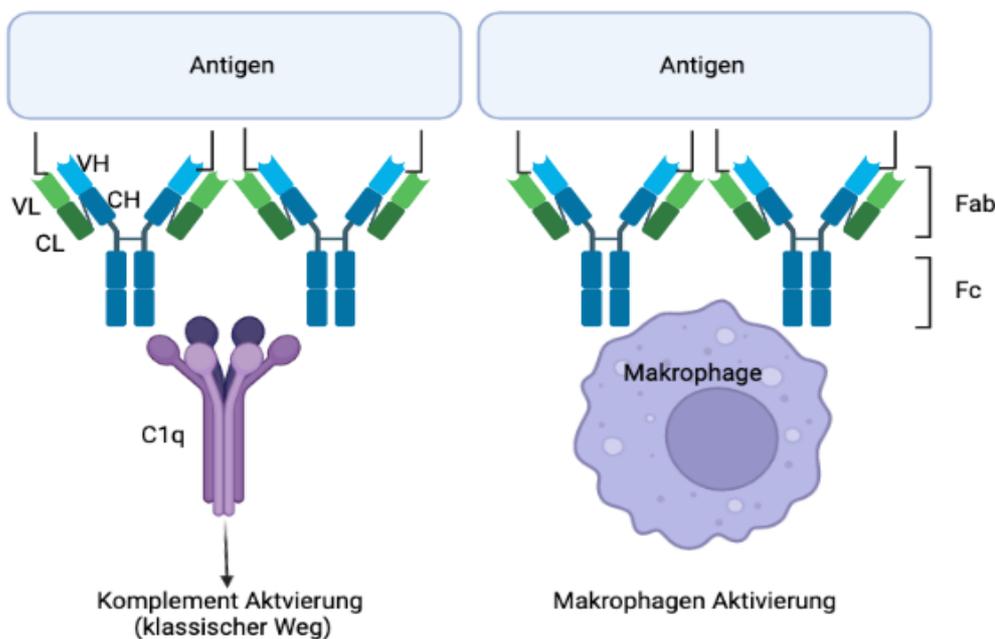


Abbildung 6: Antikörper-Antigen-Bindung und Aktivierung von Komplementsystem und Effektorzellen

2.3.1.2 Antigen/Antikörper- Bindung

Antigene sind Substanzen, welche vom Immunsystem erkannt werden, z.B. Viren, Bakterien oder große Moleküle. B-Lymphozyten sind in der Lage unterschiedliche Antigene zu erkennen während T-Lymphozyten Antigene nur, wenn sie auf MHC-I (CD8-T-Zellen) oder MHC-II (CD4-T-Zellen) präsentiert werden erkennen können (144). Epitope (= Determinanten) sind die Bereiche auf Antigenen an denen Antikörper binden. Antigene können viele verschiedene Epitope tragen und entsprechend werden Antikörper gegen eine, mehrere oder alle Epitope gebildet (142, 158). Kreuzreaktionen können entstehen, wenn verschiedene Antigene ähnliche Epitope besitzen und ein spezifischer Antikörper an unterschiedliche Antigene binden kann. Dies macht man sich bei Impfungen zum Vorteil (142).

Haptene hingegen sind Moleküle an die Antikörper zwar binden, die aber allein keine Immunantwort auslösen. Die Antigen-Antikörper-Bindung beruht auf physikochemischen

Wechselwirkungen und ist reversibel. Änderung der Temperatur, der Salzkonzentration, des pH-wertes oder des Harnstoffs können die Bindung brechen (158). Als Bindungskräfte wirken Wasserstoffbrücken, elektrische Ladungen, hydrophobe Wechselwirkungen und van-der-Waals-Kräfte wodurch eine hohe Affinität erreicht werden kann.

2.3.1.3 Antikörperklassen

Es gibt fünf Antikörperklassen (Isotypen) welche sich in ihrer Struktur, Verteilung im Organismus und ihren Effektorfunktionen unterscheiden; IgG, IgM, IgA, IgD und IgE. Die Isotypen sind durch die konstanten, schweren Ketten charakterisiert. Die fünf verschiedenen Typen von schweren Ig-Ketten sind μ , γ , α , ϵ und die leichten Ig-Ketten sind κ und λ (142). Die Klassen unterscheiden sich durch die Anzahl der Domänen und der Disulfidbrücken. IgD, IgE und IgG liegen als Monomere vor, IgA als Dimer oder Monomer und IgM als Pentamer. IgG unterteilt sich in vier Unterklassen, IgG1, IgG2, IgG3 und IgG4 und IgA in zwei Unterklassen IgA1 und IgA2 (156).

IgM Antikörper (schwere Kette: μ) sind die ersten die im Verlauf einer Immunreaktion sezerniert werden, da alle naiven B-Zellen, welche noch keinen Antigenkontakt hatten, IgM als B-Zell-Rezeptor auf ihrer Oberfläche tragen. IgM ist sehr effektiv in der Aktivierung des Komplementsystems, da die Bindung eines einzigen IgM-Moleküls bereits ausreicht, um die Kaskade in Gang zu setzen. Es vermittelt die Phagozytose des gebundenen Antigens. Im Verlauf einer Immunreaktion, z.B. bei Virusinfektionen, gilt IgM als Indiz für eine Erstinfektion da es sehr früh auftritt (152, 156).

IgG Antikörper (schwere Kette: γ) machen mit ca. 75% die am häufigsten vorkommende Ig-Klasse im Serum aus. Mit einer kleinen molekularen Masse von 150kDa gelangen sie auch in die Extrazellulärflüssigkeit und können dort ähnliche Konzentrationen wie im Serum erreichen (142). Sie werden als Zweitantikörper mit zeitlicher Verschiebung nach den IgM Antikörpern gebildet und sind bei Zweitkontakt mit einem Antigen (Zweitinfektion, nach Impfung) bereits nach Stunden nachweisbar, da IgG produzierende Gedächtniszellen bereits vorhanden sind (159). IgG kann als einziges Immunglobulin (Ig) durch die Plazenta in den Kreislauf des Embryos eintreten, wodurch es eine Leihimmunität erlangt, die das Kind in den ersten Wochen schützt. Ausnahme ist die Inkompatibilität der Rhesusfaktoren (142).

IgE (schwere Kette: ϵ) ist im Serum nur in geringer Konzentration von ca. 0,004% vorhanden. Er spielt bei Allergien eine große Rolle und bei der Abwehr von Parasiten. Die Fc-Enden der IgE Antikörper binden mit sehr hoher Affinität an IgE-Rezeptoren auf Mastzellen und eosinophilen Granulozyten. In dieser zellgebundenen Form hat IgE eine lange Halbwertszeit.

Bei der Bindung eines Antigens an ein mastzellgebundenes IgE Molekül kommt es zur Ausschüttung von Mediatoren der Zelle die zu charakteristischen Symptomen der Allergie führen (142, 152).

IgA (schwere Kette: α) kommt als einzige Ig-Klasse auf Schleimhäuten der Atemwege, des Verdauungstrakts und des Genitaltrakts sowie im Speichel, Tränen und der Muttermilch vor. Es ist das zweithäufigste Ig im Serum mit ca. 15%. Man findet IgA in drei Formen vor; als Monomer, Dimer mit J-Kette und als sekretorisches IgA. Das Sekretionsstück ist ein Glykoprotein, welches auch isoliert vorkommen kann. Es ist das einzige Protein, welches mit Immunglobulinketten assoziiert ist aber nicht von B-Lymphozyten, sondern von Epithelzellen synthetisiert wird. Die wichtigste Funktion ist die Neutralisation von Mikroorganismen bei lokalen Infektionen der Schleimhäute. Die sekretorischen IgA blockieren die Bindung der Mikroorganismen an die Zellen wodurch diese nicht in den Organismus eindringen können (142, 152).

IgD (schwere Kette: δ) wurde erst 1965 aufgrund seiner geringen Konzentration von $>0,2\%$ im Serum entdeckt. Man findet es auf der Oberfläche von B-Zellen. Über seine Funktion gibt es wenig Erkenntnisse aber man geht davon aus, dass es eine regulatorische Rolle bei der Aktivierung von Signalübertragungen spielt als zweiter Rezeptor identischer Spezifität auf IgM-tragenden B-Zellen (142, 152).

2.3.2 Autoimmunität

Das Immunsystem hat die Aufgabe vor Infektionen zu schützen, indem es körperfremde Antigene erkennt und mit einer spezifischen Immunantwort reagiert und die Gesundheit des Organismus und dessen Integrität bewahrt (160).

Die Selbsttoleranz definiert die Eigenschaft des Immunsystems nicht gegen körpereigene Antigene zu agieren, sondern nur auf körperfremde Antigene zu antworten. Der Verlust der Selbsttoleranz nennt sich Autoimmunität. Grundlage ist die positive und negative Selektion von reifenden T-Zellen im Thymus. Bei der immunologischen Reifung der T-Zellen im Thymus bilden diese MHC-I und MHC-II-Moleküle sowie verschiedene körpereigene Peptide (Autoantigene), an denen die Affinität des T-Zell-Rezeptors getestet wird. Nur diejenigen T-Zellen mit einer mäßigen Affinität zum MHC-Komplex sind in der Lage sich „Selbst“ zu erkennen und erhalten ein Wachstumssignal mit dem sie in den Blutkreislauf entlassen werden. Dies betrifft nur ca. 5% aller reifenden T-Zellen, ca. 95% werden apoptotisch (77, 161). Lebende Zellen senden Signale aus, die vor einem Angriff durch das Immunsystem schützen, während apoptotische Zellen hierzu nicht in der Lage sind und eliminiert werden. Ist

dieser Schutzmechanismus gestört, kommt es zu einer Autoimmunreaktion (160). Man unterscheidet systemische Autoimmunkrankheiten wie Lupus erythematodes von organspezifischen Autoimmunkrankheiten wie DM, die Hashimoto-Krankheit und multiple Sklerose (MS) (162, 163). Autoantikörper werden aber auch bei Krankheiten gefunden, die nicht als Autoimmunkrankheiten gelten sowie bei neurologischen Erkrankungen wie Alzheimer und Parkinson (6, 164, 165). Allen Autoimmunerkrankungen gemein ist die Entstehung zirkulierender Autoantikörper die bereits vor Ausbruch der Krankheit in Serumproben gefunden werden können (166).

Die Diskriminierung zwischen „körpereigen“ und „körperfremd“ ist nicht vollständig genetisch determiniert, sondern muss somatisch erlernt werden durch das Einwirken von Umweltfaktoren (z.B. Infektionen, Toxine, Ernährung) (155, 167).

Die Hypothese des Molekularen-Mimikry basiert auf der Strategie von Mikroben sich vor Angriffen des Immunsystems eines Wirtsorganismus zu schützen, indem sie sich an die Antigene des Wirtes anpassen. Es gibt zahlreichen Beweise für eine Assoziation von Infektionserregern mit Autoimmunerkrankungen sowie der Kreuzreaktivität des Immunsystems bei einer Infektion mit Bakterien, Viren, Parasiten und des Wirts. Die Immunantwort gegen Fremdartigene führt zur Aktivierung von T- oder B-Zellen gegen Epitope, die starke Ähnlichkeit mit körpereigenen Strukturen besitzen. Aus der Verwechslung zwischen „Selbst“ und „Fremd“ kann es zu einer Aktivierung von Autoantikörpern kommen, wie z.B. eine Autoimmunreaktion gegen Nieren- oder Herzgewebe nach einer Streptokokkeninfektion (160, 168, 169).

Autoimmunreaktionen können während der natürlichen Selektion autoreaktiver Lymphozyten entstehen, indem diese der Selektion entkommen und durch Autoantigene aktiviert werden. Man unterscheidet die zelluläre Autoimmunität bei der autoreaktive T-Lymphozyten Zellen durch zytotoxische Effektormechanismen zerstören (z.B. DM-Typ 1), von der humoralen Autoimmunität bei der autoreaktive B-Lymphozyten sich zu Plasmazellen entwickeln die Autoantikörper gegen körpereigene Antigene produzieren und in Folge dessen zu einer Immunreaktion führen (z.B. Lupus erythematodes) (160). Trotzdem findet man Autoantikörper im Serum von gesunden Patienten, die als „natürliche Autoantikörper“ bezeichnet werden. Ihr Auftreten ist unabhängig von der exogenen Antigenstimulation (immunologischer Homunculus) (170, 171). Die Herausforderung bei der Untersuchung von Antikörperrepertoires besteht darin, die pathogenetisch signifikanten Autoantikörper herauszufiltern (10).

Auge, Hoden und Gehirn zählen zu den immunprivilegierten Orten im Körper da, sie durch Barrieren (z.B. Blut-Hirn-Schranke) vom Immunsystem getrennt sind. Bei einer Gewebeschädigung am Auge und dem Freisetzen von augenspezifischen Antigenen in den

Blutkreislauf kann es jedoch zu einer Autoimmunreaktion sowohl am Verletzten als auch am gesunden Auge kommen (160).

2.3.3 Autoimmunkomponente in der Glaukopathogenese

Der erhöhte IOD stellt den wichtigsten Risikofaktor beim Glaukom dar. Es gibt jedoch viele Patienten mit normalem IOD (NDG) oder okulärer Hypertension, die dennoch nie ein Glaukom entwickeln. In der Pathogenese des Glaukoms werden unter anderem erhöhte Glutamat- und Stickoxid- Konzentrationen, oxidative Prozesse, ischämische Ereignisse sowie immunologische Mechanismen diskutiert (10, 172, 173).

Verstärkt in den Fokus rückte die Beteiligung des Immunsystems. Es konnten sowohl bei POWG, NDG als auch bei PDS Patienten Veränderungen der Antikörperspiegel im Serum und Kammerwasser gefunden werden von denen einige erhöhte und andere erniedrigte Titer aufweisen (5, 10, 12). Die einzelnen Glaukomgruppen wiesen in den Studien teilweise deutliche Unterschiede auf (12, 13, 174). Bei der Analyse der Autoantikörper-Reaktionen zwischen den Glaukomformen ist es möglich diese mit einer Sensitivität und Spezifität von 93% auseinanderzuhalten (175). Joachim et al. konnten verstärkte Antikörper-Reaktionen gegen retinale Antigene bei POWG-Patienten zeigen während die Antikörper-Reaktionen beim NDG gegen den SNK und den Sehnerv erhöht waren (41).

Boehm et al. zeigten, dass die Antigen-Antikörper Muster in ihrer Gesamtheit sowohl in Serum als auch im Kammerwasser nahezu kongruent sind (140). Mircoarray Analysen von Kammerwasser im Vergleich zum Serum desselben Patienten ergaben eine Korrelation von 70% zwischen den vorliegenden Antikörper-Veränderungen in beiden Flüssigkeiten (5). Dem Kammerwasser kommt hierbei eine besondere Rolle zu, da es in direktem Kontakt mit der Retina und somit einem wichtigen Ort der Pathogenese des Glaukoms steht, da es anders als das Blut, nicht durch die Blut-Retina-Schranke räumlich von den Neuronen getrennt ist (Immunprivileg des Auges) (140).

Spätestens seit den in den 90er-Jahren von Wax et al. durchgeführten Studien ist sicher, dass Veränderungen im Bereich des Immunsystems, welche auch eine autoimmune Komponente beinhalten, vorliegen. Es konnten erstmals erhöhte Antikörperreaktivitäten bei Patienten mit einem NDG gegen das Sjögren Syndrom-A-Antigen, sowie das Hitzeschockprotein (HSP) 60 detektiert werden (176, 177). Inzwischen belegen diverse Studien Proteine mit antigenem Charakter bei Glaukopatienten. Derweil folgte die Dokumentation erhöhter glaukomassoziierter Antikörper gegen verschiedene Proteine mit chaperonen Eigenschaften wie etwa HSP27, HSP60 oder HSP70, oder aber gegen α B-Kristallin (10, 12, 178, 179). Tezel et al. zeigten, dass Antikörper gegen HSPs an retinalen Zellen durch apoptotische Prozesse

den Zelltod von Neuronen und Zellen des retinalen Gefäßsystems beim Glaukom induzieren können (179).

Bei gesunden Menschen sind zwei Drittel der Immunglobuline natürlich vorkommende Autoantikörper und kommen ohne den Kontakt mit einem spezifischen Antigen im Serum vor. Natürliche Autoantikörper können sowohl eine physiologische als auch eine pathologische Rolle spielen und sind in der Lage Moleküle zu regulieren und in ihrer physiologischen Funktion zu beeinflussen. Die Gesamtheit der natürlichen Autoantikörper setzt sich aus IgM-Antikörpern und IgG-Antikörpern zusammen (180, 181). Die IgM-Antikörper bestehen bereits bei der Geburt während der Zeitpunkt und die Entstehung der IgG-Antikörper noch unklar ist (5). Sie sind in der Lage Oberflächenrezeptoren zu manipulieren und die Produktion von Botenstoffen zu steuern und spielen zudem eine Rolle bei der Beseitigung apoptotischer Zellen (171, 182). Diese Autoantikörper stellen unter gesunden Umständen regulatorische Faktoren dar, die an einer Vielzahl von physiologischen Vorgängen wie Homöostase, Transport, Modulation von Molekülen oder Immunregulation mitwirken (17). Beim Glaukom jedoch ist das Gleichgewicht der Autoantikörper gestört und es wurden sowohl im Serum, in der Netzhaut, in Tränenflüssigkeit und im Kammerwasser von Glaukompatienten veränderte Autoantikörper-Spiegel gefunden (12, 13, 174).

Es kann bislang nicht geklärt werden, ob die Alteration der natürlichen Autoimmunität bezogen auf die Antikörperrepertoires und deren Reaktivität einen epiphänomenalen Zusammenhang haben oder als Auslöser der Glaukopathogenese zu werten sind. Jedoch scheint es Argumente für beide Theorien zu geben (5, 140). Lorenz et al. konnten in ihrer Studie beweisen, dass bei Patienten mit einem akuten Winkelblockglaukom zum Zeitpunkt 0 eine deutlich geringere Autoantikörper Konzentration gegen die Antigene Neuronenspezifische Enolase (NSE), HSP27 und Tubulin-Tyrosin-Ligase-ähnliches Protein-12 (TTLL12) vorlagen, im Gegensatz zur gesunden Kontrollgruppe. Diese Erkenntnis ermöglicht es einige Autoantikörper als potenzielle Biomarker in der Früherkennung von Glaukomschäden in Betracht zu ziehen und spricht für einen kausalen Zusammenhang der Antikörper bei der Glaukopathogenese (183).

In diesem Zusammenhang postulierten Bell et al., dass eine erhöhte Anzahl an Autoantikörpern auf einen neurodestruktiven Effekt hindeuten, während erniedrigte Konzentrationen ein Beleg für den Verlust von protektiven Effekten der Autoantikörper bei Glaukompatienten ist (5).

Hierzu wurden bereits verschiedene Studien durchgeführt, welche im Folgenden erläutert werden. Die Arbeitsgruppe um Tezel et al. konnten bei der Untersuchung der pathogenetischen Relevanz von veränderten Autoantikörpern nachweisen, dass es bei einer Inkubation mit dem Antikörper gegen HSP27 vermehrt zur Apoptose der RGZ kommt und erhöhte Konzentrationen dieses Antikörpers bei Glaukompatienten vorliegen und die

veränderten Autoantikörper-Reaktionen zur Pathogenese des Glaukoms beitragen (184, 185). Es wurde zudem über funktionelle Proteine die für die Zellhomöostase relevant sind wie die NSE und die Glutathion-S-Transferase (GST) bei Glaukompatienten berichtet. Maruyama et al. konnten im Glaukom-Tiermodell zeigen, dass durch eine intravitreale Injektion von Autoantikörpern gegen die NSE ebenfalls eine retinale Dysfunktion von RGZ's induziert wird (186).

Im Gegensatz dazu zeigen andere Studien, dass eine Verminderung der Antikörper zu einem Verlust protektiver Effekte auf die RGZ führen kann. Eine Herunterregulation der Antikörper gegen die astroglialen Strukturproteine wie das Gliafibrilläre saure Protein (GFAP), Vimentin (VIM) oder Beta-Crystallin die vermehrt in Stresssituationen gebildet werden, könnte bei Glaukompatienten zu Veränderungen ihrer Funktion führen und ebenso an der Pathogenese des Glaukoms beteiligt sein (12, 187).

Teister et al. zeigten in ihrer Studie im Glaukom-Tiermodell, dass eine intravitreale Applikation des Autoantikörpers gegen α -Synuklein zur Neuroprotektion der retinalen Nervenfaserschichtdicke führt und Schädigungen der RGZ's reduziert (188). Diese verminderten Autoantikörper-Reaktionen passen sich in das Bild der protektiven Autoimmunität ein und es deutet darauf hin, dass einige Autoantikörper ein neuroprotektives Potenzial haben und somit ihre Reduktion ein Hinweis auf den Verlust ihrer schützenden Autoimmunität sein könnte (140, 173).

Durch die Arbeit von Joachim et al, in der die Immunisierung von Ratten mit verschiedenen okularen Antigenen zu einem allmählichen Verlust an RGZ's führte, wird die Theorie einer kausalen Bedeutung der Autoantikörper unterstützt. Nicht nur die Antikörperreaktionen gegen die spezifischen Antigene wurde verändert, sondern ebenso Reaktionen gegen andere Antigene (140, 189). Zudem konnte ein IOD-unabhängiger glaukomatöser Schaden der RGZ festgestellt werden sowie ein kontinuierlicher Anstieg von autoreaktiven Antikörpern, die eine wesentliche Rolle bei den Mechanismen spielen die zum Tod der RGZ führen (190).

Erhöhte Autoantikörper-Reaktionen können auch als generelle Antwort auf Stress durch neurodegenerative Prozesse verstanden werden und die Optikusneuropathie fördern und somit das Glaukom begünstigen (174).

Andere neurodegenerative Erkrankungen wie Alzheimer, Parkinson und Myasthenia gravis zeigen ebenfalls Veränderungen der Autoantikörperspiegel (191, 192). Für die Diagnose von Alzheimer, rheumatoider Arthritis oder systemischer Sklerose gelten Antikörperprofile als nützliche Marker für die Erkennung dieser Erkrankungen (173).

Das Glaukom ist eine komplexe multifaktorielle Erkrankung und obwohl die genauen molekularen Mechanismen der RGZ-Apoptose noch nicht vollständig verstanden sind, gibt es zunehmend Hinweise darauf, dass die Mikrogliaaktivierung und die Neuroinflammation sowohl

in frühen als auch in späten Stadien der glaukomatösen Neurodegeneration eine zentrale Rolle spielen (193, 194).

Zusammenfassend kann anhand zahlreicher Studien eine Veränderung der natürlichen, Antikörperbasierenden Autoimmunität bei Glaukompatienten nachgewiesen werden. Die detektierten Veränderungen können das Glaukom jedoch nicht als „klassische“ Autoimmunkrankheit identifizieren, da es sowohl erhöhte als auch erniedrigte Antikörper-Reaktionen gibt, die sowohl im Blut der Patienten als auch im Kammerwasser nachgewiesen werden konnten (140). Auch wenn Autoantikörper nicht für den Ausbruch des Glaukoms verantwortlich sind, so könnten veränderte Immunreaktionen synergetische Effekte auf die Progression der Erkrankung haben (11).

Trotz der noch ungeklärten Herkunft und Auswirkungen glaukomspezifischer Antikörper entsteht ein Potenzial, nicht nur als Mittel zur Glaukom-Früherkennung, sondern auch als therapeutische Option aufgrund der neuroprotektiven Wirkung einiger dieser Antikörper (5, 11).

3 Material und Methoden

3.1 Patientenkollektiv

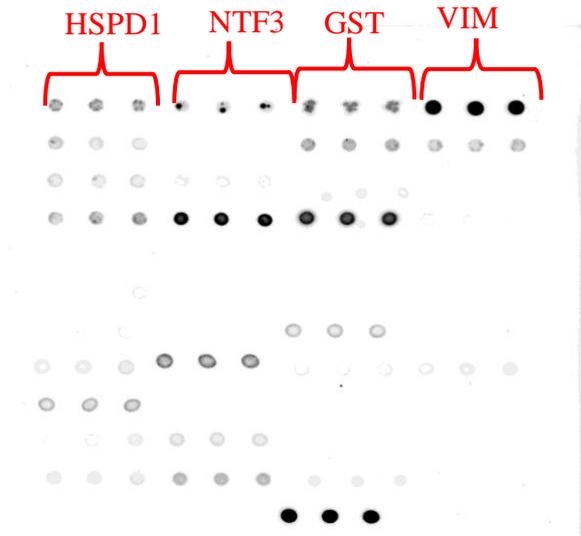
Die Einteilung der Patienten in die jeweiligen klinischen Gruppen erfolgte anhand der longitudinalen Kammerwasser-Proben. Unter Berücksichtigung der Deklaration des Weltärztebundes zu ethischen Grundsätzen für die medizinische Forschung am Menschen (Deklaration von Helsinki) wurden die Proben der Patienten gesammelt. Die allgemeine Auskunft der Patientendaten wurde auf Basis des klinischen SAP-Systems IS-H/i.s.h.med ermittelt und die Verpflichtung zur Einhaltung des Datengeheimnisses wurde eingeholt. Für alle Patienten wurde ein Datenblatt erstellt. Es wurden das Entnahmedatum der Kammerwasser-Proben des jeweiligen Auges, der operative Eingriff zur Probengewinnung sowie die Proben-ID dokumentiert. Sonstige Augen-Operationen wurden der Anamnese entnommen sowie der Visus und der IOD (Goldmann Tonometrie/Applanation). Zudem wurden die Parameter zur Funktionsdiagnostik einschließlich der Daten zur Gesichtsfelduntersuchung (Perimetrie, OCTOPUS 101 Perimeter; Haag-Streit, Wedel, Deutschland), zur HRT und dem GDx sowie der Funduskopie eingeschlossen. Bei allen Patienten wurden die Diagnosen der Augenerkrankungen, ihre Autoimmunerkrankungen sowie Allgemeinerkrankungen und die allgemeine und augenspezifische Medikamentenliste aus der SAP-Datenbank gewonnen.

3.1.1 Kammerwassergewinnung

Die insgesamt 255 Kammerwasserproben wurde im Rahmen von einer TE-Operation oder im Falle der Kontrollgruppe während einer KAT-Operation in der Augenklinik der Johannes-Gutenberg-Universität in Mainz gewonnen. Die Probanden wurden vor dem Eingriff über die Entnahme des Probenmaterials informiert und haben ihr Einverständnis hierzu abgegeben. Das Kammerwasser wurde zu Beginn der Operationen entnommen und sollte hierbei nicht mit Blut kontaminiert werden und die umliegenden Strukturen (Corneaepithel, Iris, Linse) durften nicht verletzt werden. Die Proben wurden mit einer Proben-ID markiert und bei - 80°C im Labor der Augenklinik eingefroren.

3.2 Antigene

Die Auswahl der potenziellen Antigene zur Analyse der Autoantikörper-Reaktionen im Protein-Microarray basiert auf Antigenen, die in früheren Studien der Arbeitsgruppe bei Glaukomapatienten ermittelt werden konnten. Insgesamt wurden 44 Antigene für das Protein-Microarray verwendet. Eine exemplarische Darstellung der verwendeten Antigene ist im Anhang in **Tabelle 16** zu finden. **Abbildung 7** zeigt das Spotting-Set-Up des Protein-Microarrays.



1	HSPD1	HSPD1	HSPD1	NTF3	NTF3	NTF3	GST	GST	GST	VIM	VIM	VIM
2	CLTA	CLTA	CLTA	SPTA1	SPTA1	SPTA1	ADRB2	ADRB2	ADRB2	b-S-Crys	b-S-Crys	b-S-Crys
3	HSPA1 A	HSPA1 A	HSPA1 A	ANXA5	ANXA5	ANXA5	SNCG	SNCG	SNCG	VDAC2	VDAC2	VDAC2
4	CALD1	CALD1	CALD1	TOP1	TOP1	TOP1	GAPD H	GAPD H	GAPD H	14-3-3 a/b	14-3-3 a/b	14-3-3 a/b
5	IQGAP 1	IQGAP 1	IQGAP 1	PNMA 2	PNMA 2	PNMA 2	MCM7	MCM7	MCM7	MCTS1	MCTS1	MCTS1
6	C1QBP	C1QBP	C1QBP	TARS	TARS	TARS	ANP32 B	ANP32 B	ANP32 B	FLNA	FLNA	FLNA
7	GFAP	GFAP	GFAP	TNNI3	TNNI3	TNNI3	Cyclo. A	Cyclo. A	Cyclo. A	g-Syn	g-Syn	g-Syn
8	NSE	NSE	NSE	LPPR3	LPPR3	LPPR3	CLUS	CLUS	CLUS	CALR	CALR	CALR
9	b-L-Crys	b-L-Crys	b-L-Crys	SOD	SOD	SOD	ACTN1	ACTN1	ACTN1	COPA	COPA	COPA
10	HNRN PF	HNRN PF	HNRN PF	HSP27	HSP27	HSP27	TGFB1 I1	TGFB1 I1	TGFB1 I1			
11	CLTA	CLTA	CLTA	ADRB2	ADRB2	ADRB2	SNCG	SNCG	SNCG	ACT	ACT	ACT
12				Printing buffer	Printing buffer	Printing buffer	IgG 0.08g/L	IgG 0.08g/L	IgG 0.08g/L			

Abbildung 7: Spotting Set-Up Exemplarisch dargestellt sind in der oberen Abbildung die Autoantikörper-Reaktionsmuster von Kammerwasserproben. Drei Spots in Reihe repräsentieren die technischen Replikate eines Antigens. Je dunkler die Färbung eines Spots, desto stärker die Reaktion der Autoantikörper gegen das jeweilige Antigen. In der unteren Abbildung sind diejenigen Proteine aufgelistet, gegen welche die auf den Microarray gedruckten Antikörper gerichtet sind.

3.3 Protein Microarray



Abbildung 8: Die Array-Objekträger werden mit einem piezoelektrischen berührungslosen Dispenser (Sci-FLEXARRAY; Scienion) gedruckt.

3.3.1 Herstellen der Arrays

Rekombinante oder aufgereinigte Proteine, die für das Antigen-Microarray ausgewählt wurden basieren auf früheren Studien der experimentellen Ophthalmologie in Mainz (siehe **Tabelle 16**) die Arrays wurden im Labor der Augenklinik in Mainz hergestellt. Als Substrat auf der die Antigene immobilisiert wurden, dienten mit Nitrozellulose beschichtete Array-Slides. Die Proteine haften an der Membran aufgrund von hydrophober Wechselwirkungen. Die Antigene wurden mittels eines piezoelektrischen Microarray Spotters (SciFLEXARRAY S3, Scenion, Berlin, Germany) in Triplikaten nebeneinander auf die mit Nitrozellulose beschichteten Glasträger (Slides) mit 16 einzelnen Subarrays aufgetragen und es wurde pro Replikat ca 1nL der jeweiligen Antigenlösung aufgebracht (siehe **Abbildung 8**). Es handelt sich um ein Non-contact-Verfahren, welches durch eine Piezoelementbasierende Technologie ausgezeichnet ist und bei der die Proteinlösungen in Form von kleinen Tropfen (240-280pl) aus einer Glasdüse auf die Slides geschossen werden. Mit Hilfe der Kamera gestützten Analyse-Programme sciDrop-Volume und autodrop-detection wurde die korrekte Position und das Volumen der Tropfen gesichert. Die Slides wurden für mindestens 12h belassen um eine vollständige Trocknung der Membran zu gewährleisten.

3.3.2 Inkubation

Alle Inkubationsschritte wurden auf einem Orbitalschüttler bei -4° Celsius durchgeführt, um eine Evaporation zu verhindern. Die Array Hybridisierung wurde mit 16-Well-Inkubationskammern durchgeführt (ProPlate Multiwell Chambers, Grace Biolabs, Bend, USA). Die Arrays wurden eine Stunde lang mit einem Blocking-Puffer inkubiert (Super G, Grace Biolabs, Bend, Oregon, USA). Dann wurde der Blockierungspuffer entfernt, und die Objektträger wurden dreimal für je 10min mit phosphatgepufferter Kochsalzlösung mit 0,5% Tween-20 (PBST) gewaschen. Anschließend wurden die Arrays mit 100 μ L Kammerwasser im Verhältnis 0,7 μ g/ μ L in Phosphatgepufferte Kochsalzlösung (PBS = phosphat-buffered saline) über Nacht inkubiert. Als Negativkontrolle wurde ein Subarray auf jedem Objektträger nur mit PBS inkubiert. Als nächstes wurden die Nitrozellulose Slides dreimal mit PBST gewaschen, gefolgt von einer Inkubation mit einem anti-humanen Antikörper, der mit einem Fluorophor konjugiert wurde (AlexaFluor® 647 AffiniPure Goat Anti-Human IgG, Fc γ -Fragment specific 109-605-008, Jackson ImmunoResearch) welcher als sekundärer Antikörper 1:500 in PBS verdünnt wurde, für eine Stunde behandelt. Dieser Schritt soll die im Kammerwasser vorhandenen Antikörper und indirekt die auf der Nitrozellulosemembran haftenden Antigene sichtbar machen.

Anschließend wurden die Arrays zweimal für 15min. mit PBST und zweimal für 15min. mit ultrareinem Wasser (Water HPLC grade, PanReac AppliChem, Kandel, Germany) gewaschen. Zuletzt wurden die Objektträger zwei Minuten lang in einem Vakuumzentrifugen-Konzentrator (SpeedVac, Thermo Scientific, Waltham, Massachusetts, USA) getrocknet.

3.3.3 Scannen

Die emittierenden Fluoreszenzsignale der Array-Bilder wurden als 16-Bit-TIFF-Datei mit einem hochauflösenden CCD-Kamera Arrayscanner (SensoSpot Fluorescence, Sensovation, Radolfzell, Germany) aufgenommen und gespeichert. Beim Scannen wird der Fluoreszenz-Farbstoff des Sekundärantikörpers durch Lichtemission im Scanner angeregt. Dieser wirft ein Lichtsignal mit definiertem Spektrum zurück welches mittels eines CCD Kamerasystems detektiert und als 16 bit TIFF Datei aufgenommen wird. Die Bildanalysesoftware ImageJ (ImageJ 5.5 BioDiscovery Inc., Los Angeles, Kalifornien, USA) wurde zum Einlesen der Spot-Intensitäten eingesetzt. **Abbildung 9** zeigt ein Beispiel eines gescannten Antigen-Microarrays. Spots mit schlechter Qualität wurden manuell markiert und aus der Analyse entfernt. Unbrauchbare Spots sind solche, die nicht ganz rund sind oder bei denen die drei Tropfen aus dem Spotter nicht exakt auf derselben Position gelandet sind. Schlechte Spots können aber auch während der Inkubation entstehen, wenn sich Schmutz auf dem Slide befindet oder die Nitrozellulose beschädigt wurde.

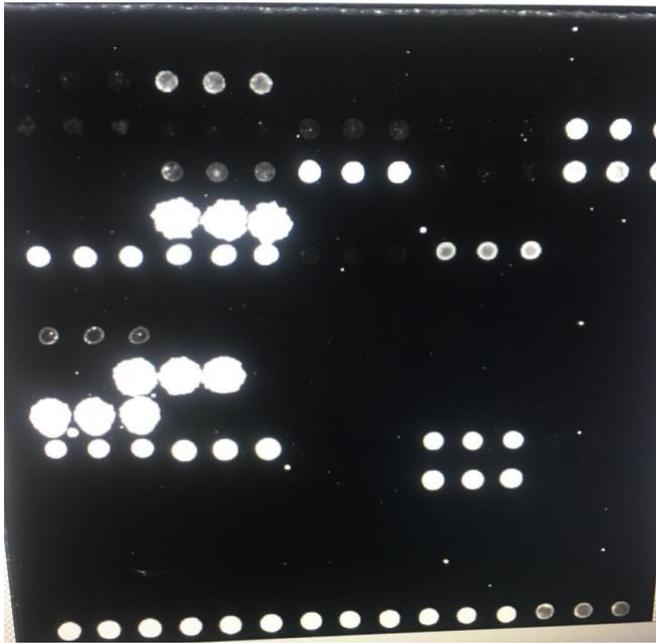


Abbildung 9: Beispiel eines gescannten Antigen-Microarrays nach Inkubation mit Kammerwasser und Fluorophor markierten anti-humanen IgG-Sekundärantikörpern.

Die Antigene wurden in Triplikaten gedruckt. Drei Spots in Reihe repräsentieren die technischen Replikat eines Antigens. Je dunkler die Färbung eines Spots, desto stärker ist die Reaktion der Autoantikörper gegen das jeweilige Antigen.

3.3.4 Daten Vorverarbeitung

Die von Imagene ermittelten Signalintensitäten wurden nach Statistica (Statistica 13, Statsoft, Tulsa, Oklahoma, USA) exportiert.

Für die anschließende Auswertung wurden die lokalen Hintergrundintensitäten von der Intensität subtrahiert. Signale, die nach der Hintergrundsubtraktion negative Werte erreichten, wurden als fehlende Daten behandelt. Für die Normalisierung wurde je Subarray ein Normalisierungsfaktor berechnet. Die Intensitäten von jedem Subarray wurden mit dem entsprechenden Normalisierungsfaktor multipliziert, um die Subarrays miteinander vergleichen zu können und technische Varianzen auszugleichen. Der Normalisierungsfaktor ergab sich aus der lokalen Signalintensität der IgG-Kontrolle des jeweiligen Subarrays im Vergleich zum globalen IgG-Mittelwert.

Nach der Normalisierung wurde von den Triplikaten zunächst ein Mittelwert der Signalintensitäten berechnet. Anschließend wurde ein Schwellenwert von den PBS Signalen ermittelt welcher das Detektionslimit darstellt (Schwellenwert = Mittelwert von der Negativkontrolle + 2 x Standardabweichung der Negativkontrolle). Alle Intensitäten die unterhalb des errechneten Schwellenwertes lagen wurden ausgeschlossen.

Alle weiteren Analysen basieren auf den normalisierten Fluoreszenzintensitäten (NFI). Antigene mit insgesamt 50% fehlenden Daten wurden für nachfolgende Analysen ausgeschlossen.

3.4 Statistische Analysen

Die statistischen Analysen wurden mit Statistica durchgeführt. Es wurde eine einseitige Kruskal-Wallis analysis of variance (ANOVA) mit multiplen Mittelwertvergleich (Dunn's Test) angewendet, um signifikante Veränderungen der Antikörperspiegel in den Studiengruppen zu bestimmen. Ein P -Wert von $<0,05$ wurde als statistisch signifikant angesehen (11).

Abbildung 10 veranschaulicht eine Übersicht des Microarray Verfahrens.

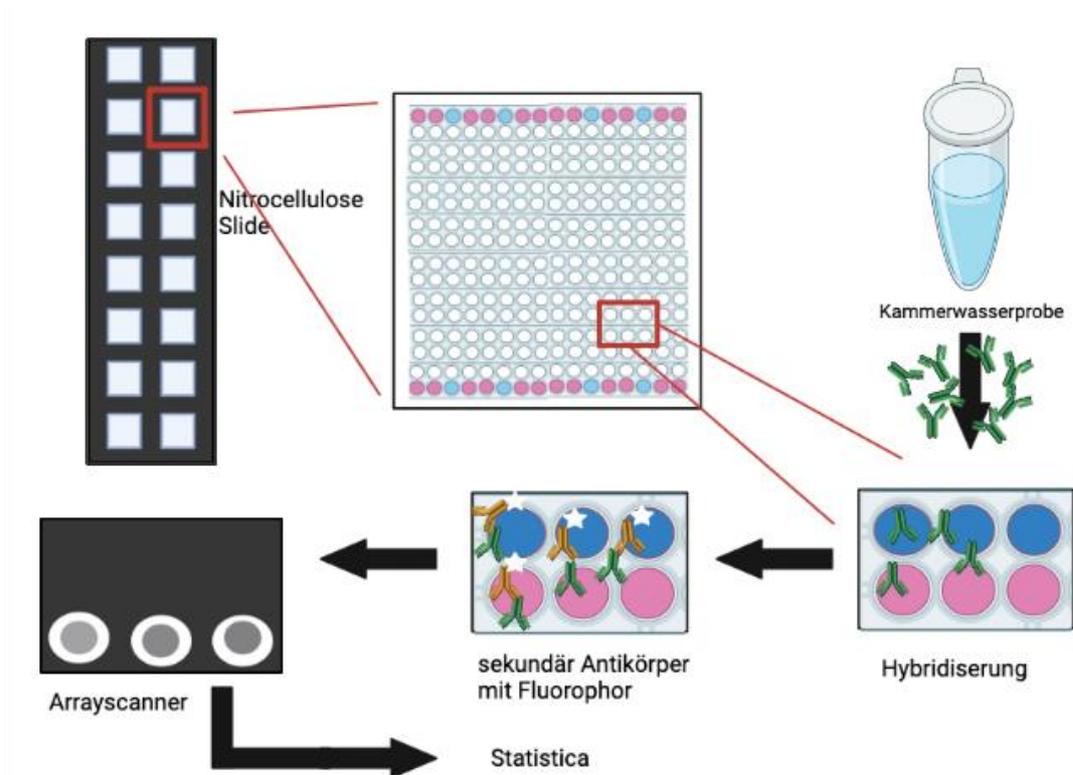


Abbildung 10: Microarray-Workflow

4 Ergebnisse

4.1 Ergebnisse der Patientendaten

Insgesamt wurden in dieser Studie Proben von 255 Patienten verwendet, die sich in 166 Patienten mit einem POWG (Durchschnittsalter: 68 ± 10), 56 Patienten mit einem PEX (Durchschnittsalter 72 ± 10), 22 Patienten mit einem NDG (Durchschnittsalter 66 ± 10), 11 Patienten mit einem PDS (Durchschnittsalter 60 ± 10) und in 11 Kontrollpatienten (KAT, Durchschnittsalter: 74 ± 10) unterteilen (siehe **Abbildung 11**, **Tabelle 3**). Die Kontrollgruppe der KAT Patienten zeigten weder klinische Anzeichen eines primären Offenwinkelglaukoms noch einer anderen Glaukomform oder Augenerkrankung neben dem KAT. Die Gruppe der Patienten mit einem KAT macht 4,1% der Patienten aus und unterteilt sich in 6 männliche und 5 weibliche Probanden. Neben der Kontrollgruppe der KAT Patienten, die keine Anzeichen eines Glaukoms zeigten, gibt es einen Anteil KAT Patienten, die ebenfalls an einem Glaukom erkrankt waren. Hier ist jedoch nicht klar, wann die Erstdiagnose eines KAT gestellt wurde und ob die Diagnose des KAT vor oder nach der Probenentnahme gestellt wurde.

Bei den POWG Patienten wurde bei 126 von 166 Patienten ebenso ein KAT diagnostiziert. Patienten mit einem POWG wiesen einen durchschnittlichen IOD von 17,5 mmHg mit Medikation auf. Sie zeigten glaukومتypische Gesichtsfeldausfälle sowie glaukomatöse Papillenexkavationen an mindestens einem Auge. Mit einem Anteil von 62,4% sind sie die größte Gruppe der Glaukomformen, gefolgt von der Gruppe des PEX-Glaukoms (32%). Der Anteil an Männern (76) ist in dieser Studie geringer als der an Frauen (90).

Patienten der Gruppe mit NDG weisen glaukومتypische Schäden an mindestens einem Auge auf bei einem durchschnittlichen IOD von 16 mmHg mit Therapie. Der Anteil der Patienten mit einem NDG beträgt 8,3% und besteht aus 16 Frauen und 6 Männer. 14 Patienten von insgesamt 22 Patienten mit NDG waren außerdem an einem KAT erkrankt.

Die Gruppe der Patienten mit einem PEX macht 32% des Patientenkollektivs aus und ist somit die größte Gruppe der Sekundärglaukome. Der durchschnittliche IOD beträgt 16,4mmHg mit Medikation. 29 Männer und 27 Frauen bilden die Gruppe der Patienten mit einem PEX-Glaukom. Von insgesamt 56 Patienten mit PEX waren ebenso 49 an einem KAT erkrankt.

Patienten der Gruppe mit einem PDS hatten einen Glaukomschaden an mindestens einem Auge bei einem IOD von 18,8mmHg. Es macht die kleinste Glaukomgruppe mit einem Anteil von 4,1% aus und unterteilt sich in 7 Männer und 4 Frauen. Bei 9 Patienten von insgesamt 11 Patienten mit einem PDS wurde ebenso ein KAT diagnostiziert.

Patientenkollektiv

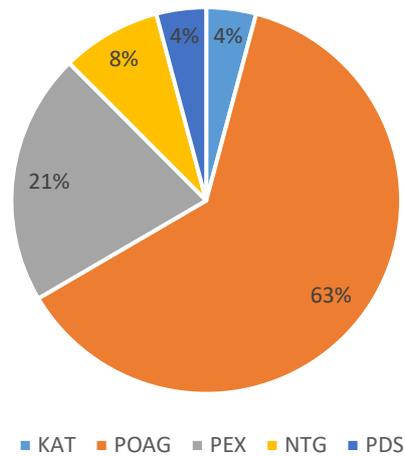


Abbildung 11: Kreisdiagramm des Patientenkollektivs – Übersicht der Gruppengrößen von KAT, POWG, PEX, NDG und PDS

Gruppe	Gesamt	Prozent	Männlich	Weiblich	Ø-Alter	Ø-Druck (mmHg)	Patienten mit einem KAT
KAT	11	4,1	6	5	74,1	19,0	11
POWG	166	62,4	76	90	68,5	17,5	126
PEX	56	32,0	29	27	72,3	16,4	49
NDG	22	8,3	6	16	66,3	16,0	14
PDS	11	4,1	7	4	60,3	18,8	9

Tabelle 3: Patientenkollektiv

Die Tabelle zeigt die Anzahl und das Geschlecht der Patienten der 4 Glaukomgruppen POWG, NDG, PEX und PDS sowie der Kontrollgruppe des KAT sowie ihr Durchschnittsalter und –Druck und den Anteil der Patienten die zusätzlich ein KAT haben.

4.2 Ergebnisse der Microarrayanalyse

Ziel der Microarrayanalyse war es die Antikörperreaktionen der Kammerwasserproben der fünf Gruppen zu analysieren und Reaktionsmuster gegen die selektierten Antigene zu ermitteln. Es wurde eine einseitige Kruskal-Wallis analysis of variance (ANOVA) mit multiplen Mittelwertvergleich vollzogen, um signifikante Veränderungen der Antikörperspiegel in den Studiengruppen zu bestimmen. Aus den insgesamt 44 verwendeten Antigenen ergaben 12 Antigene signifikante Unterschiede mit P-Werten von ≤ 0.05 in Bezug auf die vier untersuchten Glaukomgruppen PEX, POWG, NDG und PDS sowie der Kontrollgruppe des KAT. Der Vergleich der 5 Studiengruppen ergab viele, teilweise deutlich unterschiedliche Antikörperreaktionsmuster mit erhöhten sowie erniedrigten Reaktionen verglichen zu den jeweils anderen Gruppen. Die Ergebnisse der Microarray-Analyse werden im Folgenden anhand der signifikanten Antigene erläutert und beschrieben.

4.2.1 Ergebnisse der Autoantikörperreaktion gegen Caldesmon (CALD1)

Die signifikanten Unterschiede zwischen den Proteinprofilen der Glaukompatienten und denen der Kontrollgruppe konnten anhand der statistischen Analyse der Messdaten detektiert werden. Das CALD1 Antigen zeigt signifikant erhöhte Werte zwischen den PEX-Patienten und den Patienten der Kontrollgruppe des KAT ($P \leq 0,037$). Vergleicht man die Autoantikörperreaktionen der POWG-Patienten mit denen der PEX-Patienten, so ist festzustellen, dass diese hingegen signifikant erniedrigten Reaktionen gegen CALD1 ($P \leq 0,001$) im Kammerwasser aufweisen. (siehe **Abbildung 12**, **Tabelle 4**) Zwischen den NDG-Patienten und den PDS-Patienten konnten keine signifikanten Autoantikörper-Reaktionen gegen CALD1 festgestellt werden.

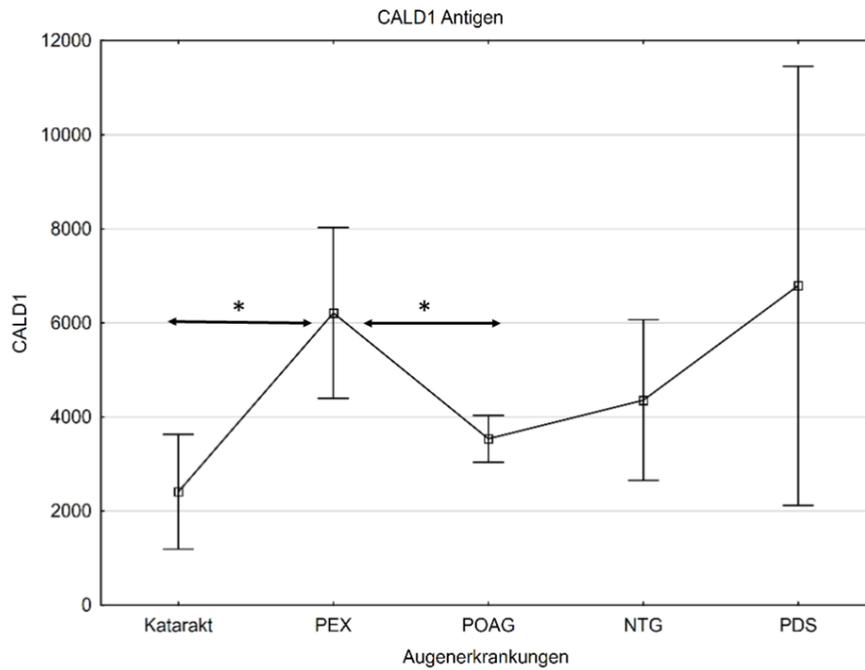


Abbildung 12: Whisker-Plot für CALD1

Kammerwasser-Autoantikörper gegen das CALD1 Antigen mit signifikanten Änderungen ihrer Reaktivität ($P \leq 0,05$). Auf der Y-Achse findet sich die normalisierte Reaktionsintensität und auf der X-Achse die fünf Gruppen (KAT, PEX, POWG, NDG und PDS). Die kleinen Quadrate zeigen die mittleren Fluoreszenzwerte an, die Balken die Standardabweichung des Mittelwerts (SE).

CALD1	KAT	PEX	POWG	NDG	PDS
KAT		0,037	1,000	0,863	0,109
PEX	0,037		0,001	1,000	1,000
POWG	1,000	0,001		1,000	0,210
NDG	0,863	1,000	1,000		1,000
PDS	0,109	1,000	0,210	1,000	

Tabelle 4: Kruskal-Wallis für CALD1

Kruskal-Wallis mit multiplen Mittelwertvergleichen für CALD1 zwischen den vier Glaukomgruppen (PEX, POWG, NDG und PDS) und der Kontrollgruppe des KAT. Die signifikanten P-Werte der Autoantikörper-Reaktivität sind rot unterlegt.

4.2.2 Ergebnisse der Autoantikörperreaktion gegen beta-S-Crystallin (b-S-Crys)

Betrachtet man die Autoantikörper-Reaktionen gegen b-S-Crys im Kammerwasser so zeigen sich signifikant erhöhte anti-b-S-Crys Reaktionen der PEX-Patienten ($P \leq 0,001$), sowie der PDS-Patienten ($P \leq 0,013$) im Vergleich zu der Kontrollgruppe der KAT-Patienten. Die Autoantikörper-Reaktionen zwischen den PEX- und POWG-Patienten gegen b-S-Crys zeigen wiederum erniedrigte Reaktion ($P \leq 0,001$). Anti-b-S-Crys Reaktionen im Kammerwasser in Bezug zu den NDG Patienten zeigten keine signifikanten Unterschiede. (siehe **Abbildung 13**, **Tabelle 5**)

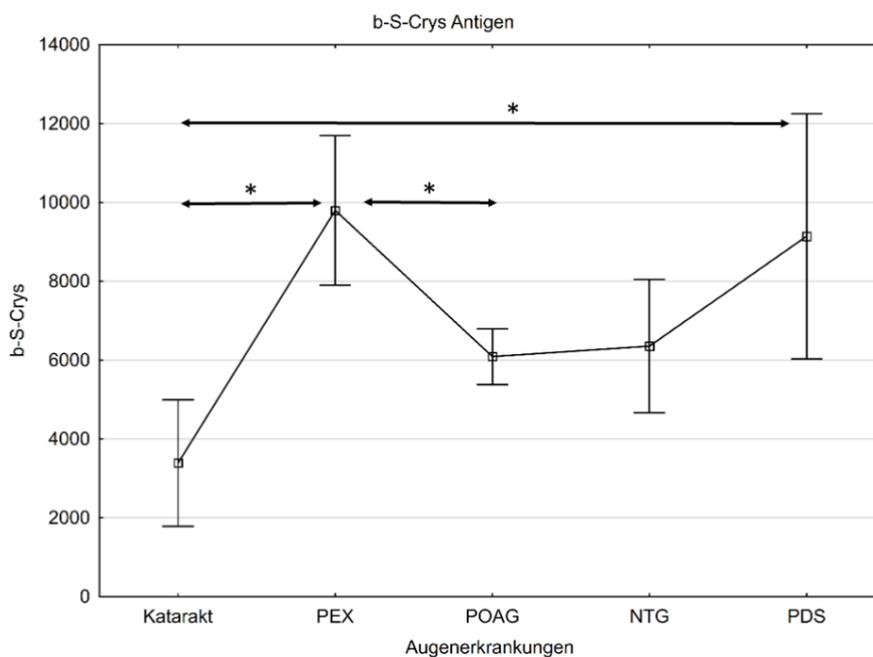


Abbildung 13: Whisker-Plots für b-S-Crys

Kammerwasser-Autoantikörper gegen das b-S-Crys Antigen mit signifikanten Änderungen ihrer Reaktivität ($P \leq 0,05$).

b-S-Crys	KAT	PEX	POWG	NDG	PDS
KAT		0,001	0,404	0,298	0,013
PEX	0,001		0,001	0,651	1,000
POWG	0,404	0,001		1,000	0,190
NDG	0,298	0,651	1,000		1,000
PDS	0,013	1,000	0,190	1,000	

Tabelle 5: Kruskal-Wallis für b-S-Crys

Kruskal-Wallis mit multiplen Mittelwertvergleichen für b-S-Crys zwischen den vier Glaukomgruppen (PEX, POWG, NDG und PDS) und der Kontrollgruppe des KAT. Die signifikanten P-Werte der Autoantikörper-Reaktivität sind rot unterlegt.

4.2.3 Ergebnisse der Autoantikörperreaktion gegen beta-L-Crystallin (b-L-Crys)

Die Autoantikörper-Reaktionen im Kammerwasser gegen b-L-Crys zeigen ausschließlich erniedrigte Reaktionen zwischen den PDS und POWG-Patienten ($P \leq 0,018$). Zwischen den anderen Glaukomgruppen sowie der Kontrollgruppe des KAT konnten keine signifikanten Reaktionen festgestellt werden. (siehe **Abbildung 14, Tabelle 6**)

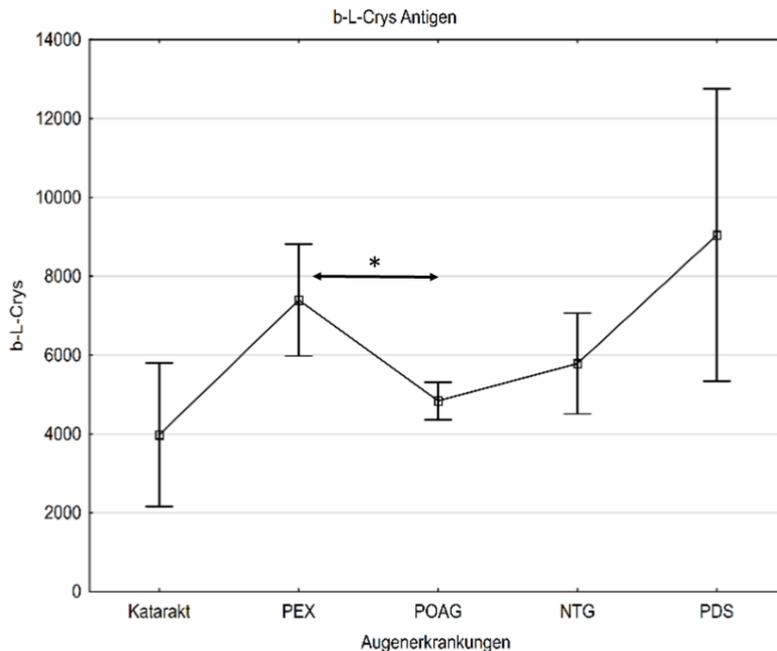


Abbildung 14: Whisker-Plots für b-L-Crys

Kammerwasser- Autoantikörper gegen das b-L-Crys Antigen mit signifikanten Änderungen ihrer Reaktivität ($P \leq 0,05$).

b-L-Crys	KAT	PEX	POWG	NDG	PDS
KAT		0,594	1,000	1,000	0,172
PEX	0,594		0,018	1,000	1,000
POWG	1,000	0,018		0,849	0,051
NDG	1,000	1,000	0,849		1,000
PDS	0,172	1,000	0,051	1,000	

Tabelle 6: Kruskal-Wallis für b-L-Crys

Kruskal-Wallis mit multiplen Mittelwertvergleichen für b-L-Crys zwischen den vier Glaukomgruppen (PEX, POWG, NDG und PDS) und der Kontrollgruppe des KAT. Die signifikanten P-Werte der Autoantikörper-Reaktivität sind rot unterlegt.

4.2.4 Ergebnisse der Autoantikörperreaktion gegen das Lipidphosphat-Phosphatase-verwandten Proteine Typ 3 (LPPR3)

Vergleicht man die Autoantikörper-Reaktionen der PEX- und der POWG- Patienten mit denen der Kontrollgruppe der KAT-Patienten, so ist festzustellen, dass diese signifikant erhöhte Reaktionen gegen LPPR3 ($P \leq 0,017$ und $P \leq 0,030$) aufweisen. Vergleicht man jedoch die Reaktionen der PEX-Patienten mit denen der POWG-Patienten so zeigen sich signifikant erniedrigte Reaktionen gegen LPPR3 ($P \leq 0,056$). Die NDG-Patienten zeigen keine signifikanten Reaktionen zwischen den Gruppen. (siehe **Abbildung 15, Tabelle 7**)

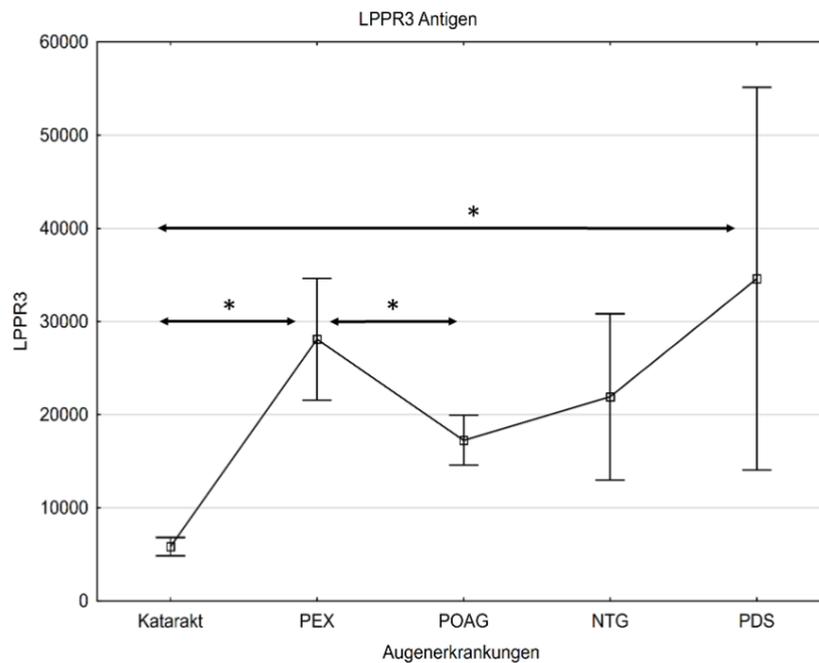


Abbildung 15: Whisker-Plots für LPPR3

Kammerwasser-Autoantikörper gegen das LPPR3 Antigen mit signifikanten Änderungen ihrer Reaktivität ($P \leq 0,05$).

LPPR3	KAT	PEX	POWG	NDG	PDS
KAT		0,017	0,379	0,256	0,030
PEX	0,017		0,056	1,000	1,000
POWG	0,379	0,056		1,000	0,444
NDG	0,256	1,000	1,000		1,000
PDS	0,030	1,000	0,444	1,000	

Tabelle 7: Kruskal-Wallis für LPPR3

Kruskal-Wallis mit multiplen Mittelwertvergleichen für LPPR3 zwischen den vier Glaukomgruppen (PEX, POWG, NDG und PDS) und der Kontrollgruppe des KAT. Die signifikanten P-Werte der Autoantikörper-Reaktivität sind rot unterlegt.

4.2.5 Ergebnisse der Autoantikörperreaktion gegen Vimentin (VIM)

Kammerwasser-Antikörper gegen das VIM Antigen zeigen signifikante Unterschiede im Vergleich der POWG-Patienten zu den NDG-Patienten ($P \leq 0,010$). Zwischen den anderen Gruppen konnten keine signifikanten Unterschiede der Autoantikörper-Reaktion gegen VIM detektiert werden. (siehe **Abbildung 16, Tabelle 8**)

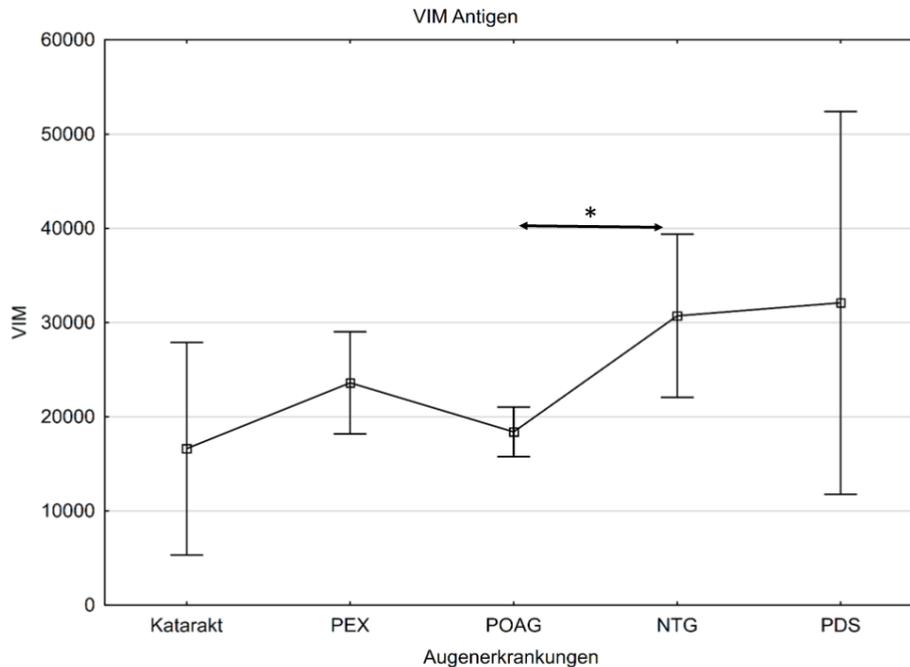


Abbildung 16: Whisker-Plots für VIM

Kammerwasser-Autoantikörper gegen das VIM Antigen mit signifikanten Änderungen ihrer Reaktivität ($P \leq 0,05$).

VIM	KAT	PEX	POWG	NDG	PDS
KAT		0,853	1,000	0,089	0,429
PEX	0,853		0,282	1,000	1,000
POWG	1,000	0,282		0,010	0,459
NDG	0,089	1,000	0,010		1,000
PDS	0,429	1,000	0,459	1,000	

Tabelle 8: Kruskal-Wallis für VIM

Kruskal-Wallis mit multiplen Mittelwertvergleichen für VIM zwischen den vier Glaukomgruppen (PEX, POWG, NDG und PDS) und der Kontrollgruppe des KAT. Die signifikanten P-Werte der Autoantikörper-Reaktivität sind rot unterlegt.

4.2.6 Ergebnisse der Autoantikörperreaktion gegen das Gliafibrilläre saure Protein (GFAP)

Die Autoantikörper-Reaktionen gegen GFAP zeigen signifikant erhöhte Werte im Vergleich der PEX-Patienten zu den KAT-Patienten ($P \leq 0,034$), während signifikant erniedrigte Anti-GFAP Reaktionen im Vergleich zwischen den POWG-Patienten und den PEX Patienten zu beobachten sind ($P \leq 0,000$).

Die NDG- und PDS- Patienten zeigen keine signifikanten Unterschiede in den Autoantikörper-Reaktionen gegen GFAP. (siehe **Abbildung 17, Tabelle 9**)

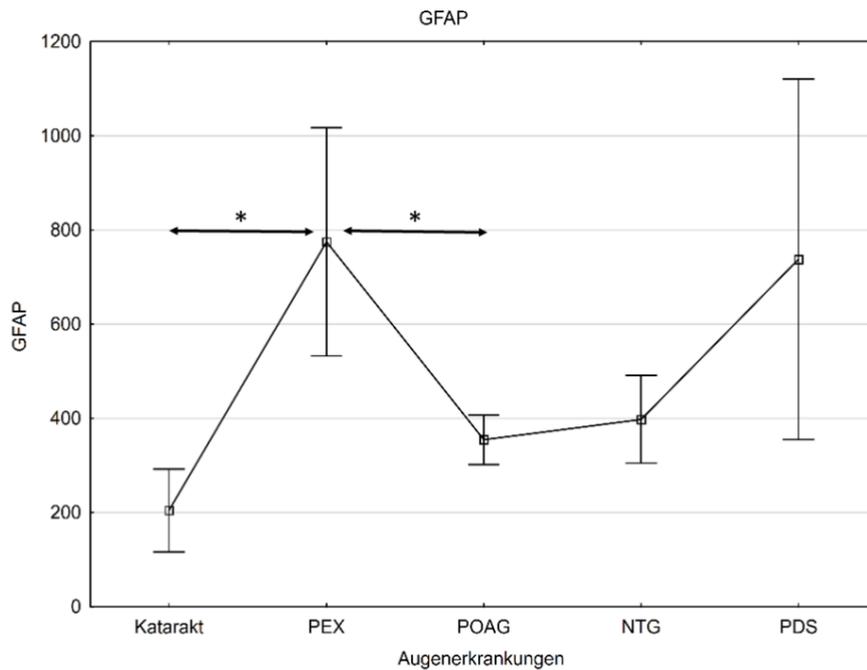


Abbildung 17: Whisker-Plots für GFAP

Kammerwasser-Autoantikörper gegen das GFAP Antigen mit signifikanten Änderungen ihrer Reaktivität ($P \leq 0,05$).

GFAP	KAT	PEX	POWG	NDG	PDS
KAT		0,034	1,000	0,535	0,058
PEX	0,034		0,000	1,000	1,000
POWG	1,000	0,000		1,000	0,060
NDG	0,535	1,000	1,000		1,000
PDS	0,058	1,000	0,060	1,000	

Tabelle 9: Kruskal-Wallis für GFAP

Kruskal-Wallis mit multiplen Mittelwertvergleichen für GFAP zwischen den vier Glaukomgruppen (PEX, POWG, NDG und PDS) und der Kontrollgruppe des KAT. Die signifikanten P-Werte der Autoantikörper-Reaktivität sind rot unterlegt.

4.2.7 Ergebnisse der Autoantikörperreaktion gegen Calreticulin (CALR)

Zwischen der Gruppe der POWG- und PDS-Patienten ($P \leq 0,003$) sowie der PEX- und PDS-Patienten ($P \leq 0,031$) konnten signifikant erhöhte Anti-CALR-Reaktionen detektiert werden.

Zwischen der Kontrollgruppe der KAT- sowie den NDG-Patienten konnten keine signifikanten Unterschiede festgestellt werden. (siehe **Abbildung 18, Tabelle 10**)

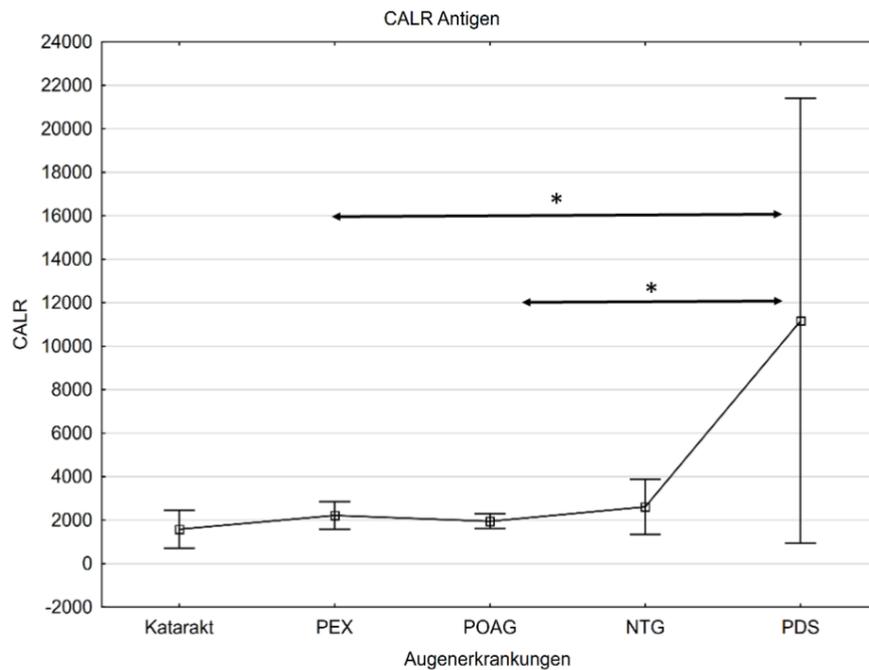


Abbildung 18: Whisker-Plots für CALR

Kammerwasser-Autoantikörper gegen das CALR Antigen mit signifikanten Änderungen ihrer Reaktivität ($P \leq 0,05$).

CALR	KAT	PEX	POWG	NDG	PDS
KAT		1,000	1,000	1,000	0,286
PEX	1,000		1,000	1,000	0,031
POWG	1,000	1,000		1,000	0,003
NDG	1,000	1,000	1,000		0,207
PDS	0,286	0,031	0,003	0,207	

Tabelle 10: Kruskal-Wallis für CALR

Kruskal-Wallis mit multiplen Mittelwertvergleichen für CALR zwischen den vier Glaukom-gruppen (PEX, POWG, NDG und PDS) und der Kontrollgruppe des KAT. Die signifikanten P-Werte der Autoantikörper-Reaktivität sind rot unterlegt.

4.2.8 Ergebnisse der Autoantikörperreaktion gegen das Das Komplement 1q-bindendes Protein (C1QBP)

Die im Kammerwasser detektierten Autoantikörper gegen das C1QBP Antigen zeigen ausschließlich signifikant herunterregulierte Reaktionen im Vergleich zwischen den PEX- und POWG-Patienten ($P \leq 0,018$) und im Vergleich zwischen den PEX- und NDG-Patienten ($P \leq 0,001$). In Bezug zu den KAT Patienten sowie den PDS-Patienten konnten keine signifikanten Unterschiede festgestellt werden. (siehe **Abbildung 19, Tabelle 11**)

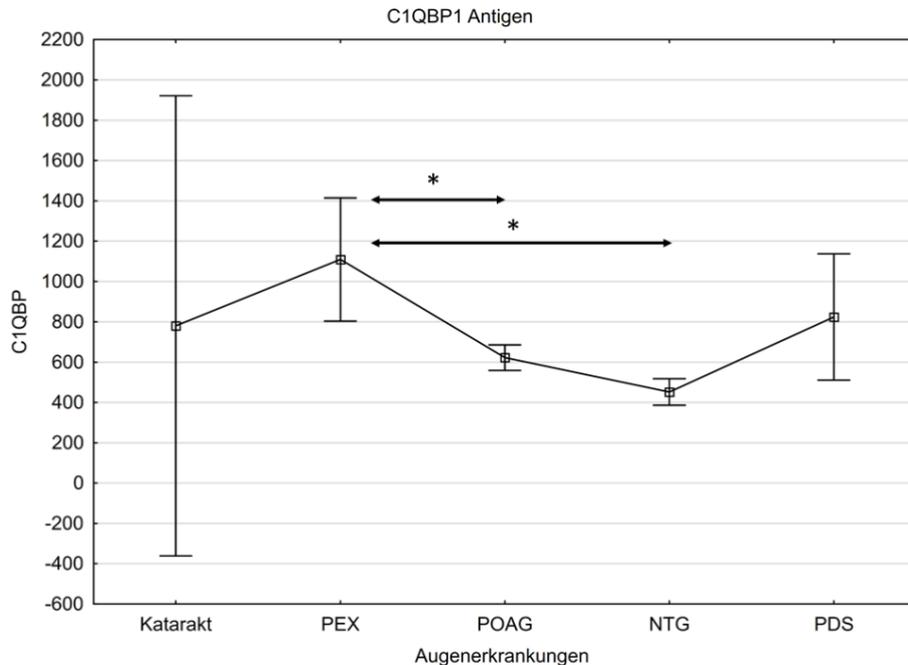


Abbildung 19: Whisker-Plots für C1QBP

Kammerwasser-Autoantikörper gegen das C1QBP Antigen mit signifikanten Änderungen ihrer Reaktivität ($P \leq 0,05$).

C1QBP	KAT	PEX	POWG	NDG	PDS
KAT		1,000	1,000	1,000	1,000
PEX	1,000		0,018	0,001	1,000
POWG	1,000	0,018		0,324	1,000
NDG	1,000	0,001	0,324		0,068
PDS	1,000	1,000	1,000	0,068	

Tabelle 11: Kruskal-Wallis für C1QBP

Kruskal-Wallis mit multiplen Mittelwertvergleichen für C1QBP zwischen den vier Glaukomgruppen (PEX, POWG, NDG und PDS) und der Kontrollgruppe des KAT. Die signifikanten P-Werte der Autoantikörper-Reaktivität sind rot unterlegt.

4.2.9 Ergebnisse der Autoantikörperreaktion gegen das Heterogene nukleare Ribunukleoproteine F (hnRNP F)

Die Autoantikörper-Reaktionen gegen das HNRNPF Antigen zeigen ausschließlich signifikant erhöhte Reaktionen, wenn man die POWG-Patienten mit PDS-Patienten ($P \leq 0,46$) vergleicht und die PDS-Patienten mit der Kontrollgruppe der KAT-Patienten ($P \leq 0,030$). Signifikante anti-HNRNPF-Reaktionen konnten in der Gruppe der PEX und NDG-Patienten nicht gezeigt werden. (siehe **Abbildung 20, Tabelle 12**)

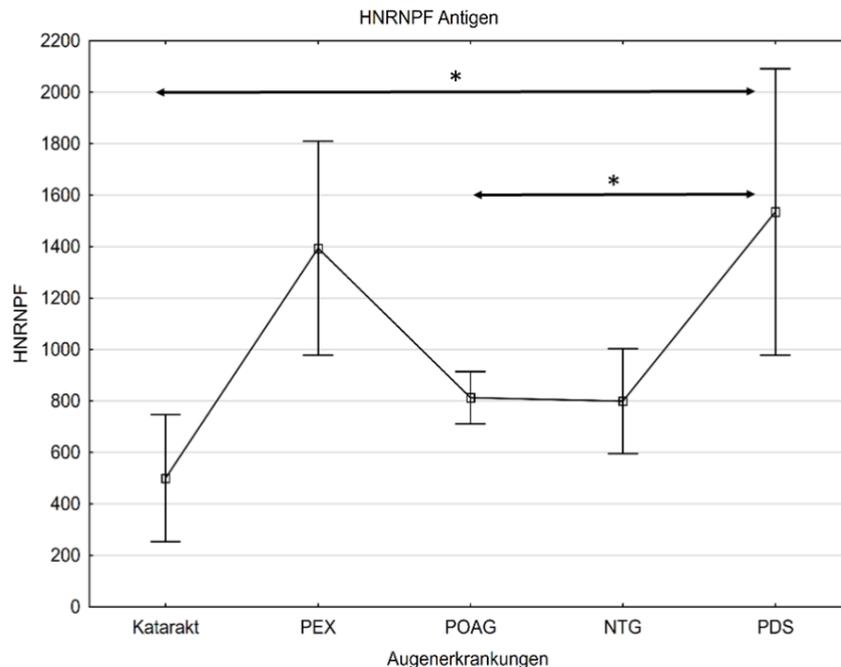


Abbildung 20: Whisker-Plots für HNRNPF

Kammerwasser-Autoantikörper gegen das HNRNPF Antigen mit signifikanten Änderungen ihrer Reaktivität ($P \leq 0,05$).

HNRNPF	KAT	PEX	POWG	NDG	PDS
KAT		0,216	1,000	1,000	0,030
PEX	0,216		0,217	1,000	1,000
POWG	1,000	0,217		1,000	0,046
NDG	1,000	1,000	1,000		0,326
PDS	0,030	1,000	0,046	0,326	

Tabelle 12: Kruskal-Wallis für HNRNPF

Kruskal-Wallis mit multiplen Mittelwertvergleichen für HNRNPF zwischen den vier Glaukomgruppen (PEX, POWG, NDG und PDS) und der Kontrollgruppe des KAT. Die signifikanten P-Werte der Autoantikörper-Reaktivität sind rot unterlegt.

4.2.10 Ergebnisse der Autoantikörperreaktion gegen Clathrin (CLTA)

Die Ergebnisse der Autoantikörper-Reaktionen gegen das CLTA Antigen zeigen ausschließlich signifikant erhöhte Reaktivitäten im Kammerwasser der PDS-Patienten im Vergleich zu den NDG-Patienten ($P \leq 0,031$) und im Vergleich der PDS-Patienten zu den POWG-Patienten ($P \leq 0,011$). Die im Kammerwasser detektierten Autoantikörper-Reaktionen gegen CLTA der PEX- und der KAT-Patienten zeigen keine signifikanten Reaktionen. (siehe **Abbildung 21, Tabelle 13**)

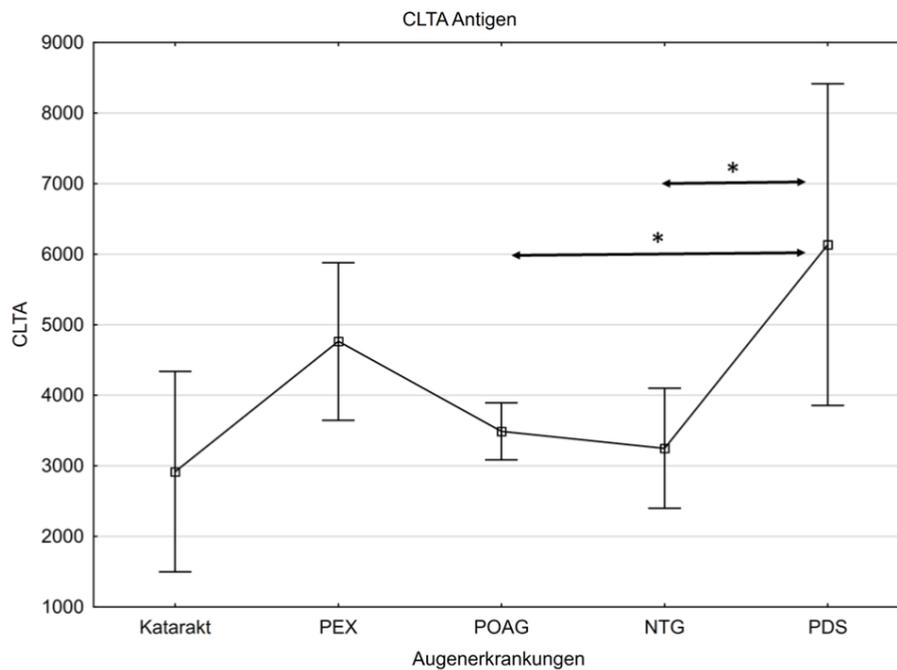


Abbildung 21: Whisker-Plots für CLTA

Kammerwasser-Autoantikörper gegen das CLTA Antigen mit signifikanten Änderungen ihrer Reaktivität ($P \leq 0,05$).

CLTA	KAT	PEX	POWG	NDG	PDS
KAT		1,000	1,000	1,000	0,084
PEX	1,000		0,203	0,714	0,553
POWG	1,000	0,203		1,000	0,011
NDG	1,000	0,714	1,000		0,031
PDS	0,084	0,553	0,011	0,031	

Tabelle 13: Kruskal-Wallis für CLTA

Kruskal-Wallis mit multiplen Mittelwertvergleichen für CLTA zwischen den vier Glaukom-gruppen (PEX, POWG, NDG und PDS) und der Kontrollgruppe des KAT. Die signifikanten P-Werte der Autoantikörper-Reaktivität sind rot unterlegt.

4.2.11 Ergebnisse der Autoantikörperreaktion gegen Clusterin (CLUS)

Betrachtet man die Autoantikörper-Reaktionen gegen das CLUS Antigen im Kammerwasser so zeigen sich signifikant erniedrigte anti-CLUS Reaktionen der PEX-Patienten im Vergleich zu den POWG-Patienten ($P \leq 0,022$) und signifikant erhöhte Anti-CLUS Reaktionen der POWG-Patienten im Vergleich zu den PDS-Patienten ($P \leq 0,015$). Weder die Gruppe der KAT-Patienten noch die der NDG-Patienten zeigen signifikante Reaktionen im Kammerwasser. (siehe **Abbildung 22, Tabelle 14**)

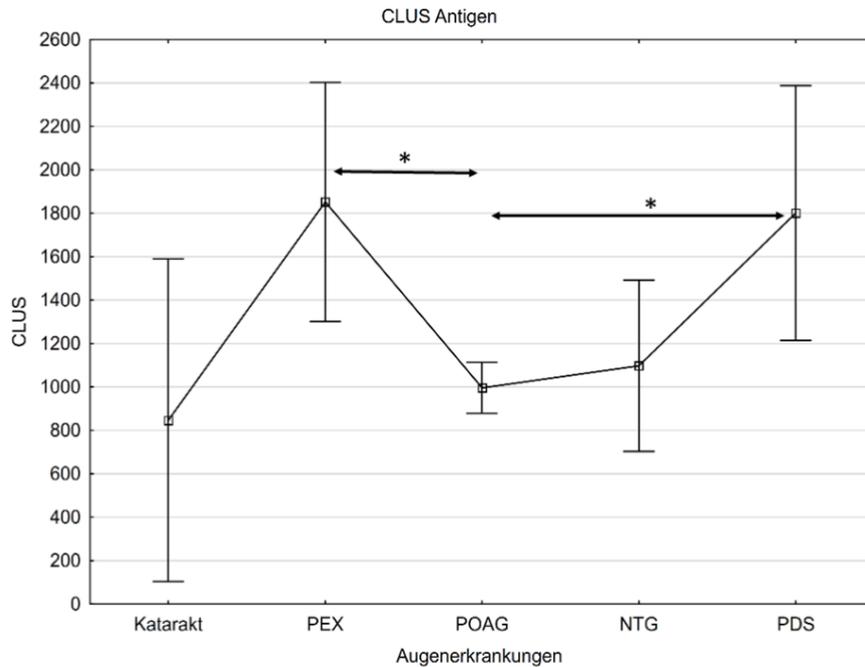


Abbildung 22: Whisker-Plots für CLUS

Kammerwasser-Autoantikörper gegen das CLUS Antigen mit signifikanten Änderungen ihrer Reaktivität ($P \leq 0,05$).

CLUS	KAT	PEX	POWG	NDG	PDS
KAT		1,000	1,000	1,000	0,189
PEX	1,000		0,022	0,720	1,000
POWG	1,000	0,022		1,000	0,015
NDG	1,000	0,720	1,000		0,090
PDS	0,189	1,000	0,015	0,090	

Tabelle 14: Kruskal-Wallis für CLUS

Kruskal-Wallis mit multiplen Mittelwertvergleichen für CLUS zwischen den vier Glaukomgruppen (PEX, POWG, NDG und PDS) und der Kontrollgruppe des KAT. Die signifikanten P-Werte der Autoantikörper-Reaktivität sind rot unterlegt.

4.2.12 Ergebnisse der Autoantikörperreaktion gegen Glutathion-S-Transferasen (GST)

Die im Kammerwasser detektierten Autoantikörper-Reaktionen gegen das GST-Antigen zeigen signifikant erhöhte Änderungen ihrer Reaktivität im Vergleich der NDG- und POWG-Patienten. Alle anderen Gruppen, einschließlich der Patienten mit einem KAT, als auch die PDS und PEX-Patienten, zeigen keinen signifikanten Änderungen in ihrer Autoantikörper-Reaktivität gegen GST. (siehe **Abbildung 23, Tabelle 15**)

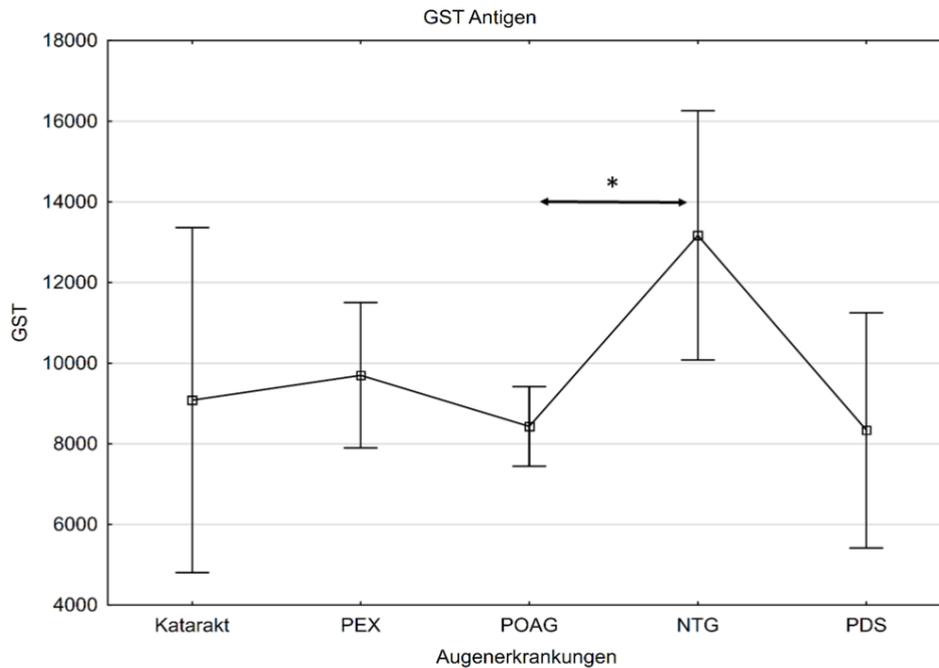


Abbildung 23: Whisker-Plots für GST

Kammerwasser-Autoantikörper gegen das GST Antigen mit signifikanten Änderungen ihrer Reaktivität ($P \leq 0,05$).

GST	KAT	PEX	POWG	NDG	PDS
KAT		1,000	1,000	1,000	1,000
PEX	1,000		0,756	0,256	1,000
POWG	1,000	0,756		0,003	1,000
NDG	1,000	0,256	0,003		0,779
PDS	1,000	1,000	1,000	0,779	

Tabelle 15: Kruskal-Wallis für GST

GST multipler Mittelwertvergleich der Kruskal-Wallis-Anova für alle fünf Gruppen: die der KAT Probanden, Patienten mit PEX, mit POWG, mit NDG und mit PDS (PDS) und deren P-Wert. Die signifikanten P-Werte der Autoantikörper-Reaktivität sind rot unterlegt.

5 Diskussion

5.1 Methodische Aspekte

Eines der Ziele dieser Arbeit bestand in der Analyse von Autoantikörper-Reaktionen im Kammerwasser von Patienten mit einem POWG, NDG, PEX und PDS Glaukom sowie der Kontrollgruppe des KAT unter Verwendung des Protein-Microarray-Verfahrens. Das Protein-Microarray ermöglicht das Screening einer umfangreichen Menge an Patientenproben innerhalb kürzester Zeit, indem mehrere hundert Antigene mit geringsten Probenmengen in einem Microarray ausgestattet werden können. Es stellt ein vielversprechendes Verfahren für das Antikörper-Screening bei Autoimmunerkrankungen dar und macht einen tiefgreifenden Einblick in die Autoantikörper-basierenden Immunprozesse der Patienten möglich.

Heutzutage finden Autoantikörper-Tests häufig ihre Anwendung in der Diagnose von Autoimmunerkrankheiten. Klassische Autoimmunerkrankungen wie Hashimoto oder Typ-1-Dm können durch den Nachweis von Autoantikörpern gegen krankheitsspezifische Antigene nachgewiesen werden. Zu diesem Zweck werden verschiedene Radioimmunassays und ELISA's durchgeführt. In anderen Studien dienen Autoantikörper als potenzielle Biomarker für verschiedene Krebsarten als auch zur Diagnose von neurodegenerativen Erkrankungen, wie Parkinson und Alzheimer (195-197).

In dieser Studie wurden veränderte Autoantikörperlevel in den Kammerwasserproben mittels Protein-Microarray gemessen. Das Protein-Microarray ist jedoch nur eine semiquantitative Methode. Es hat allerdings den Vorteil, dass weniger Probenmaterial verbraucht wird und ist vor allem von Bedeutung, wenn man mit schwer zugänglichem Probenmaterial, wie z.B. Kammerwasser arbeitet, welches auch nur in sehr geringem Umfang verfügbar ist. Es hat zudem den Vorteil, dass man viele Marker gleichzeitig (insgesamt 44 in dieser Studie, siehe **Abbildung 7**) testen kann. Man hätte den ELISA verwenden können, um den exakten Titer der jeweiligen Antikörper im Kammerwasser zu bestimmen. Allerdings kann mit dieser Methode immer nur auf einem Marker gleichzeitig getestet werden.

Im Zusammenhang mit dem Glaukom gibt es Hinweise für krankheitsspezifische Veränderungen der natürlichen Autoantikörperrepertoires, was bereits in verschiedenen Studien gezeigt wurde (6, 14, 140). Unter Verwendung des Protein-Microarrays konnten in dieser Arbeit zahlreiche Antigen-Autoantikörper basierende Immunreaktivitäten bei den Glaukompatienten im Vergleich zueinander und zu den KAT Patienten nachgewiesen werden. Trotz dessen, dass das Microarray-Verfahren bereits für viele Studien genutzt und überarbeitet wurde, stellt die Reproduzierbarkeit der Daten ein Problem dar (198).

Insbesondere die Qualität der Spots ist für das Microarray Verfahren entscheidend. In unserem Labor benutzen wir ein non-contact Verfahren, welches keinen Kontakt der Düse mit der

Objektträgeroberfläche erforderlich macht. Dieses zeichnet sich im Vergleich zu dem contact Verfahren durch eine größere Homogenität und geringere Schwankung zwischen den Intensitäten der Spots aus, da es keinen direkten Kontakt mit den Slides hat.

Die Qualität des Spots wird unter anderem durch die Oberflächenspannung des Analyten, die Viskosität und die Objektträgerbeschaffenheit beeinflusst. Schlechte Spots werden manuell aussortiert und können nicht ausgewertet werden, wenn das Spotsignal im Detektionslimit liegt und eine sehr schwache Intensität aufweist oder wenn die Signalstärke in der Sättigung liegt. Signale mit sehr schwacher Intensität sind nicht auswertbar, wenn sie unter dem Detektionslimit liegen.

Außerdem hat die Wahl des Oberflächenobjektträgers Einfluss auf die Reproduzierbarkeit des Spotsignals. In früheren Studien konnte gezeigt werden, dass sich Nitrozellulose durch eine hohe Bindekapazität sowie ein adäquates Signal/Rausch-Verhältnis auszeichnet und dabei die Struktur der Proteine erhalten bleibt (140, 199).

Die Spotting-Eigenschaften werden zudem durch die unterschiedlichen physikalischen Eigenschaften der Antigene wie die Viskosität der proteinhaltigen Lösungen beeinflusst. Je visköser die Antigen-Lösung ist, desto schlechter kann man diese spotten insbesondere, weil ein non-contact-Spotter verwendet wurde (140).

Andere potentielle Fehlerquellen für das Experiment sind die angewendete Operationstechnik und das Operationsmaterial. Dieses kann ja nach Operateur und Operationsart variieren und wird maßgeblich von der Expertise des Behandlers beeinflusst (198). Zudem ist die Entnahme und die Menge des Kammerwassers während der Operation unklar und kann durch Fremdmaterial die Kammerwasserproben verunreinigen. Allgemeinerkrankungen, Medikamente sowie einige Parameter zur Funktionsdiagnostik wurden dokumentiert aber nicht weiter ausgewertet, weil die Daten nicht kontinuierlich für alle Patienten verfügbar waren.

In dieser Studie sind die Gruppen der POWG-, PEX-, PDS-, NDG- und KAT Patienten unterschiedlich groß (siehe **Abbildung 11**), da nicht mehr Patienten und nicht ausreichend Kammerwasserproben zur Verfügung standen. Dies begründet sich damit, dass zuerst die Proben gesammelt wurden und auf Basis der Proben die klinischen Daten erhoben und die Gruppen gebildet wurden. Die statistische Power, welche durch die kleinste Gruppe bestimmt wird, umfasst in dieser Studie die Gruppe der KAT Patienten. Da die Gruppe der KAT Patienten sehr klein ist und sich somit die statistische Power dieser Studie verringert, können Gruppen-Unterschiede mit kleiner Effektstärke nicht detektiert werden.

Wegen der ungleichen Gruppengrößen wurden für die entsprechenden statistischen Analysen der Dunn's Test verwendet.

Bei den Patienten mit einem Glaukom, wurde bei einigen Patienten ebenso ein KAT diagnostiziert. Hier ist jedoch unklar, ob die Patienten bereits vor der Probenentnahme an einem KAT erkrankt waren, oder dieses nach der Operation entwickelt haben.

Insgesamt betrachtet kann man sagen, dass potenzielle Fehlerquellen nicht komplett beseitigt werden konnten. Das Microarray-Verfahren konnte in der vorliegenden Arbeit jedoch erfolgreich angewendet werden, sodass bei den unter 4 dargestellten Studienergebnissen von adäquaten Autoantikörper-basierenden Immunreaktionen bei den Glaukompatienten angenommen werden kann.

5.2 Antikörper im Kammerwasser von Glaukompatienten

Glaukom-assoziierte Autoantikörper konnten bereits in einer Vielzahl an Studien identifiziert werden und man ist bestrebt die spezifische Rolle dieser Autoantikörper für die Glaukopathogenese zu untersuchen. Das Glaukom wird als eine auf das Auge zentrierte Erkrankung verstanden und daher erscheint die Untersuchung des Kammerwassers relevant. Joachim et al. untersuchten erstmals Antikörper im Kammerwasser von Glaukompatienten während in anderen Studien ausschließlich Antikörper im Serum untersucht wurden (44). Die Vorderkammer des Auges ist durch eine starke antigenspezifische, systemische Immunsuppression ausgezeichnet (ACAID), um das Auge vor Schäden einer zu starken Immunantwort zu schützen. Dieses Immunprivileg wird durch das Fehlen des Lymphabflusses, die Blut-Retina-Schranke und das Kammerwasser aufrechterhalten. Hier konnte gezeigt werden, dass das Kammerwasser selbst immunkompetente Eigenschaften besitzt (135, 137-139). Sowohl im Serum als auch im Kammerwasser konnten antigenspezifische Antikörper nachgewiesen werden, die in beiden Körperflüssigkeiten gegen mehr als 80% der Antigene übereinstimmten. Das Kammerwasser hat hierbei eine besondere Bedeutung, da es räumlich vom Blutkreislauf durch die Blut-Retina-Schranke getrennt ist und im direkten Kontakt mit der Retina steht (9, 140). Bislang ist nicht geklärt, ob die Antikörper eine direkte Ursache oder eine Folge von pathologischen Veränderungen beim Glaukom sind. Der Zusammenhang zwischen systemischen Veränderungen und der Immunkompetenz des Auges durch die Blut-Hirn-Schranke ist ebenso ungeklärt. Es ist davon auszugehen, dass ähnliche immunmodulatorische Vorgänge im Auge wie im restlichen Organismus wirken. Das Einwandern von systemischen Antikörpern durch eine Schädigung der Blut-Hirn-Schranke wurde in früheren Studien bereits diskutiert und wäre denkbar (140, 200, 201). Daher wäre es auch denkbar, dass die Antikörper über die Blut-Retina-Schranke in das Kammerwasser gelangen. Die erhöhten Autoantikörper-Reaktionen im Kammerwasser könnten aber auch auf eine lokale Antikörperproduktion im Auge zurückzuführen sein, beispielsweise durch das retinale Pigmentepithel (140). Womöglich sind die Antikörper im Kammerwasser glaukomspezifischer als die Antikörper im Serum, da durch das Immunprivileg des Auges verstärkt glaukomassoziierte Antikörper zu finden sind, während im Serum das komplette Antikörperprofil des menschlichen Organismus wiedergespiegelt wird (44). Okular

zirkulierenden Antikörpern werden verschiedene Funktionen beigemessen, wobei sowohl stimulierende als auch hemmende Wirkungen möglich sind sowie agonistische und antagonistische Rezeptorwirkungen oder die Aktivierung der Komplementkaskade diskutiert werden. Die verschiedenen Autoantikörper-Reaktivitäten könnten auf den Verlust der neuroprotektiven Wirkung hinweisen und zur Pathogenese des Glaukoms beitragen (11).

5.3 Analyse der Antigen-Autoantikörper-Reaktion der Patientenproben

In den meisten Fällen werden Antigen-Antikörper-Reaktionen mit Immunerkrankungen wie systemischem Lupus erythematodes oder der Hashimoto Krankheit in Verbindung gebracht (162, 202). Man findet sie aber auch bei Gegebenheiten, die nicht als Autoimmun gelten. So sind Autoantikörper-Spiegel bereits Monate vor einer klinischen Manifestation einer Krebserkrankung im Blut der betroffenen Patienten nachweisbar (203). Außerdem findet man sie bei neurologischen Erkrankungen wie Parkinson und Alzheimer (164, 165). In zahlreichen Studien konnten Veränderungen der Antigen-Autoantikörper basierenden Autoimmunität bei Glaukumpatienten nachgewiesen werden (5, 9-11). Zu diesem Zweck, galt eine weitere Fragestellung darin, in welchem Zusammenhang die biologischen Funktionen der von den Autoantikörpern erkannten Antigene mit der Pathogenese der verschiedenen Glaukomformen stehen und welche Antikörper im Kammerwasser verändert sind. Es häufen sich die Beweise dafür, dass Autoantikörper nicht nur an der Pathologie von Erkrankungen beteiligt sind, sondern auch bei physiologischen Prozessen involviert sind. Es erfordert daher weitere tiefgreifende Studien, die die Natur und Funktion des Autoantikörper-Repertoires vermehrt in den Fokus nehmen. Die umfassende Charakterisierung der identifizierten krankheitsbezogenen Antigen-Antikörper-Reaktionen im Kammerwasser spielt eine entscheidende Rolle bei der Verbesserung des Verständnisses der immunologischen Prozesse beim Glaukom. In dieser Arbeit stehen diejenigen Antigene im Fokus, welche signifikante Unterschiede ($P \leq 0,05$) in ihrer Antigen-Autoantikörper-Reaktivität zwischen den vier Glaukomgruppen und der Kontrollgruppe des KAT im Kammerwasser zeigten.

5.3.1 Signifikante Antigen-Autoantikörper-Reaktionen in Zusammenhang mit dem Pseudoexfoliationsglaukom

Das PEX-Glaukom zeigt signifikante Unterschiede in der Antigen-Autoantikörper Reaktion gegen die Kontrollgruppe des KAT. Hierzu gehören die Antigene CALD1, b-S-Crys, GFAP und LPPR3 die im Vergleich zu den Kontrollprobanden des KAT signifikant erhöhte Reaktionen aufweisen.

Das PEX-Glaukom wird insbesondere durch Veränderungen im Gewebe verursacht wobei oxidativer Stress, pro-fibrotische Zytokine und Wachstumsfaktoren an der Regulierung elastischer Proteine beteiligt sind und als Co-modulierende Bestandteile Einfluss auf die Bildung des PEX-Materials nehmen können (204). Beutgen et al. vermuten einen veränderten Clathrin-vermittelten extrazellulären Matrixumsatz bei der Pathogenese des PEX-Glaukoms und fanden Anti-CLTA-Autoantikörper als mutmaßlichen Biomarker. Es wird diskutiert, dass die Aufnahme von zirkulierenden Antikörpern durch Clathrin vermittelt wird. Clathrin ist an der Bildung von Vesikeln beteiligt und induziert die Clathrin-vermittelte Endozytose, welche es Autoantikörpern ermöglicht ihrer Wirkungen auf intrazellulärer Ebene zu aktivieren. In der Studie von Beutgen et al. wurden erniedrigte Antikörper gegen Clathrin in Bezug auf das PEX-Glaukom detektiert, während in dieser Studie keine signifikanten Antikörpern ermittelt wurden (11).

Veränderungen in den Antikörperrepertoires sollten daher nicht isoliert bewertet werden, sondern ganzheitlich betrachtet werden, um Rückschlüsse auf Gemeinsamkeiten und biologische Prozesse der Autoantikörper zurückschließen zu können.

Das Protein CALD1 kommt in der glatten Muskulatur und in Nicht-Muskelzellen vor. Die Eigenschaften von CALD1 beinhalten die Bindung an Aktin, Tropomyosin, CA(2+)-Calmodulin, Myosin und Phospholipiden. Außerdem ist es an der Regulation der Actomyosin-ATP-Aktivität sowie der Vernetzung zwischen Aktin und Myosin und der Verbesserung der Mikrofilamentstabilität beteiligt (205, 206). Es gibt zwei Isoformen von CALD1, die Glattmuskel-Isoformen und die Nichtmuskel-Isoformen, welche verschiedene Funktionen erfüllen. CALD1 aus glatter Muskulatur reguliert die Hemmung des Tonus der glatten Gefäßmuskulatur und Nichtmuskelzellen-Isoformen spielen eine Rolle bei der Regulation der Zellmotilität und der Zytoskelettorganisation (205, 206). TM-Zellen weisen fibroblastenähnliche Eigenschaften auf und sind in der Lage sich zusammenzuziehen und damit den Abflusswiderstand im TM zu modulieren (207). Der Abflusswiderstand im TM wird aus der extrazellulären Matrix gebildet mit Einflussnahme des Aktinzytoskeletts der TM-Zellen. Das glaukomatöse TM ist steifer als das von gesunden Menschen und ist im Krankheitsverlauf großen strukturellen Veränderungen ausgesetzt, was mit einer verschlechterten Anpassung an sich ändernde IOD-Werte einher geht (208). Die Gewebesteifigkeit wird durch die Dysregulation extrazellulärer Matrixablagerungen, das Aktin-Zytoskelett und Zell/ Zell-Matrix-Verbindungen erhöht, was zu einer Erhöhung des Abflusswiderstandes des Kammerwasser führt (6).

Gabelt et al. konnten in menschlichen Vorderkammerabschnitten zeigen, dass eine Überexpression von CALD1 in TM-Zellen zu Veränderungen des Aktin-Zytoskeletts und der Matrixadhäsion führten indem die TM-Zellen entspannt wurden und ihre Aktin-Zytoskelett- und Zell-Matrix-Verwachsungen unterbrochen wurden. Dies bewirkte eine Erhöhung der TM-

Ausflussfähigkeit im Vorderabschnitt des Auges (209). Außerdem konnte gezeigt werden, dass eine CALD1-Überexpression in Fibroblasten, ähnliche Auswirkungen hat wie chemische Inhibitoren der zellulären Kontraktilität und zu deren Gewebesteifigkeit beitragen. Diese Inhibitoren senken den IOD und erhöhen den Kammerwasserausfluss aus der Vorderkammer des Auges. Der erhöhte IOD stellt beim PEX eine Belastung des Zytoskeletts und der Zell-Zell-Kontakte dar und umso wichtiger ist die Aufrechterhaltung dieser Mechanismen für das Zellüberleben. Erhöhte Antikörperreaktionen gegen CALD1 könnten bei PEX-Patienten möglicherweise die Integrität des Zytoskeletts und der Zell-Zell-Kontakte beeinflussen und den Untergang von RGZ's bei erhöhtem IOD befürworten.

Das Protein CALD1 alleine könnte hingegen in vivo eine therapeutische Wirkung bei der Erhöhung des Abflusses beim PEX haben, indem es die Kontraktilität des Aktin-Zytoskeletts von TM-Zellen verändern, da es durch eine Überexpression zur Reorganisation des Aktin-Zytoskeletts führt. (210, 211). Beutgen et al. konnte signifikant erhöhte Autoantikörper-Level gegen CALD1 in POWG Patienten im Vergleich zu einer nicht-glaukomatösen Kontrollgruppe zeigen und diese höheren Level als potentiellen Biomarker mit einer Sensitivität von 81% bei einer Spezifität von 93% identifizieren (11). Mit dem Panel dieses potenziellen Biomarkers könnte es ebenfalls möglich sein, PEX Patienten mittels neuronalen Netzwerken zu kategorisieren. Pathologische Veränderungen der CALD1-Expression könnten ebenso eine Autoimmunität gegen das Antigen CALD1 induzieren, wobei der Ursprung der CALD1-Autoantikörper unklar bleibt und in weiteren Studien untersucht werden muss (207).

Neben erhöhten Anti-CALD1-Autoantikörperreaktionen zeigten sich signifikant erhöhte Autoantikörperreaktionen gegen b-S-Crys beim PEX im Vergleich zum KAT. Kristalline sind Strukturproteine aus der Linse und machen 80-90% der löslichen Proteinfraction aus (212). Die Transparenz der Linse und ihr Brechungsindex sind das Ergebnis der Verteilung der Kristalline in der Linse, diese stellen die Hauptstrukturkomponente dar. Kristalline werden in Alpha-, Beta- und Gammafamilien eingeteilt und wurden in der Retina bei Diabetes, Trauma und anderen Erkrankungen der Netzhaut nachgewiesen. Alpha- und Beta- Kristalline wurden zudem als neuronale und retinale Proteine erkannt und sind an der Regulation von Schutzmechanismen bei Degenerationen von Neuronen im zentralen Nervensystems durch Apoptoseprävention, Stabilisierung des Zytoskeletts und der Proteinfaltung beteiligt (191, 213-215). Funktionelle Veränderungen der Kristalline können die Membran- und Zell-Zell-Interaktionen modellieren und zu einer Linsenzellpathologie führen (216). In der Pathogenese des KAT wurde den Kristallinen große Aufmerksamkeit geschenkt, da ein Defekt im Kristallin-Gen mit dem Auftreten eines kongenitalen KAT einhergeht. Hier bestand bei der Hälfte der Patienten mit dem Phänotyp des kongenitalen KAT eine Verbindung zum Glaukom. Man geht davon aus, dass Beta-B2-Kristalline sowohl Linsenepithelzellen als auch retinale Neuronen

beeinflussen und somit nicht nur die Bildung eines KAT begünstigen, sondern ebenso andere neurodegenerative Erkrankungen wie das Glaukom (215, 217). Während der KAT Entstehung können bedeutende Mengen an Kristallinen in das Kammerwasser freigesetzt werden, weshalb Kristalline in Linsenepithelzellen von Patienten mit einem KAT erhöht sind (12).

Seccia et al. beschäftigten sich bereits vor 30 Jahren mit Veränderungen in den Kristallinen während des Alterns und bei KAT. Es wurde diskutiert, ob diese Veränderungen auf oxidativen Stress zurückzuführen sein könnte (218). Da bei der Pathogenese des Glaukoms reaktive Sauerstoffradikale beteiligt sind, könnten die erhöhten b-S-Crys als eine neuroprotektive Antwort auf den oxidativen Stress verstanden werden. Im Zusammenhang mit der KAT Pathogenese wurde die antiapoptotische Wirkung der Alpha und b-S-Crys Antigene vielfach beschrieben (216). Bei Umwelt- und Stoffwechselstörungen wurde eine Hochregulierung der Kristallinenexpression beobachtet, während beim Glaukom eine Herunterregulierung festgestellt wurde. Dies deutet darauf hin, dass die verringerten Kristalline das Überleben der RGZ's beeinflussen und mit deren Degeneration in Verbindung stehen und in Mechanismen die die Apoptose auslösen eingreifen. Man geht davon aus, dass die Überexpression kristalliner Gene für die Regeneration und das Überleben der RGZ's in der Retina sorgen und eine Rolle beim Überleben von Ganglienzellen nach einem Trauma spielen (214, 215). Die erhöhten Autoantikörperreaktionen gegen b-S-Crys bei PEX Patienten im Vergleich zu den KAT Patienten könnten ein Indiz dafür sein, dass es zu einem schnelleren Zelluntergang der RGZ's beim PEX durch eine vermehrte Beeinflussung antiapoptotischer Funktionen kommt und als Reaktion auf oxidativen Stress verstanden werden. Autoantikörper gegen b-S-Crys könnten die Kristallinenexpression beim PEX stimulieren und somit eine neuroprotektive Wirkung auf die RGZ's ausüben. Die erhöhten Anti-b-S-Crys-Autoantikörper könnten ebenso darauf rückschließen lassen, dass die PEX Patienten ebenso an einem KAT erkrankt waren oder dabei waren ein KAT zu entwickeln, da von 56 PEX Patienten, 49 ebenso an einem KAT erkrankt waren (vgl. **Tabelle 3**).

Das Zwischenfilamente GFAP aktiviert Astrozyten und die reaktive Gliose als Reaktion auf Verletzung, Ischämie oder Neurodegeneration und sorgen somit für den Schutz von Astrozyten in akuten Stadien von Neurotrauma oder Schlaganfall (219). GFAP ist ein Intermediärfilament in reifen Astrozyten und wichtiger Bestandteil des Zytoskeletts von Astrozyten während ihrer Entwicklung.

Es ist an der Regeneration, der synaptischen Plastizität und der reaktiven Gliose in Astrozyten beteiligt (220).

Die Funktionen von GFAP umfassen die Unterdrückung der neuronalen Proliferation im Gehirn sowie die Bildung einer Barriere zur Isolierung des geschädigten Gewebes. Zudem reguliert es den Blutfluss nach einer Ischämie und trägt zur Blut-Hirn-Schranke bei. Außerdem

unterstützt GFAP die Myelinisierung sowie die Bereitstellung mechanischer Fähigkeiten (221). In ischämischen Sehnerven konnte eine Hochregulation der mRNA des Autoantigens GFAP gefunden werden. Die retinale Ischämie hat Auswirkungen auf den Untergang des Sehnervs (222) und begünstigt eine schnelle Progression des PEX-Glaukoms. Bell et al. postulierten, dass die Reduktion des GFAP-Antikörpers ein Hinweis auf den Verlust der schützenden Autoimmunität ist, da Autoantikörper gegen GFAP einen neuroprotektiven Effekt auf neuronale Zellen haben (173).

In anderen Erkrankungen wie der Multiplen Sklerose wurden erhöhte GFAP-Spiegel im Serum von Patienten gefunden. Hier scheint es einen nützlichen Biomarker für entzündliche Prozesse darzustellen (223, 224). Außerdem findet man erhöhte Expressionen von GFAP in Astrozyten die die Amyloid-Plaques bei der Alzheimer-Krankheit umgeben (225).

Die Astrozytopathie ist eine Autoimmunerkrankung des Nervensystems, die mit Fieber, Kopfschmerzen, Enzephalopathie, unfreiwilligen Bewegungen, Myelitis und abnormalem Sehvermögen einhergeht. Man fand GFAP-Autoantikörper im Liquor und im Serum von Patienten mit Astrozytopathie wobei der GFAP-Antikörper keine pathologische Veränderung auslöst, sondern als Marker dient (226). GFAP-Autoantikörper könnten beim PEX-Glaukom ebenfalls als nützliche Biomarker dienen und auf eine erregte Immunantwort schließen lassen die durch entzündliche Prozesse induziert werden.

Die Lipidphosphat-Phosphatase-verwandten Proteine (LPPRs), auch Plastizitäts-verwandte Gene (PGR's) genannt, gehören zu einer Unterklasse der im Gehirn angereicherten Lipidphosphatase (LPP)-Überfamilie. Die LPPRs beteiligen sich an der extrazellulären Konzentration und Signaltransduktion von Lipidphosphatestern indem sie mit dem Lipidphosphat-Signalweg interferieren. In Zellen und primären Neuronen induzieren sie Membransprünge, Neuriten-Auswüchse sowie dendritische Wirbelsäulenbildungen. Die LPPR-Familienmitglieder (LPPR1, LPPR3, LPPR4 und LPPR5) kooperieren miteinander indem sie ihre Funktion durch Komplexbildung ausüben (227, 228). LPPR3 ist Mitglied der LPP-Familie und Milbeck et al. stellten fest, dass LPPR3 bei glaukomatösen Sehnerven erhöht sind. Lipide oder Lipidstoffwechselwege wurden bislang nur wenig Aufmerksamkeit geschenkt. Milbeck et al. zeigten einen Zusammenhang zwischen den LPL-Metabolismus im Sehnerv und der Aberration im glaukomatösen Sehnerv (229). Autoantikörper gegen LPPR3 könnten die Signaltransduktion im Sehnerv beeinflussen. Allerdings ist unklar, ob diese einen stimulierenden oder hemmenden Effekt auf die Aberration im Sehnerv haben.

Insgesamt tragen die Erkenntnisse der zuvor beschriebenen Mechanismen der signifikanten Antikörperlevel gegen die Antigene CALD1, b-S-Crys, GFAP und LPPR3 dazu bei, dass Autoantikörper pathologische Veränderungen im PEX-Glaukom widerspiegeln können und in

der Glaukompathogenese als Biomarker für entzündliche Prozesse oder in der Therapie des Glaukoms zum Einsatz kommen könnten. Die Kausalität der Autoantikörpergenese bleibt jedoch weiterhin ein Rätsel. Dennoch bleibt genug Potential für zukünftige Studien, die das Zusammenspiel von Immunsystem und PEX-Glaukom untersuchen wollen.

5.3.2 Signifikante Antigen-Autoantikörper-Reaktionen in Zusammenhang mit dem Primären Offenwinkelglaukom

Die Autoantikörper beim POWG zeigen signifikante Unterschiede in den Autoantikörper-Antigen-Reaktionen im Vergleich zum PEX-Glaukom. Zu den Antigenen, die signifikant erniedrigte Reaktionen zeigen, gehören CALD1, b-S-Crys, b-L-Crys, GFAP, CLUS und C1QBP.

Die führende Therapie, um ein Fortschreiten des POWG zu verhindern, ist die Senkung des IOD. Der erhöhte IOD kommt durch einen verminderten Kammerwasserabfluss aus dem Auge über das TM zustande. TM-Zellen sind an der Modulierung des Abflusswiderstandes aktiv beteiligt. Das TM bei POWG Patienten ist durch eine zunehmende GewebestEIFigkeit charakterisiert, die zu einer reduzierten Anpassung an sich ändernde IOD-Werte beiträgt (11). Bei der Entwicklung eines POWG spielt die Kontraktilität des Actinmyosin-Systems in TM-Zellen und im Innenwandendothel des Schlemm'schen Kanal eine besondere Rolle im Zusammenhang mit der Regulation des Abflusswiderstandes (230). CALD1 moduliert das Actomyosin-Netzwerk indem es mit Aktin und Cadherin interagiert welche an der Zell- und Zell-Matrix-Adhäsion beteiligt sind und reguliert die Zellkontraktilität Ca^{2+} -abhängig. Große Mengen an CALD1 führen in TM-Zellen zu einer Neuorientierung des Aktin-Zytoskeletts und zur Unterbrechung von Adhärenzverbindungen. Diese molekularen Veränderungen führen zur Entspannung des TM-Gewebes und sorgen dafür, dass mehr Kammerwasser aus dem TM in die Vorderkammer des Auges abfließen kann und der IOD gesenkt wird. Grosheva et al. schlugen CALD1 daher für die Gentherapie des Glaukoms vor (11, 210).

Beutgen et al analysierten potentielle Autoantikörper gegen Antigene im TM im Serum von POWG-Patienten und konnten einen signifikanten Anstieg der Autoantikörperspiegel gegen fünf Antigene, darunter CALD1 und VIM, im Vergleich zur nicht-glaukomatösen Kontrollgruppe finden. Vor allem im frühen Stadium des POWG waren CALD1-Autoantikörper signifikant erhöht, was sie in der Frühdiagnose als serologische Biomarker interessant machen könnte (11). In dieser Studie zeigen sich dagegen signifikante erniedrigte Werte des Anti-CALD1-Antikörpers im Kammerwasser im Bezug zum POWG gegen das PEX, während die Werte beim PEX im Vergleich zur Kontrollgruppe des KAT signifikant erhöht sind. Hieraus lässt sich ableiten, dass die erhöhten Autoantikörper gegen CALD1 im PEX möglicherweise die Integrität des Aktin-Zytoskeletts und der Zell-Zell-Kontakte stärker beeinflussen als im POWG und den Zelluntergang bei erhöhtem IOD

befürworten. Denkbar wäre, dass durch die Wirkung der Autoantikörper gegen CALD1, das Gewebe nicht länger in der Lage ist sich zu entspannen, sodass der Abfluss aus dem TM zur Senkung des IOD vermindert wäre. Anti-CALD1-Antikörper könnten demnach zur Gewebesteifigkeit im TM beim PEX gezielt beitragen.

Bei POWG-Patienten lässt sich hingegen nur schwerlich ein Rückschluss auf die verminderten Anti-CALD1-Antikörper Werte im Kammerwasser und deren Einfluss auf die Stabilität des Zytoskeletts und der Zell-Zell-Kontakte ziehen. Der Ursprung der CALD1-Autoantikörper bleibt weiter unklar und muss in weiteren Studien besser erforscht werden.

B-S-Crys und b-L-Crys zählen zur Familie der Kristalline und sind Strukturproteine der Linse. Wax et al. konnten erhöhte Serum-Immunreaktionen gegen Alpha und Beta-Kristalline bei Patienten mit NDG und POWG nachweisen. Man postulierte, dass diese Autoantikörper an der neuronalen Apoptose beteiligt sein könnten, da die Apoptose durch das Applizieren von Antikörpern gegen Kristalline auf der Netzhaut induziert werden konnte (177). Boehm et al. verglichen Autoantikörper in Kammerwasser- und Serumproben von denselben POWG-Patienten mittels Microarrays. Sie stellten erhöhte HSP70-Antikörperspiegel in Serumproben fest, während Antikörper gegen Beta-L-Kristallin herunterreguliert waren (140). Anti-b-L-Crys-Antikörper und Anti-Beta-S-Crys-Antikörper sind in dieser Studie jedoch nicht im Serum, sondern im Kammerwasser beim POWG erniedrigt im Vergleich zum PEX. Hieraus lässt sich postulieren, dass diese Autoantikörper womöglich über die Blut-Retina-Schranke als Folge von pathologischen Veränderungen beim Glaukom in das Kammerwasser gelangt sind.

Antikörper gegen das GFAP, ein intermediäres Filamentprotein welches in Astrozyten und Müller-Zellen exprimiert wird, zeigen in vivo und in vitro neuroprotektive Wirkungen auf RGZ's bei Glaukumpatienten. Da die Antikörper gegen GFAP in sehr geringer Menge bereits eine Relevanz für das Immunsystem von Glaukumpatienten zeigen, kann man davon ausgehen, dass geringe Mengen von (z. B. Tränen, Kammerwasser, Serum oder postmortale Netzhaut) ausreichen, um detaillierte Protein- und Antikörperveränderungen zu diagnostizieren (5, 219). Über eine verstärkte Expression von GFAP wurde bei unterschiedlichen Netzhautverletzungen sowie glaukomatösen Neurodegenerationen berichtet (231, 232). Eine Zunahme von GFAP in der Astroglia sorgt durch eine Herunterregulierung von F-Aktin und ABP zu einer zellulären Bewegungsunfähigkeit (233). Tezel et al. konnten eine Gliaaktivierung, die von einer erhöhten GFAP-Expression begleitet ist beim Glaukom nachweisen (234). Boehm et al. postulierten, dass das Aktin-Zytoskelett durch die gesteigerte Gliaaktivierung verändert wird (140).

Ähnlich wie bei anderen neurologischen und psychischen Erkrankungen wie Epilepsie, multipler Sklerose, Parkinson und depressiven Störungen wurden verringerte Anti-GFAP-Autoantikörper im Serum dieser Patienten gefunden (235).

Diese Erkenntnisse lassen darauf rückschließen, dass das Fehlen der Autoantikörper gegen GFAP im Serum womöglich einen Verlust der natürlichen Autoimmunität vermittelt und neurodegenerative Prozesse fördern (140, 173).

Chou et al. untersuchten die Langzeitwirkung von Lidocain auf die RGZ's, den IOD und die Expression von GFAP und anderen Proteinen. Dabei fand man heraus, dass Lidocain den Anstieg des IOD nicht veränderte, die GFAP-Expression jedoch verringert war und die RGZ-Überlebensrate um 35% verbessert wurde (236).

In anderen Studien konnten protektive Eigenschaften von Antikörpern gegen GFAP auf die RGZ gezeigt werden. Es ist das Ergebnis eines herunterregulierten Stresslevels in der Netzhaut (237).

Wilding et al. konnten ebenso ein neuroprotektives Potential der herunterregulierten Anti-GFAP-Antikörpern bei einer verstärkten Expression von GFAP in der Netzhaut bei Glaukumpatienten nachweisen. Sie fanden heraus, dass geringe Dosen des GFAP-Antikörpers Zellen vor oxidativem Stress, welcher durch veränderte Proteinexpressionen des Aktin-Zytoskeletts zurückzuführen ist, schützen. Höhere Dosen des GFAP-Antikörpers zeigten hingegen einen negativen Effekt auf die Überlebensrate der Zelle. Hierbei wurde eine Kreuzreaktion des Antikörpers gegen das im ER residente Protein 57 festgestellt. Es scheint ein verändertes Signal in den Zellen zu bewirken und löst die protektiven Effekte aus (238).

Joachim et al. untersuchte an Ratten, die mit einem Sehnervhomogenat (ONA) immunisiert wurden, die Apoptose, das Auftreten von Antikörpern und die Gliose, um Rückschlüsse auf das Absterben von RGZ's zu schließen. Man fand heraus, dass IgG-Antikörper an der Auslösung der RGZ-Apoptose beteiligt sind (14). Fan et al. konnten zeigen, dass reaktive Astrozyten ein wichtiger Faktor in der Hemmung der Sehnerv Regeneration sind und neue Wege für die Modulation der Regeneration der Netzhaut beim Glaukom sein könnten (239). Aufgrund des erhöhten IOD gehen Ganglienzellen der Netzhaut verloren und sorgen für einen irreversiblen Verlust des Sehvermögens beim POWG. Die Neuroprotektion ist daher von großer Bedeutung in der Therapie des Glaukoms. Es konnte gezeigt werden, dass die GFAP-Spiegel in der Netzhaut von Glaukumpatienten signifikant erhöht sind und eine neuroprotektive Wirkung haben. Die GFAP-Expression als Reaktion auf einen erhöhten IOD kann als zuverlässige Marker angenommen werden (240).

In dieser Studie zeigen die POWG-Patienten verminderte Anti-GFAP-Autoantikörper Reaktivitäten gegenüber den PEX-Patienten im Kammerwasser nicht jedoch im Vergleich zur Kontrollgruppe der KAT Patienten. Diese Antikörper-Veränderungen lassen sich sowohl im Kammerwasser als auch im Serum der Patienten mit einer sehr hohen Korrelation (70%) nachweisen (5). Insbesondere beim PEX ist eine Umstrukturierung des Zytoskeletts erforderlich, um die Integrität der dynamischen Prozesse des Zytoskeletts bei erhöhten IOD Werten aufrechtzuerhalten. GFAP ist Bestandteil des Zytoskeletts von Astrozyten und an der

reaktiven Gliose in Astrozyten beteiligt. Erhöhte Anti-GFAP-Antikörper im Kammerwasser könnten ein Hinweis auf einen Verlust der schützenden Autoimmunität sein. Während im Serum von POWG Patienten und Patienten mit anderen neurodegenerativen Erkrankungen, wie multipler Sklerose und Parkinson, erniedrigte Anti-GFAP-Antikörper detektiert wurden (140, 235). Die Anti-GFAP-Antikörper im Kammerwasser als Zentrum der Glaukopathogenese, welches räumlich durch die Blut-Retina-Schranke vom Blutkreislauf getrennt ist, könnten durch das Immunprivileg des Auges glaukomspezifischer sein als die Antikörper im Serum. Erhöhte GFAP-Antikörper im Kammerwasser könnten somit ein Marker für entzündliche Immunprozesse beim PEX sein, die auf eine erhöhte Expression von GFAP als Reaktion auf Verletzung, Ischämie oder Neurodegeneration exprimiert werden (vgl. 5.3.1).

Die Anti-C1QBP-Antikörper sind im Kammerwasser von POWG Patienten im Vergleich zu den PEX Patienten signifikant erniedrigt. Das Komplement 1q-bindende Protein ist in verschiedenen Zelltypen ausschließlich in der mitochondrialen Matrix lokalisiert. Es ist ein Rezeptor für die Komponente 1Q und führt zur Hemmung des C1-Komplexes und damit zur Unterdrückung der Komplementaktivierung. Bei Krebserkrankungen ist C1QBP hochreguliert und man geht davon aus, dass es eine Rolle bei der Tumorentstehung spielt. In Fibroblasten schützt die Hochregulierung des Gens C1QBP vor Apoptose und fördert die Zellproliferation als auch Migration. Es könnte Potenzial für eine gezielte medikamentöse Therapie gegen Krebs haben (241).

Beutgen et al. untersuchten Antigene in TM-Zellen und ihre Autoantikörper im Serum um Wege zu finden, die an der Entstehung von Autoantigenen beteiligt sind. Sie suchten nach Veränderungen in der Immunität der Autoantigene beim POWG und überprüften einen Anstieg der Autoantikörper gegen das Komplement 1q-bindende Protein durch das Antigen-Microarray. Zudem prüften sie das Potenzial der Autoantikörper gegen C1QBP als zuverlässigen Biomarker und konnten die POWG Patienten mit einer Sensitivität von 79% und einer Spezifität von 89% korrekt klassifizieren im Vergleich zu einer nicht-glaukomatösen Kontrollgruppe. Autoantikörper gegen C1QBP aktivieren das Komplementsystem in den RGZ's glaukomatöser Augen. C1QBP Autoantikörper können vermutlich die Hemmung der Bildung des C1-Komplexes verhindern, indem sie die C1QBP-Effektorstellen blockieren (6). Autoantikörper gegen C1QBP könnten somit für eine Aktivierung der unspezifischen humoralen Immunantwort sorgen und die Apoptose der RGZ's begünstigen. Stasi et al. untersuchten in diesem Zusammenhang, ob die Komplementaktivierung Teil der Pathogenese des Verlusts an RGZ's beim Glaukom ist. Anhand eines Tiermodells wurde die zeitliche Verteilung der Hochregulierung von C1QBP in der Netzhaut in Bezug auf glaukomatöse RGZ-Schäden untersucht. Ihre Ergebnisse weisen darauf hin, dass eine Hochregulation der C1QBP-Expression durch Stress ausgelöst werden kann, der durch

einen erhöhten IOD auf der Netzhaut induziert wird. Die Fortsetzung der C1QBP-Expression deutet auf einen Zusammenhang mit dem RGZ Verlust hin, welcher im Alter und bei Fortschreiten des Glaukoms zunimmt. Er postulierte, dass die Expression von C1QBP in Müller-Zellen ein adaptiver Mechanismus ist, um apoptotische RGZ's zu entfernen. Eine andere Interpretation könnte sein, dass es durch den erhöhten IOD zu einer Funktionsstörung der RGZ kommt, die eine C1QBP-Hochregulierung begünstigen und das lokal vorhandene C1QBP an die RGZ's bindet und deren Apoptose induziert (242). In dieser Studie sind die Anti-C1QBP-Antikörper im Kammerwasser der POWG Patienten im Vergleich zu den PEX Patienten signifikant erniedrigt. Die verringerten Anti-C1QBP-Antikörper könnten im Kammerwasser, als Ort der im direkten Kontakt mit den RGZ's steht, die C1QBP-Expression hemmen und somit einem vermehrten RGZ-Verlust entgegenwirken. Zudem wäre es denkbar, dass das Vorhandensein der verringerten Anti-C1QBP-Antikörper im Kammerwasser als potenzielle Glaukom-Biomarker zur Anwendung kommen, die es verdienen, in weiteren Studien näher analysiert zu werden.

Die Autoantikörperreaktionen gegen CLUS zeigen signifikant erniedrigte Ergebnisse im Vergleich der POWG- mit den PEX Patienten. Das extrazelluläre Chaperon CLUS verhindert die stressinduzierte Aggregation abnormaler Proteine und ist Bestandteil der PEX-Fibrillen (79). Es ist ein Glykoprotein, welches in allen Körperflüssigkeiten vorkommt und von fast allen Zelltypen produziert und sekretiert wird. Im Auge findet man CLUS in Hornhaut, Linse, Ziliarkörper, Netzhaut, Glaskörper und im Kammerwasser. Die Expression von CLUS wird bei zellulärem Stress hochreguliert und induziert eine zytoprotektive Wirkung durch Hemmung der Apoptose, Förderung von Zellkontakten und Schutz von Zellen. Zenkel et al. konnten eine signifikant verringerte Expression von CLUS im Kammerwasser und im vorderen Augensegment von PEX-Augen im Vergleich zu normalen Kontrollaugen und POWG-Augen erfassen. Dies bekräftigt die Annahme, dass Schutzmechanismen in PEX-Augen beeinträchtigt sind. Verringerte Konzentrationen von GST-S-Transferase-1 im Gewebe des vorderen Segments unterstützt diese These. Ein Mangel an CLUS soll die stressinduzierte Akkumulation und stabile Ablagerung von abnormal aggregiertem PEX-Material im vorderen Augensegment fördern (243).

Schlötzer-Schrehardt konnten einen Zusammenhang zwischen dem PEX und dem Gen für CLUS sowie der GST und weiteren Genen nachweisen. Diese Gene sind sowohl an der zellulären Stressantwort als auch an der Regulation beteiligt. Polymorphismen in diesen Genen wurden ebenso bei Alzheimer identifiziert. (79).

CLUS als Bestandteil der PEX-Fibrillen verhindert die Aggregation und das Ausfällen von falsch gefalteten Proteinen. Bei PEX-Patienten wurden verringerte Werte von CLUS im vorderen Augenabschnitt und im Kammerwasser im Vergleich zu POWG Patienten gefunden.

Die Anreicherung des PEX-Materials beim PEX wird somit begünstigt, da die zytoprotektive Wirkung von CLUS gehemmt ist. Durch die Dysfunktion von CLUS kommt es zur Aggregation abnormaler Mikrofibrillen (=PEX-Fibrillen) und im Laufe der Zeit zu einer Verbindung des PEX-Materials an das Gewebe. Dieser Prozess wird durch oxidativen Stress, der durch die progressive Produktion der PEX-Fibrillen entsteht, gefördert (76, 243). Die erhöhten Antikörper-Level gegen CLUS beim PEX im Vergleich zum POWG könnten der Grund für die verminderten Expressionen des CLUS Antigens sein und auf eine Unterdrückung der zytoprotektiven Wirkung von CLUS beim PEX hindeuten und dieses begünstigen. Es zeigen sich keine signifikanten Ergebnisse im Vergleich zur Kontrollgruppe des KAT. Die Standardabweichung der Intensitäten aller Gruppen dieser Studie sind generell relativ hoch und die Gruppe der KAT Patienten umfasst eine sehr kleine Gruppe. Man kann nur Unterschiede mit sehr hoher Effektstärke nachweisen und da es innerhalb der KAT Gruppe bereits starke individuelle Unterschiede gibt, reicht die statistische Power in diesem Versuch nicht aus, um signifikante Ergebnisse im Vergleich zum POWG zu detektieren.

Zusammenfassend liefern diese Ergebnisse eine weitere Bestätigung für die Existenz spezifischer Autoantikörper im Kammerwasser von Patienten mit POWG und PEX. Auch wenn die Autoantikörper nicht direkt an der Manifestation eines Glaukoms beteiligt sind, könnten sie womöglich als Marker für künftige Erkrankungen bei derzeit Gesunden eingesetzt werden. Antikörpertiter können sich bereits viele Jahr vor dem klinischen Ausbruch von Autoimmunerkrankungen, wie bei Multipler Sklerose und Lupus erythematodes entwickeln, was auch beim Glaukom in Betracht gezogen werden könnte (244, 245).

5.3.3 Signifikante Antigen-Autoantikörper-Reaktionen in Zusammenhang mit dem Normaldruckglaukom

In dieser Studie zeigten sich signifikante Unterschiede in der Antigen-Autoantikörper-Reaktion von NDG zum PEX und POWG. Hierbei waren die Antigene VIM und GST im Vergleich zum POWG signifikant erhöht während das C1QBP im Vergleich zum PEX erniedrigt war.

VIM zählt zu den Typ III Intermediärfilamenten und wird typischerweise in mesenchymalen Zellen exprimiert. Hauptfunktion dieses Proteins ist die Aufrechterhaltung der Zellform. Es spielt jedoch auch eine Rolle in der Wundheilung. Eine Überexpression des Proteins begünstigt die Entstehung von Gewebefibrosen (246). VIM kann als Autoantigen bei Autoimmunerkrankungen oder als Schadenssignal wirken. Man findet es vorwiegend im Zytoplasma wobei es auch an extrazellulären Stellen in sezernierter Form oder an Zelloberflächen in Verbindung mit Zellaktivierung, Entzündung oder Verletzung stehen kann (247). Man geht davon aus, dass Autoantikörper gegen VIM den Knochenstoffwechsel beeinflussen und den direkten Knochenschwund induzieren (248). Anti-VIM-Antikörper sind

aber nicht nur bei rheumatologischen Autoimmunerkrankungen von Bedeutung, sondern spielen ebenso eine Rolle bei Funktionsstörungen von Herz- und Lungentransplantaten, wo sie mit einem Transplantatverlust assoziiert werden (249). Beim Glaukom wurde im Zusammenhang mit VIM festgestellt, dass bei einer Überexpression von VIM vermehrt Narbengewebe in der Tenon-Kapsel entsteht, wodurch der Erfolg des Eingriffes der TE zur Senkung des IOD's beeinträchtigt wird (250). Autoantikörper gegen VIM wurden in früheren Studien bereits im Kammerwasser von NDG Patienten entdeckt sowie in Seren von Glaukompatienten (12, 13).

Außerdem konnten bei einer durch einen erhöhten IOD induzierten okulären Ischämie bereits vor dessen Auftreten, Immunreaktionen gegen VIM festgestellt werden. Die Antikörperreaktivität gegen VIM nahm nach der Ischämie signifikant zu (9). Die Anti-VIM-Antikörper könnten große Mengen an VIM hemmen und somit zum Schutz des Gewebes beim NDG beitragen, um einer erhöhten Steifigkeit der Tenon-Kapsel entgegenzuwirken. Anti-VIM-Antikörper könnten zudem ein Marker zur Früherkennung eines NDG's sein, da dieses hauptsächlich durch vaskuläre Dysregulationen mit der Folge von Ischämie und Schädigung des Sehnervs entsteht und VIM nach Auftreten einer Ischämie signifikant erhöht ist. Beim POWG sind die Anti-ViM-Antikörper im Vergleich zum NDG hingegen erniedrigt und könnten auf einen Verlust der schützenden Immunität hindeuten, der pathologische Prozesse beim POWG begünstigt.

Jedoch wurden die erhöhten Anti-VIM-Antikörper auch im Zusammenhang mit anderen Erkrankungen wie z.B. rheumatologischen Autoimmunerkrankungen sowie bei Krebspatienten nachgewiesen (248, 251). Dies schafft für die klinische Anwendung der Autoantikörper als diagnostische Biomarker eine unrealistische Voraussetzung, da deren Potenzial zur Unterscheidung der verschiedenen Krankheiten ausbleibt. Die Tatsache, dass Autoantikörper gegen VIM in verschiedenen Krankheiten nachgewiesen werden konnte, könnte jedoch darauf hindeuten, dass sie Teil des natürlichen Autoantikörperrepertoires sind. Durch eine Störung der Homöostase der natürlichen Autoantikörper könnten Krankheiten begünstigt werden (11).

GST's sind Entgiftungsenzyme, die in der Membran von Gliazellen und neuronalen Zellen des Zentralnervensystems einschließlich der Netzhaut vorkommen und die Fähigkeit besitzen toxische Wirkstoffe, die bei oxidativem Stress als Sekundärmetaboliten gebildet werden, zu entgiften (174, 252). Anti-GST-Antikörper sind beim NDG im Vergleich zum POWG signifikant erhöht.

Die Expression von GST ist ein Marker für die Empfindlichkeit von Zellen gegenüber oxidativem Stress. Oxidativer Stress führt in der Netzhaut zu neuronalem Zelltod und ist maßgeblich an der glaukomatösen Neurodegeneration beteiligt. Hohe GST-Spiegel in retinalen Gliazellen deuten auf eine neuroprotektive Wirkung hin. Yang et al. untersuchten

Netzhautproteine im Serum von Glaukumpatienten und fanden erhöhte Autoantikörper Titer gegen GST sowohl beim POWG als auch beim NDG. Diese stellen eine Reaktion auf Gewebestress als Folge der Neurodegenerationsprozesse in der Netzhaut dar (174). Bagnis et al. untersuchten Kammerwasserproben von POWG Patienten mittels Microarrayanalyse und fanden verringerte Expressionen von GST. Sie nehmen an, dass das Ungleichgewicht zwischen Produktion und Entgiftung von freien Radikalen aus Sauerstoff und Stickstoff im Kammerwasser durch die verringerte Expression des antioxidativen GST Enzyms verschlimmert wird. GST steht im direktem Zusammenhang mit der Abwehr von oxidativem Stress und spielt bei der Eliminierung freier Radikale eine entscheidende Rolle (253). GST-Polymorphismen können Schutz- oder Risikofaktoren bei POWG oder anderen Glaukomformen sein. Yu et al. führten eine Metaanalyse durch um Zusammenhänge zwischen GST-Polymorphismen und dem Glaukom ausfindig zu machen und sie kamen zu dem Schluss, dass GST-Polymorphismen zu einem erhöhten Glaukomrisiko beitragen können (254). Ist die GST-Funktion vermindert ist der Metabolismus oxidativer Zwischenprodukte gestört und die Auswirkung von oxidativem Stress auf den Sehnerv wird verstärkt (252).

GST-Polymorphismen sind außerdem mit einer Vielzahl von Krankheiten, einschließlich Krebs, Kardiovaskulären Erkrankungen, Erkrankungen der Atemwege und ophthalmologischen Problemen wie dem KAT assoziiert (252, 254). Im Zusammenhang mit Brustkrebs stellt GST einen Indikator für eine schlechte Prognose der Erkrankung in der Behandlung mit Chemotherapeutika dar (255).

Das NDG zeichnet sich durch eine gestörte Autoregulation des Blutflusses und durch eine verminderte Durchblutung der Netzhaut, der Chorioidea, der Papille und den retrokulären Gefäßen aus. Ist die Autoregulation gestört, dann führt jede IOD-Steigerung oder Blutdrucksenkung zu einer Verminderung des okulären Blutflusses. Nicht jedoch die Reduktion des okulären Blutflusses alleine stellt einen Risikofaktor für eine glaukomatöse Optikusneuropathie beim NDG dar, sondern eine fluktuierende Durchblutung, die durch eine instabile Versorgung der Gewebe mit Sauerstoff zum oxidativen Stress führt. Dieser oxidative Stress führt durch die Dysbalance von oxidativen und antioxidativen Mechanismen zu einem irreversiblen Glaukomschaden, welcher sich durch den Verlust von RGZ's und durch einen Gewebeumbau der Papille manifestiert (256).

Oxidativer Stress entsteht durch reaktive Sauerstoff- oder Stickstoffsubstanzen und sorgt für ein Ungleichgewicht am Auge. Beim Glaukom lassen sich oxidative Schäden an TM-Zellen, der Abnahme des reaktiven antioxidativen Potenzials und erhöhten Antioxidanzien wie Enzymen im Kammerwasser nachweisen (257).

Beim POWG spielt oxidativer Stress eine wichtige Rolle im Verlauf der Pathogenese, da zunächst TM-Zellen geschädigt werden und dadurch die Homöostase zwischen Stickoxid und

Endothelien verändert wird (132). Das TM erleidet während der Progression des POWG einen fortschreitenden Zellverlust und Zellerfall und Proteine, die in der Vorderkammer freigesetzt werden, sind im Kammerwasser nachweisbar (253). Im Kammerwasser befinden sich messbare Mengen an freien Sauerstoffradikalen sowie eine Vielzahl an enzymatischen und nicht-enzymatischen Antioxidantien, die die schädliche Wirkung der freien Radikale abwehren sollen (258, 259). Unter ihnen ist das Enzym GST, welches eine wichtige Rolle bei der Antioxidation, Entgiftung und Eliminierung von Karzinogenen, Oxidantien und Toxinen spielt (254). Verringerte Anti-GST-Antikörper könnten beim POWG im Vergleich zum NDG ein Indikator für ein erhöhtes Glaukomrisiko sein und als Biomarker für die Empfindlichkeit von Zellen gegen oxidativen Stress dienen. Sie könnten das Ungleichgewicht zwischen Produktion und Entgiftung freier Sauerstoffradikale im Kammerwasser verstärken und zum Glaukomrisiko beitragen.

Erhöhte Autoantikörpertiter gegen GST beim NDG im Vergleich zum POWG könnten ebenso eine Antwort auf Stress darstellen, der durch eine insuffiziente Versorgung der Gewebe mit Sauerstoff durch eine gestörte Autoregulation des Blutflusses entsteht und neurodegenerative Prozesse fördert. Die Optikusneuropathie bei Glaukompatienten wird begünstigt und somit die Pathogenese des NDG's verstärkt.

Im Vergleich zu erhöhten Reaktionen gegen POWG, zeigt das NDG erniedrigte Werte für C1QBP gegen das PEX. Das C1QBP führt zur Hemmung des C1-Komplexes und damit zur Unterdrückung der Komplementaktivierung (241). Eine erhöhte neuronale C1QBP-Expression wurde zudem bei der neurodegenerativen Alzheimer-Krankheit nachgewiesen. Hier vermittelt es ebenso eine Komplementvermittelte autotoxische Reaktion, indem es den C1-Komplex hemmt. Stasi et al. postulieren, dass die Hochregulierung von C1QBP durch oxidativen Stress ausgelöst wird, der durch einen erhöhten IOD auf der Netzhaut vermittelt wird (242). Autoantikörper gegen C1QBP aktivieren das Komplementsystem in den retinalen Ganglienzellen glaukomatöser Augen (6). Die Anti-C1QBP-Antikörper sind beim PEX gegenüber POWG und NDG erhöht während diese beim POWG und NDG gleich sind. NDG und POWG zählen zur Gruppe der primären Offenwinkelglaukome und zeichnen sich durch ein spontanes Auftreten am Auge aus, während das PEX als sekundäres Offenwinkelglaukom durch eine progressive Ablagerung von PEX-Fibrillen in den trabekulären Abflusswegen als Folge eines Pseudoexfolationssyndroms entsteht. Im glaukomatösen Auge von POWG und NDG Patienten sind die Signalwege, die den Abflusswiderstand und die TM-Biomechanik steuern, fehlreguliert und das TM Gewebe ist 20-mal steifer als bei Gesunden Patienten. Beim PEX wird der Abflusswiderstand hingegen durch ein Ungleichgewicht fibrogener Wachstumsfaktoren und proteolytischer Enzyme erhöht, die zu einer progressiven Ablagerung der PEX-Fibrillen in verschiedene intra- und extraokulären Geweben führt. Die Menge der

Ablagerungen steht hier in direkter Korrelation mit dem RGZ-Verlust und wird durch oxidativen Stress begünstigt.

Die erhöhten Anti-C1QBP-Antikörper beim PEX könnten eine verstärkte Immunantwort fördern und zum Schutz der RGZ's beitragen, indem sie die Aktivierung des Komplementsystems fördern. Durch die Hochregulierung der Anti-C1QBP-Antikörper könnte die Zellproliferation und Migration beim PEX begünstigt werden und durch ihre protektive Wirkung auf Fibroblasten, dem Ungleichgewicht fibrogener Wachstumsfaktoren beim PEX entgegenwirken.

Insgesamt sind diese Ergebnisse ein weiterer Hinweis für das Einwirken von Autoantikörper im Kammerwasser von Patienten mit NDG, PEX und POWG. Im Vergleich zur Kontrollgruppe des KAT wurden keine signifikanten Autoantikörper gegen C1QBP, VIM und GST detektiert. Die KAT Gruppe umfasst eine kleine Gruppe mit großen Standardabweichungen und einer schwachen Effektstärke im Vergleich zum NDG. Da es in dieser Gruppe starke individuelle Unterschiede gibt, reicht die statistische Power in diesem Versuch nicht aus.

5.3.4 Signifikante Antigen-Autoantikörper-Reaktionen in Zusammenhang mit dem Pigmentdispersionsglaukom

Das PDS zeigt ausschließlich signifikant erhöhte Antigen-Antikörper-Reaktionen.

Ähnlich wie beim PEX, zeigt das PDS erhöhte Reaktionen von b-S-Crys und LPPR3 im Vergleich zur Kontrollgruppe des KAT. Zudem zeigt das PDS erhöhte Antigen-Antikörper-Reaktionen gegen das Heterogene nukleare Ribonukleoproteine (hnRNPs), welches sowohl gegen den KAT als auch gegen das POWG erhöhte Werte aufweist.

Heterogene nukleare Ribonukleoproteine (hnRNPs) finden sich im Zellkern und sind an der Verarbeitung der Prä-mRNA und anderen Aspekten des mRNA-Metabolismus und –Transport beteiligt. Jedes hnRNP-Protein hat eine andere RNA-Bindungspräferenz auf der Prä-mRNA und unterschiedliche Nukleinsäurebindungseigenschaften (260). Das heterogene nukleäre Ribonukleoprotein F beteiligt sich an der Regulation des mRNA-Stoffwechsels, indem es spezifisch die RNA-Sequenzen des G-Trakts erkennt (261). HnRNP F ist am Komplex der gewebespezifischen Prä mRNA Spleißeregulation beteiligt, welches an der genetischen Regulation beteiligt ist (262, 263).

Bei der Behandlung von Hypertonie und Nierenschäden bei Dm Typ 1 konnte an Mäusen gezeigt werden, dass durch eine Hochregulation der hnRNP F – Expression der Insulin Bluthochdruck verhindert und Nierenschäden vermindert werden konnten (264).

HnRNP-F gilt als tumorförderndes Molekül mit der Fähigkeit die Zellproliferation bei unterschiedlichen Krebsformen zu fördern. Es ist entscheidend für die Genexpression und Signaltransduktion (265). Denkbar wäre beim PDS Glaukom, dass die genetische Regulation

bei PDS Patienten durch erhöhte Anti-HNRNP F-Antikörper verändert ist und durch die Förderung der Zellproliferation vermehrt Pigmentzellen in das Kammerwasser freigesetzt werden. Hierdurch könnte die Vorwölbung der Iris, die zum mechanischen Abrieb der Pigmentgranula führt, begünstigt werden und die Ablagerung der Pigmentzellen im TM zur Manifestation eines PDS Glaukoms beitragen.

Ähnlich wie beim PEX Glaukom, konnten erhöhte Autoantikörper gegen b-S-Crys beim PDS gegen den KAT detektiert werden. Sie können als Strukturproteine der Linse an der Regeneration und dem Überleben von RGZ's mitwirken und zum Schutz vor Degeneration der Neuronen beitragen (214). Wax et al. postulierten hingegen, dass die erhöhten Anti-b-S-Crys Antikörper an der neuronalen Apoptose der Neuronen beteiligt sind (177). Autoantikörper gegen LPPR3 zeigen ebenso erhöhte Werte im Sehnerv in einer früheren Studie von Milbeck et al. bei der Lysophospholipid (LPL)-Profile und entsprechende Enzyme in den LPL-Wegen im Sehnerv zwischen Kontroll- und Glaukomproben untersucht wurden. Diese erhöhten Anti-LPPR3-Antikörper könnten zur Aberration im Sehnerv beitragen (229).

Erhöhte Autoantikörper gegen CALR konnten beim PDS sowohl gegen das PEX als auch das POWG detektiert werden.

CALR ist ein multifaktorielles Protein, welches im Lumen des ER in vielen Zellen lokalisiert ist. Die Zellmembran ist wichtig für die Ca^{2+} -Speicherung und -Freisetzung und CALR ist eines der wichtigsten Ca^{2+} -bindenden Chaperone des ER und reguliert die Kalziumhomöostase. Zudem ist es an zellulären Prozessen beteiligt wie der interzellulären Kommunikation, der Regulation der Genexpression, der Zelladhäsion, der Autoimmunität sowie der Apoptose. CALR ist an der Synthese von Molekülen beteiligt, dazu gehören Ionenkanäle, Oberflächenrezeptoren, Integrine und Transporter (266-268). Es ist an der korrekten Faltung von neu gebildeten Glykoproteinen und deren Qualitätskontrolle beteiligt (269). Im Rahmen von Alterungsprozessen kann es bei Fehlfunktion von CALR zur Anhäufung von fehlgefalteten Proteinen im ER kommen und folglich zur einer vermehrten Produktion von freien Sauerstoffradikalen, was möglicherweise die Pathogenese des Glaukoms begünstigt (270, 271). Chronischer Stress des ER spielt in der Pathophysiologie des Glaukoms eine Rolle. Das ER ist für die Synthese, Faltung und Reifung von Proteinen zuständig. Stress im ER entsteht, wenn es mit ungefalteten oder fehlgefalteten Proteinen überfordert ist und sich diese im Lumen des ER akkumulieren. Dies hat zur Folge, dass freie Sauerstoffradikale, die ein neurodestruktives Potenzial haben, vermehrt produziert werden (224, 272). Man geht von einer therapeutischen Bedeutung von CALR bei steroidhormonabhängigen Erkrankungen, wie z. B. Osteoporose aus und es wird für die Entwicklung neuer antithrombotischer Wirkstoffe untersucht (273). Hinsichtlich krankheitsassoziiertes Prozesse konnte eine Beteiligung an der

Pathogenese verschiedener Tumoren nachgewiesen werden bei denen erhöhte CALR-Konzentrationen das Wachstum und die Metastasierung von Zellen hemmt (272, 274). In dieser Studie zeigten sich erhöhte Antikörper gegen CALR bei PDS Patienten im Vergleich zu Patienten mit PEX und POWG. Die erhöhten Anti-CALR-Antikörper im PDS könnten Folge des oxidativen Stresses sein, der durch die Ablagerung von Pigmentgranula im Kammerwinkel beim PDS Glaukom entsteht. Durch das Erschweren der Phagozytose der Apoptosereste der Zellen wird möglicherweise die Produktion der Autoantikörper gegen CALR erleichtert und die beschriebene autoimmune Wirkung weiter begünstigt. Bell et al. konnten in ihrer Studie belegen, dass Antikörper das ER beeinflussen können (5). Es könnte im Falle der Aktivierung der Antikörper gegen CALR zur vermehrten Anhäufung von fehlgefalteten Proteinen im ER kommen mit der Folge, dass es zu einer vermehrten Anreicherung freier Sauerstoffradikale im ER kommt und das PDS Glaukom durch den oxidativen Stress begünstigt wird.

Erhöhte Werte im Vergleich von PDS gegenüber POWG konnten zudem gegen CLUS (CLUS) detektiert werden. Außerdem zeigen Antikörper gegen Clathrin light chain A (CLTA) im PDS erhöhte Werte, sowohl gegen das POWG als auch das NDG.

Clathrin ist ein zytoplasmatisches Protein, welches bei der Endozytose und dem intrazellulären Transport beteiligt ist (275). Man unterteilt endozytische Wege von Zellen grob in clathrinabhängig (= das Hüllprotein Clathrin inbegriffen) und –unabhängig (276). Endozytische Clathrin-beschichtete Vesikel entstehen durch Interaktionen von zytosolischen Proteinen mit Komponenten des Inneren der Plasmamembran (277). Die Clathrin-Leichtketten (CLCa und CLCb, auch bekannt als CLTA und CLTB) sind Hauptbestandteile von Clathrin-beschichteten Vesikeln. (278).

Durch die Clathrin-abhängige Endozytose gelangen Zellen, Rezeptoren, Ionenkanäle und extrazelluläre Moleküle durch Vesikel in Zellen. Pits (= Membranflecken) entstehen, die durch das Vorkommen von Clathrin definiert sind. Die Bildung eines clathrinbeschichteten Pits erfordert, dass Clathrin mit spezifischen Rezeptormolekülen assoziiert wird und somit eine polymere Matrix auf der inneren Membranoberfläche gebildet wird (279). Es dient während der Endozytose als Netzwerk um die Membran und interagiert dabei mit sich und anderen Adapterproteinen. Seine Hauptfunktion beinhaltet die Bildung eines Stützgitters als äußere Hülle um die knospenden Vesikel. Durch das Clathrin-Gitter kann eine Interaktion zwischen Adapterproteinen entstehen (275).

Janssen et al. untersuchten den Clathrin-Vesikel-vermittelten Transport im Ziliarkörperepithel und fanden heraus, dass sich die Kammerwasser-Zusammensetzung ändert, da z.B. Immunglobuline, Schilddrüsenhormone, Prostaglandine, Cholesterin und Vitamine mit dem Kammerwasser ausgeschieden werden. Man geht davon aus, dass sich die Veränderung der Kammerwasser-Zusammensetzung im Ziliarkörperepithel durch den Clathrin-Vesikel-

vermittelten Transport eine Rolle in der Pathogenese des POWG spielt (280). Erhöhte Autoantikörper gegen Clathrin könnten ein Hinweis für frühe pathologische Veränderungen im Kammerwasser sein. Michael et al. fanden außerdem heraus, dass eine Reduktion der TM-Zell-Phagozytose mit dem Glaukom assoziiert ist und Vesikel eine wichtige Rolle bei der Selbstreinigung des Abflussweges spielen, da diese die Phagozytose in TM-Zellen markieren (281).

Erhöhte Anti-CLUS-Antikörper sind im PDS im Vergleich zum POWG detektiert wurden. Beim POWG könnte, wie bereits diskutiert, ein Mangel an CLUS die stressinduzierte Akkumulation und stabile Ablagerung von abnormal aggregiertem PEX-Material im vorderen Augensegment fördern (243). Das vermehrte Vorkommen von Anti-CLUS-Antikörpern im PDS Glaukom, könnte ein Hinweis auf eine zytoprotektive Wirkung dieser Autoantikörper sein, da CLUS im Kammerwasser durch zellulären Stress hochreguliert wird und an der Hemmung der Apoptose, der Förderung von Zellkontakten und dem Schutz von Zellen beteiligt ist.

5.4 Fazit und Ausblick

Das Glaukom als Bedrohung für die Gesundheit des Auges, insbesondere bei einer immer älter werdenden Gesellschaft in westlichen Ländern, stellt eine zunehmende Belastung des Gesundheitssystems dar. Es besteht ein Bedarf an effizienten Fortschritten im Krankheitsmanagement bei Kontrolluntersuchungen von Patienten bei denen ein Glaukomverdacht besteht. Bisher zielt die Behandlung des Glaukoms überwiegend auf die medikamentöse Senkung des IOD ab. Hierdurch kann zwar einer Progression der Erkrankung vorgebeugt werden, jedoch wird nur ein wichtiger Risikofaktor des Glaukoms behandelt. Kostengünstige und einfach zu handhabende Instrumente und Materialien hilft Ärzten eine effiziente Behandlungstherapie für den Patienten zu wählen. Hier kann ein sicherer Test, der ein Glaukom bereits im Frühstadium erkennt, einem Fortschreiten des Sehverlustes durch eine schnelle, individuelle Therapie entgegenwirken. Nicht nur der Patient profitiert von einer frühzeitigen Erkennung eines Glaukoms, sondern auch das Gesundheitswesen kann Kosten durch eine gezielte Medikation vermindern. Spezifische Autoantikörper-Biomarker, die im Kammerwasser der Patienten verändert sind, könnte ein Ansatz hierfür sein.

Ziel dieser Arbeit war es, die Beteiligung der veränderten Autoantikörperreaktivitäten im Kammerwasser bei den Glaukomformen POWG, NDG, PEX und PDS zu erforschen und deren Einfluss auf die Pathogenese zu untersuchen. Die sowohl in dieser Arbeit, als auch in früheren Studien verwendeten Antigene wiesen einen deutlichen Zusammenhang bei glaukomspezifischen Prozessen auf und nehmen zentrale Aufgaben in der Physiologie des Glaukoms ein. Es wurde bei den Patienten eine Vielzahl an signifikanten

Autoantikörperreaktionen gegen verschiedene Antigene beobachtet, die eine Involvierung der Autoimmunität bei erkrankungsbedingten und neurologischen Prozessen bei der Pathogenese des Glaukoms belegen und als potenzielle Krankheits-Biomarker bewertet werden könnten.

In Zusammenhang mit der diskutierten Beteiligung der Autoantikörper beim PEX im Vergleich zum KAT ist bei den Autoantikörpern gegen CALD1, b-S-Crys und GFAP eine neuroprotektive Wirkung vorstellbar, die ein therapeutisches Potenzial beinhaltet.

Eine Initiierung des Komplementsystems durch Autoantikörper gegen C1QBP wird beim PEX im Vergleich zum POWG und NDG diskutiert und könnte eine verstärkte Immunantwort durch die Autoantikörper vermitteln.

Andere Autoantikörper könnten die zytoprotektive Wirkung, die von einigen Antigenen ausgeht, wie z.B. CLUS, unterdrücken und die Akkumulation und Ablagerung von Fibrillen beim PEX und PDS Glaukom fördern und zu deren Krankheitsverlauf beitragen.

Diskutiert wurde bei einigen Autoantikörpern das Potenzial eines Biomarkers zur Früherkennung der verschiedenen Glaukomformen. So wäre die Anwendung von erhöhten Autoantikörper gegen VIM als auch verminderten Autoantikörper gegen GST als Biomarker zur Früherkennung eines NDG denkbar.

In dieser Studie wurden die Autoantikörper im Kammerwasser der Patienten untersucht. Dem Kammerwasser kommt hierbei eine besondere Bedeutung zu, da die Antikörper im Kammerwasser womöglich glaukomspezifischer sind als im Serum. Ein Einwandern der Antikörper über die Blut-Retina-Schranke oder eine lokale Antikörperproduktion im Auge wurde diskutiert und wäre denkbar.

Für zukünftige Studien bleibt die Aufgabe welche genauen Auslöser für die signifikant veränderten Autoantikörperreaktionen im Kammerwasser verantwortlich sind und wie diese reguliert werden. Heute ist klar, dass die Autoimmunität eine wichtige Rolle beim Glaukom spielt und sowohl ein therapeutisches als auch diagnostisches Potenzial zur Früherkennung von Patienten mit Glaukom hat und möglicherweise helfen kann, die große Dunkelziffer an Patienten mit teilweise bereits fortgeschrittenem Glaukomschaden, zu identifizieren. Alle Hypothesen über den Ursprung und die Funktion der nachgewiesenen Autoantikörper in den Glaukomformen sind eher spekulativ und müssen durch weitere Studien belegt werden.

6 Zusammenfassung

Das Glaukom umfasst eine Gruppe an optisch-neurologischen Erkrankungen, welche sich durch einen langsamen, progredienten Untergang von RGZ's auszeichnet und die zweithäufigste Ursache für Erblindung weltweit ist. Derzeit gibt es neben der Reduktion des intraokulären Drucks mittels medikamentöser oder chirurgischer Therapie keine geeigneten Mittel um dem Fortschreiten des glaukomatösen Schadens entgegenzuwirken. In den letzten Jahren rückten krankheitsbedingte Veränderungen der Autoantikörperprofile vermehrt in den Fokus in der Glaukom Pathogenese.

In diversen Studien konnte eine Beteiligung der humoralen Immunantwort, die durch eine Veränderung der serologischen Autoantikörperspiegel bedingt ist, festgestellt werden.

Ziel dieser Arbeit war es die Rolle der Autoantikörper an der Entstehung der Glaukomformen des POWG, des PEX, des NDG und des PDS zu untersuchen. Ein Schwerpunkt bestand im Vergleich der Autoantikörper-Reaktionen im Kammerwasser der Glaukomformen und der Detektion veränderter Proteinexpressionen unter Verwendung des Antikörper-Microarrays.

Die Studienpopulation bestand aus vier Glaukomgruppen und der Kontrollgruppe des KAT. Die Gruppe der Patienten mit POWG war mit 166 Patienten hierbei die größte Gruppe während die Gruppe mit PDS mit 11 Patienten die kleinste Gruppe der Glaukome darstellte. Im Rahmen einer Operation wurden jedem Patient Kammerwasserproben entnommen und die Autoantikörperreaktion wurden mittels Microarray im Labor der Augenklinik detektiert.

Die statistische Auswertung fand anschließend mit Hilfe von Statistica statt. Untersucht wurden die Antikörperreaktionen gegen Filamentproteine, Enzyme, Glykoproteine und verschiedene Strukturproteine im Kammerwasser. Diverse spezifische Autoantikörper-Reaktionen zwischen allen Gruppen konnten detektiert werden.

Im Gruppenvergleich konnten sowohl erhöhte als auch erniedrigte Reaktionen für jede Studiengruppe festgestellt werden. Das Potenzial dieser veränderten Autoantikörper Spiegel im Kammerwasser für die Glaukom Pathogenese bleibt weiter unklar. Dennoch könnte die Identifizierung von Autoantikörpern gegen Autoantigene im Kammerwasser ein Ansatz für die Entwicklung geeigneter Biomarker in der Früherkennung des Glaukoms sein.

Diese Informationen in der Früherkennung des Glaukoms, könnten helfen die veränderten Autoantikörperreaktionen beim Glaukom besser zu verstehen und effizienter im Alltag der Medizin als Diagnoseinstrument oder bei neuen Behandlungsmethoden nutzen zu können. Die Ergebnisse dieser Dissertation liefern weitere Erkenntnisse über die natürliche Autoimmunität und bilden die Grundlage für weitere Analysen von Autoantikörpern und deren Eigenschaften und Einflussnahme beim Glaukom. Es benötigt weitere Studie, um die Einflussnahme des Immunsystems auf die Pathogenese des Glaukoms zu klären.

7 Literaturverzeichnis

1. Kang JM, Tanna AP. Glaucoma. *Med Clin North Am.* 2021;105(3):493-510.
2. Pfeiffer NJHD. Definition des Glaukoms. 2007:1-2.
3. Stein JD, Khawaja AP, Weizer JS. Glaucoma in Adults-Screening, Diagnosis, and Management: A Review. *Jama.* 2021;325(2):164-74.
4. Fick A, Jünemann A, Michalke B, Lucio M, Hohberger B. Levels of serum trace elements in patients with primary open-angle glaucoma. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology.* 2019;53:129-34.
5. Bell K, Funke S, Grus FH. [Autoimmunity and glaucoma]. *Ophthalmologie.* 2019;116(1):18-27.
6. Beutgen VM, Schmelter C, Pfeiffer N, Grus FH. Autoantigens in the trabecular meshwork and glaucoma-specific alterations in the natural autoantibody repertoire. *Clin Transl Immunology.* 2020;9(3):e01101.
7. Pfeiffer N. Ergebnisse der „Ocular hypertension treatment study“ (OHTS). *Der Ophthalmologe.* 2005;102(3):230-4.
8. Grehn F. Glaukom. *Augenheilkunde: Springer;* 2019. p. 409-49.
9. Joachim SC, Wax MB, Boehm N, Dirk DR, Pfeiffer N, Grus FH. Upregulation of antibody response to heat shock proteins and tissue antigens in an ocular ischemia model. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2011;52(6):3468-74.
10. Grus F. Zusammenhang zwischen oxidativem Stress und immunologischen Störungen beim Glaukom. *Schlaglicht Augenheilkunde: Glaukom.* 2014:39.
11. Beutgen VM, Pfeiffer N, Grus FH. Serological Levels of Anti-clathrin Antibodies Are Decreased in Patients With Pseudoexfoliation Glaucoma. *Frontiers in Immunology.* 2021;12(394).
12. Joachim SC, Bruns K, Lackner KJ, Pfeiffer N, Grus FH. Antibodies to α B-crystallin, vimentin, and heat shock protein 70 in aqueous humor of patients with normal tension glaucoma and IgG antibody patterns against retinal antigen in aqueous humor. *Current eye research.* 2007;32(6):501-9.
13. Joachim SC, Reichelt J, Berneiser S, Pfeiffer N, Grus FH. Sera of glaucoma patients show autoantibodies against myelin basic protein and complex autoantibody profiles against human optic nerve antigens. *Graefe's Archive for Clinical and Experimental Ophthalmology.* 2008;246(4):573-80.
14. Joachim SC, Mondon C, Gramlich OW, Grus FH, Dick HB. Apoptotic retinal ganglion cell death in an autoimmune glaucoma model is accompanied by antibody depositions. *J Mol Neurosci.* 2014;52(2):216-24.
15. Schuster AK, Erb C, Hoffmann EM, Dietlein T, Pfeiffer N. The Diagnosis and Treatment of Glaucoma. *Dtsch Arztebl Int.* 2020;117(13):225-34.
16. Von Thun Und Hohenstein-Blaul N, Bell K, Pfeiffer N, Grus FH. Autoimmune aspects in glaucoma. *Eur J Pharmacol.* 2016;787:105-18.
17. Quigley HA, Broman AT. The number of people with glaucoma worldwide in 2010 and 2020. *The British journal of ophthalmology.* 2006;90(3):262-7.
18. Bowling B, Burk R, Tönjes S. *Kanski's Klinische Ophthalmologie: Eins systematischer Ansatz: Elsevier Health Sciences;* 2017.
19. Cook C, Foster P. Epidemiology of glaucoma: what's new? *Can J Ophthalmol.* 2012;47(3):223-6.

20. Tham Y-C, Li X, Wong TY, Quigley HA, Aung T, Cheng C-Y. Global prevalence of glaucoma and projections of glaucoma burden through 2040: a systematic review and meta-analysis. *Ophthalmology*. 2014;121(11):2081-90.
21. Höhn R, Nickels S, Schuster AK, Wild PS, Münzel T, Lackner KJ, et al. Prevalence of glaucoma in Germany: results from the Gutenberg Health Study. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 2018;256(9):1695-702.
22. Wolfram C, Pfeiffer N. Weißbuch zur Situation der ophthalmologischen Versorgung in Deutschland. Deutsche Ophthalmologische Gesellschaft, München. 2012.
23. Wolfram C, Schuster AK. Glaukomversorgung in Deutschland—Ergebnisse einer Mitgliederumfrage von DOG und BVA—Teil 1: Diagnostik. *Der Ophthalmologe*. 2022;119(1):38-45.
24. Sommer A, Die Bedeutung des Augeninnendrucks in der Pathogenese des Glaukomschadens; Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg. 1993: 29-33.
25. Kass MA, Heuer DK, Higginbotham EJ, Johnson CA, Keltner JL, Miller JP, et al. The Ocular Hypertension Treatment Study: a randomized trial determines that topical ocular hypotensive medication delays or prevents the onset of primary open-angle glaucoma. *Arch Ophthalmol*. 2002;120(6):701-13; discussion 829-30.
26. Sampaolesi R, Sampaolesi JR, Zárate J. The Glaucoma: Open Angle Glaucoma and Angle Closure Glaucoma. Heidelberg: Springer; 2014.
27. Tian H, Li L, Song F. Study on the deformations of the lamina cribrosa during glaucoma. *Acta Biomater*. 2017;55:340-8.
28. Killer HE, Pircher A. Normal tension glaucoma: review of current understanding and mechanisms of the pathogenesis. *Eye*. 2018;32(5):924-30.
29. Midgett D, Liu B, Ling YTT, Jefferys JL, Quigley HA, Nguyen TD. The effects of glaucoma on the pressure-induced strain response of the human lamina cribrosa. *Investigative ophthalmology & visual science*. 2020;61(4):41-.
30. Oglesby EN, Tezel G, Cone-Kimball E, Steinhart MR, Jefferys J, Pease ME, et al. Scleral fibroblast response to experimental glaucoma in mice. *Mol Vis*. 2016;22:82-99.
31. Sigal IA, Flanagan JG, Tertinegg I, Ethier CR. Modeling individual-specific human optic nerve head biomechanics. Part II: influence of material properties. *Biomech Model Mechanobiol*. 2009;8(2):99-109.
32. Rudnicka AR, Mt-Isa S, Owen CG, Cook DG, Ashby D. Variations in primary open-angle glaucoma prevalence by age, gender, and race: a Bayesian meta-analysis. *Investigative ophthalmology & visual science*. 2006;47(10):4254-61.
33. Schuster AK, Wagner FM, Pfeiffer N, Hoffmann EM. Risikofaktoren für das Offenwinkelglaukom und Empfehlungen zur Glaukomfrüherkennung. *Der Ophthalmologe*. 2020;117(11):1149-60.
34. Shen F, Chen B, Danias J, Lee KC, Lee H, Su Y, et al. Glutamate-induced glutamine synthetase expression in retinal Muller cells after short-term ocular hypertension in the rat. *Investigative ophthalmology & visual science*. 2004;45(9):3107-12.
35. Galassi F, Renieri G, Sodi A, Ucci F, Vannozzi L, Masini E. Nitric oxide proxies and ocular perfusion pressure in primary open angle glaucoma. *British Journal of ophthalmology*. 2004;88(6):757-60.
36. Aslan M, Cort A, Yucel I. Oxidative and nitrative stress markers in glaucoma. *Free Radic Biol Med*. 2008;45(4):367-76.
37. Saccà SC, Izzotti A. Oxidative stress and glaucoma: injury in the anterior segment of the eye. *Prog Brain Res*. 2008;173:385-407.

38. Tezel G. Oxidative stress in glaucomatous neurodegeneration: mechanisms and consequences. *Prog Retin Eye Res.* 2006;25(5):490-513.
39. Ferreira SM, Lerner SF, Brunzini R, Evelson PA, Llesuy SF. Oxidative stress markers in aqueous humor of glaucoma patients. *Am J Ophthalmol.* 2004;137(1):62-9.
40. Grus FH, Joachim SC, Hoffmann EM, Pfeiffer N. Complex autoantibody repertoires in patients with glaucoma. *Mol Vis.* 2004;10(1327137):13-7.
41. Joachim SC, Pfeiffer N, Grus FH. Autoantibodies in patients with glaucoma: a comparison of IgG serum antibodies against retinal, optic nerve, and optic nerve head antigens. *Graefe's Archive for Clinical and Experimental Ophthalmology.* 2005;243(8):817-23.
42. Elschmig A. *Glaukom.* Auge: Springer; 1928. p. 873-1006.
43. Erb CJKMfA. Wie läuft die Entstehung und Progression eines Optikusschadens bei einem primären Offenwinkelglaukom ab und welche Bedeutung haben diese Erkenntnisse für die Glaukomdiagnostik? 2012;229(02):106-11.
44. Joachim SC. Analyse der Antikörpermuster im Kammerwasser und Serum von Patienten mit Glaukom und okulärer Hypertension [Inauguraldissertation]: München 2006.
45. Weinreb RN, Khaw PT. Primary open-angle glaucoma. *Lancet (London, England).* 2004;363(9422):1711-20.
46. Crabb DP, Smith ND, Glen FC, Burton R, Garway-Heath DF. How does glaucoma look?: patient perception of visual field loss. *Ophthalmology.* 2013;120(6):1120-6.
47. Hoffmann EM, Prokosch-Willing VJKMfA. Primäre Offenwinkelglaukome. 2017;234(11):1407-22.
48. Grehn F. *Augenheilkunde:* Springer Berlin Heidelberg; 2009.
49. Vranka JA, Kelley MJ, Acott TS, Keller KE. Extracellular matrix in the trabecular meshwork: intraocular pressure regulation and dysregulation in glaucoma. *Exp Eye Res.* 2015;133:112-25.
50. Junglas B, Kuespert S, Seleem AA, Struller T, Ullmann S, Bösl M, et al. Connective tissue growth factor causes glaucoma by modifying the actin cytoskeleton of the trabecular meshwork. *Am J Pathol.* 2012;180(6):2386-403.
51. Braunger BM, Fuchshofer R, Tamm ER. The aqueous humor outflow pathways in glaucoma: A unifying concept of disease mechanisms and causative treatment. *Eur J Pharm Biopharm.* 2015;95(Pt B):173-81.
52. Bermudez JY, Montecchi-Palmer M, Mao W, Clark AF. Cross-linked actin networks (CLANs) in glaucoma. *Exp Eye Res.* 2017;159:16-22.
53. Last JA, Pan T, Ding Y, Reilly CM, Keller K, Acott TS, et al. Elastic modulus determination of normal and glaucomatous human trabecular meshwork. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2011;52(5):2147-52.
54. Morgan JT, Raghunathan VK, Chang YR, Murphy CJ, Russell P. The intrinsic stiffness of human trabecular meshwork cells increases with senescence. *Oncotarget.* 2015;6(17):15362-74.
55. Kapetanakis VV, Chan MP, Foster PJ, Cook DG, Owen CG, Rudnicka AR. Global variations and time trends in the prevalence of primary open angle glaucoma (POAG): a systematic review and meta-analysis. *British Journal of Ophthalmology.* 2016;100(1):86-93.
56. Mallick J, Devi L, Malik PK, Mallick J. Update on Normal Tension Glaucoma. *J Ophthalmic Vis Res.* 2016;11(2):204-8.
57. Flammer J, Orgül S, Costa VP, Orzalesi N, Kriegelstein GK, Serra LM, et al. The impact of ocular blood flow in glaucoma. *Prog Retin Eye Res.* 2002;21(4):359-93.

58. Zhavoronkov A, Izumchenko E, Kanherkar RR, Teka M, Cantor C, Manaye K, et al. Pro-fibrotic pathway activation in trabecular meshwork and lamina cribrosa is the main driving force of glaucoma. *Cell Cycle*. 2016;15(12):1643-52.
59. Sigal IA, Flanagan JG, Tertinegg I, Ethier CR. Predicted extension, compression and shearing of optic nerve head tissues. *Exp Eye Res*. 2007;85(3):312-22.
60. Dietlein TJKMfA. Normaldruckglaukom—ein praxisorientierter Überblick. 2009;226(05):R75-R88.
61. Demailly P, Cambien F, Plouin PF, Baron P, Chevallier B. Do patients with low tension glaucoma have particular cardiovascular characteristics? *Ophthalmologica*. 1984;188(2):65-75.
62. Tielsch JM, Katz J, Sommer A, Quigley HA, Javitt JC. Hypertension, perfusion pressure, and primary open-angle glaucoma. A population-based assessment. *Arch Ophthalmol*. 1995;113(2):216-21.
63. Zarei R, Fakhraie G, Mehdi M, Vahedian Z, Mirghorbani M, Masoomi A, et al. Updates on Normal-Tension Glaucoma Management. 2020.
64. Cho H-k, Kee C. Population-based glaucoma prevalence studies in Asians. *Survey of Ophthalmology*. 2014;59(4):434-47.
65. Shetgar AC, Mulimani MB. The central corneal thickness in normal tension glaucoma, primary open angle glaucoma and ocular hypertension. *J Clin Diagn Res*. 2013;7(6):1063-7.
66. Göbel W, Grehn FJDO. Das Winkelblockglaukom Ursachen und Differentialdiagnosen. 1998;95(3):191-205.
67. Schwenn OJAud. Akuter Winkelblock, chronisches Winkelblockglaukom und ihre Differenzialdiagnosen. 2013;3(04):299-309.
68. Zorić Geber M, Mandić Z, Korsić J, Novak Laus K. [Combined laser treatment in the management of acute and subacute primary angle closure glaucoma]. *Acta Med Croatica*. 2006;60(2):117-20.
69. Tarongoy P, Ho CL, Walton DS. Angle-closure glaucoma: the role of the lens in the pathogenesis, prevention, and treatment. *Survey of ophthalmology*. 2009;54(2):211-25.
70. Tamm ER. Entwicklung des Kammerwinkels und kongenitales Glaukom. *Der Ophthalmologe*. 2011;108(7):610.
71. Schmidt D. Hydrophthalmus (kongenitales Glaukom). Tipps und Tricks für den Augenarzt: Problemlösungen von A bis Z. 2008:206-8.
72. Shields MB, Krieglstein GK. Primär kongenitales Glaukom. *Glaukom: Springer*; 1993. p. 211-24.
73. Dietlein TJKMfA. Kongenitale und kindliche Glaukome. 2013;230(11):1163-78.
74. Schlötzer-Schrehardt UJKMfA. Oxidativer Stress beim Pseudoexfoliationsglaukom. 2010;227(02):108-13.
75. Schlötzer-Schrehardt U, Küchle M, Jünemann A, Naumann GO. [Relevance of the pseudoexfoliation syndrome for the glaucomas]. *Ophthalmologe*. 2002;99(9):683-90.
76. Schlötzer-Schrehardt U, Naumann GO. Ocular and systemic pseudoexfoliation syndrome. *Am J Ophthalmol*. 2006;141(5):921-37.
77. Gramlich OW. Pathomechanische Analysen zum Untergang retinaler Ganglienzellen im experimentellen autoimmunen Glaukom-Modell: Universitätsbibliothek Mainz; 2011.
78. Johnson TV, Fan S, Camras CB, Toris CB. Aqueous humor dynamics in exfoliation syndrome. *Archives of ophthalmology*. 2008;126(7):914-20.
79. Schlötzer-Schrehardt U. Neue pathogenetische Erkenntnisse zum Pseudoexfoliations-Syndrom/Glaukom. *Der Ophthalmologe*. 2012;109(10):944-51.

80. Gottanka J, Flügel-Koch C, Martus P, Johnson DH, Lütjen-Drecoll E. Correlation of pseudoexfoliative material and optic nerve damage in pseudoexfoliation syndrome. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1997;38(12):2435-46.
81. Jünemann AGM. Diagnose und Therapie des Pseudoexfoliationsglaukoms. *Der Ophthalmologe.* 2012;109(10):962-75.
82. Shuba L, Nicolela MT, Rafuse PE. Correlation of Capsular Pseudoexfoliation Material and Iridocorneal Angle Pigment With the Severity of Pseudoexfoliation Glaucoma. *Journal of Glaucoma.* 2007;16(1):94-7.
83. Arnarsson A, Damji KF, Sasaki H, Sverrisson T, Jonasson F. Pseudoexfoliation in the Reykjavik Eye Study: Five-Year Incidence and Changes in Related Ophthalmologic Variables. *American Journal of Ophthalmology.* 2009;148(2):291-7.
84. Löffler KU. Neovaskularisationsglaukom. *Der Ophthalmologe.* 2006;103(12):1057-64.
85. Widder R, Lemmen K-D, Dietlein TJKMfA. Neovaskularisationsglaukom. 2010;227(02):R15-R28.
86. Klemm M, Gesser CJKMfA. Die Bedeutung des Diabetes mellitus für das Glaukom. 2014;231(02):116-20.
87. Schwenn O, Shah B, Vogel A, Yun SJDO. Nd-YAG-Laser-Iridotomie bei Pigmentdispersionssyndrom und Pigmentdispersionsglaukom. 2003;100(5):406-10.
88. Huber CJKMfA. Das Syndrom der grauen Iris: eine iatrogene Form des Pigmentdispersionsglaukoms Nach Hinterkammerlinsenimplantation. 1984;184(05):500-.
89. Remky HJKMfA. Pigmentdispersion und Pseudoexfoliation. Folgerungen aus biomikroskopischen Befunden. 1980;176(01):32-7.
90. Rüfer F, Uthoff DJKMfA. Klinik und Therapie des Steroidglaukoms. 2013;230(07):692-6.
91. Schlote T, Rohrbach MJKMfA. Traumatische Glaukome-Eine Übersicht. 2005;222(10):772-82.
92. Böker T. Krankheiten der Linse. *Pädiatrie: Springer;* 2020. p. 2945-6.
93. Stürmer J. Katarakt–Grauer Star. *Therapeutische Umschau.* 2009;66(3):167-71.
94. Schalch W, Chylack L. Antioxidative Mikronährstoffe und Katarakt. *Der Ophthalmologe.* 2003;100(3):181-9.
95. Kueres A. Entwicklung einer medikamentenfreisetzenden Intraokularlinse mit den EGFR-Inhibitoren Erlotinib und Gefitinib: *Imu;* 2019.
96. Delcourt C, Cristol JP, Tessier F, Léger CL, Michel F, Papoz L. Risk factors for cortical, nuclear, and posterior subcapsular cataracts: the POLA study. *Pathologies Oculaires Liées à l'Age. Am J Epidemiol.* 2000;151(5):497-504.
97. Klink TH, Müller M, Zierhut M, Geerling G. Glaukom und Katarakt. *Der Ophthalmologe.* 2010;107(5):403-8.
98. Grehn F. *Glaukom. Würzburg: Springer Medizin;* 2012: 315-336.
99. Dietze H. Die Bestimmung der Sehschärfe. *Klinische Monatsblätter für Augenheilkunde.* 2018;235(09):1057-75.
100. Mojon DSJKMfA. Spaltlampen-Perimetrie: Ein neues diagnostisches Verfahren. 2000;216(05 (216)):327-9.
101. Greslechner R, Spiegel D. Klinische Papillenbeurteilung bei Glaukom. *Der Ophthalmologe.* 2016;113(10):816-23.
102. Troost A, Grunz C, Troost R, Grus F, Pfeiffer N, Schwenn OJKMfA. Übereinstimmung von klinischer Beurteilung, Heidelberg-Retina-Tomograph (HRT) und Nerve Fiber Analyzer (GDx) in der Glaukomdiagnostik. 2004;221(09):757-61.

103. Kremmer S, Anastassiou G, Selbach J. Stellenwert der Scanning Laser Polarimetrie für die Glaukomdiagnostik. *Klinische Monatsblätter für Augenheilkunde*. 2012;229(02):126-34.
104. Kóthy P, Vargha P, Holló GJKMfA. Glaukomreihenuntersuchung mittels Heidelberg-Retina-Tomograph II. 2003;220(08):540-4.
105. Woldt C. Papillenmorphometrie mit dem HRT-Gerät—Fallbeispiele. *Glaukom 2007*: Springer; 2008. p. 101-21.
106. Funk J, Töteberg M, Langenegger S. Apparative Hightech-Verfahren bei Glaukom. *Ophthalmologische Nachrichten*. 2014:14-5.
107. Hoffmann E, Schulze A. Glaukomdiagnostik mittels Scanning-Laser-Polarimetrie. *Der Ophthalmologe*. 2009;106(8):696-701.
108. Hagerb A, Dave H, Wiegand W. Hornhaut-pachymetrie und augeninnendruck. *Klinische Monatsblätter für augenheilkunde*. 2005;222(07):558-67.
109. Heijl A, Leske MC, Bengtsson B, Hyman L, Bengtsson B, Hussein M. Reduction of intraocular pressure and glaucoma progression: results from the Early Manifest Glaucoma Trial. *Archives of ophthalmology*. 2002;120(10):1268-79.
110. Heijl A. Glaucoma treatment: by the highest level of evidence. *The Lancet*. 2015;385(9975):1264-6.
111. Kass MA, Gordon MO, Gao F, Heuer DK, Higginbotham EJ, Johnson CA, et al. Delaying treatment of ocular hypertension: the ocular hypertension treatment study. *Arch Ophthalmol*. 2010;128(3):276-87.
112. Dietlein TS, Hermann MM, Jordan JF. Medikamentöse und chirurgische Therapie des Glaukoms. *Dtsch Arztebl Int*. 2009;106:597-606.
113. Thieme H. Medikamentöse Glaukomtherapie. *Klinische Monatsblätter für Augenheilkunde*. 2006;223(09):R73-R83.
114. Danesh-Meyer HV. Neuroprotection in glaucoma: recent and future directions. *Current Opinion in Ophthalmology*. 2011;22(2):78-86.
115. Tamm ER, Schmetterer L, Grehn F. Status and perspectives of neuroprotective therapies in glaucoma: the European Glaucoma Society White Paper. *Cell and tissue research*. 2013;353(2):347-54.
116. Bucolo C, Platania CB, Reibaldi M, Bonfiglio V, Longo A, Salomone S, et al. Controversies in Glaucoma: Current Medical Treatment and Drug Development. *Curr Pharm Des*. 2015;21(32):4673-81.
117. van der Valk R, Webers CA, Schouten JS, Zeegers MP, Hendrikse F, Prins MH. Intraocular pressure-lowering effects of all commonly used glaucoma drugs: a meta-analysis of randomized clinical trials. *Ophthalmology*. 2005;112(7):1177-85.
118. Aptel F, Chiquet C, Romanet JP. Intraocular pressure-lowering combination therapies with prostaglandin analogues. *Drugs*. 2012;72(10):1355-71.
119. Whitson JT. Glaucoma: a review of adjunctive therapy and new management strategies. *Expert Opin Pharmacother*. 2007;8(18):3237-49.
120. Lohse MJ. *Ophthalmika*. *Arzneiverordnungs-Report 2019*: Springer; 2019. p. 877-902.
121. Ravinet E, Mermoud A, Brignoli R. Four Years Later: A Clinical Update on Latanoprost. *European Journal of Ophthalmology*. 2003;13(2):162-75.
122. Perry CM, McGavin JK, Culy CR, Ibbotson T. Latanoprost. *Drugs & Aging*. 2003;20(8):597-630.
123. Herkel U, Pfeiffer N. Innovative Glaukomtherapie Glaukomtherapie mit lokalen Karboanhydrasehemmern. *Der Ophthalmologe*. 2001;98(10):929-33.
124. Cvetkovic RS, Perry CM. Brinzolamide : a review of its use in the management of primary open-angle glaucoma and ocular hypertension. *Drugs Aging*. 2003;20(12):919-47.

125. Glandorf K, Lommatzsch C, Heinz C, Koch JM. Trabekulektomie mit Ologen®-Implantat und Bevacizumab. *Der Ophthalmologe*. 2020;117(5):445-51.
126. Chankiewitz E, Winter I, Stuhlträger U. Trabekulektomie—eine angenommene Herausforderung. *Klinische Monatsblätter für Augenheilkunde*. 2013;230(S 01):V12.
127. Gareis O, Wagner P, Lang G. Ergebnisse nach kombinierter Phakoemulsifikation und Trabekulektomie über Tunnelschnitt und alleiniger Goniotripanation. *Klinische Monatsblätter für Augenheilkunde*. 1997;211(12):359-62.
128. Matlach J, Klink T. Trabekulektomie versus Kanaloplastik. *Der Ophthalmologe*. 2015;112(4):325-31.
129. Corts MJDH-Z. Ziliarkörper und Schlemm-Kanal. 2018;13(01):53-.
130. Siewert S. Mikrostroms zur Glaukomtherapie: Entwicklungsbeiträge zur Biomechanik biofunktionalisierter Drainageimplantate: Universität Rostock. Fakultät für Maschinenbau und Schiffstechnik; 2015.
131. Göbel K, Rüfer F, Erb C. Physiologie der Kammerwasserproduktion sowie der Tagesdruckschwankungen und deren Bedeutung für das Glaukom. *Klinische Monatsblätter für Augenheilkunde*. 2011;228(02):104-8.
132. Saccà SC, Pascotto A, Camicione P, Capris P, Izzotti A. Oxidative DNA damage in the human trabecular meshwork: clinical correlation in patients with primary open-angle glaucoma. *Archives of Ophthalmology*. 2005;123(4):458-63.
133. Stamer W, Hoffman E, Luther J, Hachey D, Schey K. Protein profile of exosomes from trabecular meshwork cells. *Journal of proteomics*. 2011;74(6):796-804.
134. Meuer P. Spektroskopische Untersuchungen an Kammerwasser: in vitro und in vivo: Verlag nicht ermittelbar; 2002.
135. Streilein JW. Ocular immune privilege: therapeutic opportunities from an experiment of nature. *Nature Reviews Immunology*. 2003;3(11):879-89.
136. Grisanti S. Das Immunprivileg des Auges. *Der Ophthalmologe*. 1998;95(2):124-35.
137. Pleyer U, Pohlmann D. Anatomie und Immunologie des Auges. *Zeitschrift für Rheumatologie*. 2017;76(8):656-63.
138. Taylor AW. Ocular immunosuppressive microenvironment. *Immune Response and the Eye*. 2007;92:71-85.
139. Mochizuki M, Sugita S, Ishikawa N, Watanabe T. Immunoregulation by aqueous humor. *Cornea*. 2000;19(3):S24-S5.
140. Boehm N, Wolters D, Thiel U, Lossbrand U, Wiegel N, Pfeiffer N, et al. New insights into autoantibody profiles from immune privileged sites in the eye: a glaucoma study. *Brain Behav Immun*. 2012;26(1):96-102.
141. Keino H, Horie S, Sugita S. Immune Privilege and Eye-Derived T-Regulatory Cells. *J Immunol Res*. 2018;2018:1679197.
142. Schütt C, Bröker B. *Grundwissen Immunologie: Spektrum Akademischer Verlag*; 2011.
143. Roth E, Schober-Halper B, Wessner B. Immunsystem. In: Bachl N, Löllgen H, Tschan H, Wackerhage H, Wessner B, editors. *Molekulare Sport- und Leistungsphysiologie: Molekulare, zellbiologische und genetische Aspekte der körperlichen Leistungsfähigkeit*. Vienna: Springer Vienna; 2018. p. 265-88. 10.1007/978-3-7091-1591-6_10.
144. Gulbins E, Lang KS. Immunsystem. In: Brandes R, Lang F, Schmidt RF, editors. *Physiologie des Menschen: mit Pathophysiologie*. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg; 2019. p. 312-23.
145. Offermanns S. Zytokine. *Pharmakologie & Toxikologie: Von den molekularen Grundlagen zur Pharmakotherapie*. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg; 2012. p. 157-63.

146. Kaufmann SHE, Blasczyk R. Haupthistokompatibilitätskomplex. In: Suerbaum S, Burchard G-D, Kaufmann SHE, Schulz TF, editors. Medizinische Mikrobiologie und Infektiologie. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg; 2020. p. 101-4.
147. Groffik C. Das Immunsystem. Impfen Eine Entscheidungshilfe für Eltern. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg; 2020. p. 9-23.
148. Heller A, Koch T. Das Komplementsystem: Alter Hut oder Ziel neuer Therapieansätze? AINS-Anästhesiologie· Intensivmedizin· Notfallmedizin· Schmerztherapie. 2000;35(04):207-13.
149. Kaufmann SH. Antikörper und ihre Antigene. Medizinische Mikrobiologie und Infektiologie: Springer; 2009. p. 48-62.
150. Stroehmann I. Grundlagen des humoralen und des zellulären Immunsystems. Immunologie in Anaesthesie und Intensivmedizin: Springer; 1983. p. 1-7.
151. Wieczorek M, Abualrous ET, Sticht J, Álvaro-Benito M, Stolzenberg S, Noé F, et al. Major Histocompatibility Complex (MHC) Class I and MHC Class II Proteins: Conformational Plasticity in Antigen Presentation. *Frontiers in Immunology*. 2017;8(292).
152. Gemsa D, Kalden JR, Resch K. Immunologie. 4. Auflage ed. New York Georg Thieme Verlag 1997. p. 15-28.
153. Fecher P. Untersuchung der Fähigkeit von B-Zellen zur Antikörperproduktion nach Kryokonservierung: Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg (FAU); 2021.
154. von Sengbusch P. Antikörper: Struktur, Funktion und Evolution: Suppression von Allotypen Mehrere Gene—ein Protein (Polypeptid). *Molekular-und Zellbiologie*: Springer; 1979. p. 195-206.
155. Kamradt T, Ferrari-Kühne K. Das adaptive Immunsystem. *DMW-Deutsche Medizinische Wochenschrift*. 2011;136(33):1678-83.
156. Schroeder Jr HW, Cavacini L. Structure and function of immunoglobulins. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 2010;125(2):S41-S52.
157. Kaufmann SHE. Antikörper und ihre Antigene. In: Suerbaum S, Burchard G-D, Kaufmann SHE, Schulz TF, editors. Medizinische Mikrobiologie und Infektiologie. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg; 2016. p. 49-61.
158. Schnitzler S. Antigen-Antikörper-Reaktion, Antigen-Antikörper-Komplexe. *Pharmakologische Aspekte von Immunreaktionen*: Springer; 1979. p. 56-65.
159. Renz H, Gierten B. Immunglobulin G. In: Gressner AM, Arndt T, editors. *Lexikon der Medizinischen Laboratoriumsdiagnostik*. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg; 2019. p. 1214-5.
160. Stöcker W. Autoimmunität. In: Gressner AM, Arndt T, editors. *Lexikon der Medizinischen Laboratoriumsdiagnostik*. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg; 2019. p. 385-7.
161. Friedrich A. Multiple Sklerose verstehen. *Heilberufe*. 2021;73(10):22-5.
162. Caturegli P, De Remigis A, Rose NR. Hashimoto thyroiditis: clinical and diagnostic criteria. *Autoimmun Rev*. 2014;13(4-5):391-7.
163. Suleiman S, Kamaliah D, Nadeem A, Naing NN, Che Maraina CH. Anti-nucleosome antibodies as a disease activity marker in patients with systemic lupus erythematosus. *Int J Rheum Dis*. 2009;12(2):100-6.
164. De Virgilio A, Greco A, Fabbrini G, Inghilleri M, Rizzo MI, Gallo A, et al. Parkinson's disease: autoimmunity and neuroinflammation. *Autoimmunity reviews*. 2016;15(10):1005-11.
165. Wu J, Li L. Autoantibodies in Alzheimer's disease: potential biomarkers, pathogenic roles, and therapeutic implications. *Journal of biomedical research*. 2016;30(5):361.

166. Scofield RH. Autoantibodies as predictors of disease. *The Lancet*. 2004;363(9420):1544-6.
167. Dannecker G, Wagner N. Definition und Pathogenese der Autoimmunkrankheiten. *Pädiatrie: Springer*; 2007. p. 660-2.
168. Stöcker W, Schlumberger W. Mimikry, molekulares. *Lexikon der Medizinischen Laboratoriumsdiagnostik: Springer*; 2019. p. 1660-1.
169. Oldstone MB. Molecular mimicry and immune-mediated diseases. *The FASEB Journal*. 1998;12(13):1255-65.
170. Kohler H, Bayry J, Nicoletti A, Kaveri SV. Natural Autoantibodies as Tools to Predict the Outcome of Immune Response? *Scandinavian Journal of Immunology*. 2003;58(3):285-9.
171. Poletaev A, Osipenko L. General network of natural autoantibodies as immunological homunculus (Immunculus). *Autoimmunity Reviews*. 2003;2(5):264-71.
172. Tsai T, Reinehr S, Maliha AM, Joachim SC. Immune mediated degeneration and possible protection in glaucoma. *Frontiers in neuroscience*. 2019;13:931.
173. Bell K, Gramlich OW, Hohenstein-Blaul NVTU, Beck S, Funke S, Wilding C, et al. Does autoimmunity play a part in the pathogenesis of glaucoma? *Progress in retinal and eye research*. 2013;36:199-216.
174. Yang J, Tezel G, Patil RV, Romano C, Wax MB. Serum autoantibody against glutathione S-transferase in patients with glaucoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2001;42(6):1273-6.
175. von Thun und Hohenstein-Blaul N, Kunst S, Pfeiffer N, Grus FH. Biochemische Grundlagenprozesse im Verlauf der Glaukomerkrankung. *Der Ophthalmologe*. 2015;112(5):395-401.
176. Wax MB, Barrett DA, Pestronk A. Increased incidence of paraproteinemia and autoantibodies in patients with normal-pressure glaucoma. *American journal of ophthalmology*. 1994;117(5):561-8.
177. Wax MB, Tezel G, Edward PD. Clinical and Ocular Histopathological Findings in a Patient With Normal-Pressure Glaucoma. *Archives of Ophthalmology*. 1998;116(8):993-1001.
178. Tezel G, Edward DP, Wax MB. Serum autoantibodies to optic nerve head glycosaminoglycans in patients with glaucoma. *Archives of Ophthalmology*. 1999;117(7):917-24.
179. Tezel G, Seigel GM, Wax MB. Autoantibodies to small heat shock proteins in glaucoma. *Investigative ophthalmology & visual science*. 1998;39(12):2277-87.
180. Tiller T, Tsuiji M, Yurasov S, Velinzon K, Nussenzweig MC, Wardemann H. Autoreactivity in human IgG+ memory B cells. *Immunity*. 2007;26(2):205-13.
181. Grönwall C, Silverman GJ. Natural IgM: beneficial autoantibodies for the control of inflammatory and autoimmune disease. *Journal of clinical immunology*. 2014;34(1):12-21.
182. Shoenfeld Y, Toubi E. Protective autoantibodies: role in homeostasis, clinical importance, and therapeutic potential. *Arthritis & Rheumatism*. 2005;52(9):2599-606.
183. Lorenz K, Beck S, Keilani MM, Wasielica-Poslednik J, Pfeiffer N, Grus FH. Course of serum autoantibodies in patients after acute angle-closure glaucoma attack. *Clinical & experimental ophthalmology*. 2017;45(3):280-7.
184. Tezel G, Wax MB. The mechanisms of hsp27 antibody-mediated apoptosis in retinal neuronal cells. *J Neurosci*. 2000;20(10):3552-62.
185. Wax MB, Tezel G, Yang J, Peng G, Patil RV, Agarwal N, et al. Induced autoimmunity to heat shock proteins elicits glaucomatous loss of retinal ganglion cell neurons via activated T-cell-derived fas-ligand. *J Neurosci*. 2008;28(46):12085-96.

186. Maruyama I, Maeda T, Okisaka S, Mizukawa A, Nakazawa M, Ohguro H. Autoantibody against neuron-specific enolase found in glaucoma patients causes retinal dysfunction in vivo. *Jpn J Ophthalmol*. 2002;46(1):1-12.
187. Bell K, Wilding C, Funke S, Pfeiffer N, Grus FH. Protective effect of 14-3-3 antibodies on stressed neuroretinal cells via the mitochondrial apoptosis pathway. *BMC ophthalmology*. 2015;15(1):1-13.
188. Teister J, Anders F, Beck S, Funke S, von Pein H, Prokosch V, et al. Decelerated neurodegeneration after intravitreal injection of α -synuclein antibodies in a glaucoma animal model. *Scientific Reports*. 2017;7(1):6260.
189. Joachim SC, Grus FH, Kraft D, White-Farrar K, Barnes G, Barbeck M, et al. Complex antibody profile changes in an experimental autoimmune glaucoma animal model. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2009;50(10):4734-42.
190. Joachim SC, Reinehr S, Kuehn S, Laspas P, Gramlich OW, Kuehn M, et al. Immune response against ocular tissues after immunization with optic nerve antigens in a model of autoimmune glaucoma. *Mol Vis*. 2013;19:1804-14.
191. Tsai T, Grotegut P, Reinehr S, Joachim SC. Role of Heat Shock Proteins in Glaucoma. *Int J Mol Sci*. 2019;20(20).
192. Bell K, Und Hohenstein-Blaul NVT, Teister J, Grus F. Modulation of the Immune System for the Treatment of Glaucoma. *Curr Neuropharmacol*. 2018;16(7):942-58.
193. Soto I, Howell GR. The complex role of neuroinflammation in glaucoma. *Cold Spring Harb Perspect Med*. 2014;4(8).
194. Bosco A, Steele MR, Vetter ML. Early microglia activation in a mouse model of chronic glaucoma. *J Comp Neurol*. 2011;519(4):599-620.
195. Yadav S, Kashaninejad N, Masud MK, Yamauchi Y, Nguyen NT, Shiddiky MJA. Autoantibodies as diagnostic and prognostic cancer biomarker: Detection techniques and approaches. *Biosens Bioelectron*. 2019;139:111315.
196. DeMarshall CA, Han M, Nagele EP, Sarkar A, Acharya NK, Godsey G, et al. Potential utility of autoantibodies as blood-based biomarkers for early detection and diagnosis of Parkinson's disease. *Immunol Lett*. 2015;168(1):80-8.
197. DeMarshall CA, Nagele EP, Sarkar A, Acharya NK, Godsey G, Goldwasser EL, et al. Detection of Alzheimer's disease at mild cognitive impairment and disease progression using autoantibodies as blood-based biomarkers. *Alzheimers Dement (Amst)*. 2016;3:51-62.
198. Olson NE. The microarray data analysis process: From raw data to biological significance. *NeuroRX*. 2006;3(3):373-83.
199. Angenendt P. Progress in protein and antibody microarray technology. *Drug Discov Today*. 2005;10(7):503-11.
200. Flammer J, Mozaffarieh M. What is the present pathogenetic concept of glaucomatous optic neuropathy? *Surv Ophthalmol*. 2007;52 Suppl 2:S162-73.
201. Rieck J. The Pathogenesis of Glaucoma in the Interplay with the Immune System. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*. 2013;54(3):2393-409.
202. Pradhan V, Patwardhan M, Ghosh K. Anti-nucleosome antibodies as a disease marker in systemic lupus erythematosus and its correlation with disease activity and other autoantibodies. *Indian Journal of Dermatology, Venereology and Leprology*. 2010;76(2):145.
203. Zaenker P, Gray ES, Ziman MR. Autoantibody production in cancer—the humoral immune response toward autologous antigens in cancer patients. *Autoimmunity reviews*. 2016;15(5):477-83.
204. Schlötzer-Schrehardt U. Genetics and genomics of pseudoexfoliation syndrome/glaucoma. *Middle East Afr J Ophthalmol*. 2011;18(1):30-6.

205. Huber PA. Caldesmon. *Int J Biochem Cell Biol.* 1997;29(8-9):1047-51.
206. Matsumura F, Yamashiro S. Caldesmon. *Curr Opin Cell Biol.* 1993;5(1):70-6.
207. Beutgen VM, Perumal N, Pfeiffer N, Grus FH. Autoantibody Biomarker Discovery in Primary Open Angle Glaucoma Using Serological Proteome Analysis (SERPA). *Frontiers in Immunology.* 2019;10(381).
208. Yang Y-F, Sun YY, Acott TS, Keller KE. Effects of induction and inhibition of matrix cross-linking on remodeling of the aqueous outflow resistance by ocular trabecular meshwork cells. *Scientific reports.* 2016;6(1):1-10.
209. Gabelt BT, Hu Y, Vittitow JL, Rasmussen CR, Grosheva I, Bershinsky AD, et al. Caldesmon transgene expression disrupts focal adhesions in HTM cells and increases outflow facility in organ-cultured human and monkey anterior segments. *Exp Eye Res.* 2006;82(6):935-44.
210. Grosheva I, Vittitow JL, Goichberg P, Gabelt BT, Kaufman PL, Borrás T, et al. Caldesmon effects on the actin cytoskeleton and cell adhesion in cultured HTM cells. *Exp Eye Res.* 2006;82(6):945-58.
211. Paulavičiūtė-Baikštienė D, Baršauskaitė R, Janulevičienė I. New insights into pathophysiological mechanisms regulating conventional aqueous humor outflow. *Medicina (Kaunas).* 2013;49(4):165-9.
212. Quax-Jeuken Y, Driessen H, Leunissen J, Quax W, de Jong W, Bloemendal H. beta s-Crystallin: structure and evolution of a distinct member of the beta gamma-superfamily. *The EMBO journal.* 1985;4(10):2597-602.
213. RübSam A, Dulle JE, Garnai SJ, Pawar HS, Fort PE. A Triple Mutation of BetaB2-Crystallin is Necessary to Develop Cataract and Glaucoma. *J Clin Exp Ophthalmol.* 2017;8(5).
214. Piri N, Kwong JM, Caprioli J. CRYSTALLINS IN RETINAL GANGLION CELL SURVIVAL AND REGENERATION. *Molecular neurobiology.* 2013;48(3).
215. Dulle JE, RübSam A, Garnai SJ, Pawar HS, Fort PE. BetaB2-crystallin mutations associated with cataract and glaucoma leads to mitochondrial alterations in lens epithelial cells and retinal neurons. *Exp Eye Res.* 2017;155:85-90.
216. Andley UP. Effects of alpha-crystallin on lens cell function and cataract pathology. *Curr Mol Med.* 2009;9(7):887-92.
217. Lubsen N, Aarts H, Schoenmakers J. The evolution of lenticular proteins: the β - and γ -crystallin super gene family. *Progress in biophysics and molecular biology.* 1988;51(1):47-76.
218. Seccia M, Brossa O, Gravela E, Slater TF, Cheeseman KH. Exposure of beta L-crystallin to oxidizing free radicals enhances its susceptibility to transglutaminase activity. *Biochem J.* 1991;274 (Pt 3)(Pt 3):869-73.
219. Wilhelmsson U, Pozo-Rodrigalvarez A, Kalm M, de Pablo Y, Widestrand Å, Pekna M, et al. The role of GFAP and vimentin in learning and memory. *Biol Chem.* 2019;400(9):1147-56.
220. Middeldorp J, Hol EM. GFAP in health and disease. *Prog Neurobiol.* 2011;93(3):421-43.
221. Brenner M. Role of GFAP in CNS injuries. *Neurosci Lett.* 2014;565:7-13.
222. Renner M, Stute G, Alzureiqi M, Reinhard J, Wiemann S, Schmid H, et al. Optic Nerve Degeneration after Retinal Ischemia/Reperfusion in a Rodent Model. *Front Cell Neurosci.* 2017;11:254.
223. Abdelhak A, Huss A, Kassubek J, Tumani H, Otto M. Serum GFAP as a biomarker for disease severity in multiple sclerosis. *Sci Rep.* 2018;8(1):14798.
224. Kassubek R, Gorges M, Schocke M, Hagenston VAM, Huss A, Ludolph AC, et al. GFAP in early multiple sclerosis: A biomarker for inflammation. *Neurosci Lett.* 2017;657:166-70.

225. Kamphuis W, Kooijman L, Orre M, Stassen O, Pekny M, Hol EM. GFAP and vimentin deficiency alters gene expression in astrocytes and microglia in wild-type mice and changes the transcriptional response of reactive glia in mouse model for Alzheimer's disease. *Glia*. 2015;63(6):1036-56.
226. Shan F, Long Y, Qiu W. Autoimmune Glial Fibrillary Acidic Protein Astrocytopathy: A Review of the Literature. *Front Immunol*. 2018;9:2802.
227. Yu P, Agbaegbu C, Malide DA, Wu X, Katagiri Y, Hammer JA, et al. Cooperative interactions of LPPR family members in membrane localization and alteration of cellular morphology. *J Cell Sci*. 2015;128(17):3210-22.
228. Strauss U, Bräuer AU. Current views on regulation and function of plasticity-related genes (PRGs/LPPRs) in the brain. *Biochim Biophys Acta*. 2013;1831(1):133-8.
229. Milbeck SM, Bhattacharya SK. Alteration in Lysophospholipids and Converting Enzymes in Glaucomatous Optic Nerves. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2020;61(6):60.
230. Tian B, Gabelt BT, Geiger B, Kaufman PL. The role of the actomyosin system in regulating trabecular fluid outflow. *Exp Eye Res*. 2009;88(4):713-7.
231. Osborne N, Block F, Sontag K-H. Reduction of ocular blood flow results in glial fibrillary acidic protein (GFAP) expression in rat retinal Müller cells. *Visual neuroscience*. 1991;7(6):637-9.
232. Chen H, Weber AJ. Expression of glial fibrillary acidic protein and glutamine synthetase by müller cells after optic nerve damage and intravitreal application of brain-derived neurotrophic factor. *Glia*. 2002;38(2):115-25.
233. Abd-el-Basset EM, Ahmed I, Fedoroff S. Actin and actin-binding proteins in differentiating astroglia in tissue culture. *Journal of neuroscience research*. 1991;30(1):1-17.
234. Tezel GIn, Chauhan BC, LeBlanc RP, Wax MB. Immunohistochemical assessment of the glial mitogen-activated protein kinase activation in glaucoma. *Investigative ophthalmology & visual science*. 2003;44(7):3025-33.
235. Poletaev A, Morozov S, Gnedenko B, Zlunikin V, Korzhenevsky D. Serum anti-S100b, anti-GFAP and anti-NGF autoantibodies of IgG class in healthy persons and patients with mental and neurological disorders. *Autoimmunity*. 2000;32(1):33-8.
236. Chou TH, Musada GR, Romano GL, Bolton E, Porciatti V. Anesthetic Preconditioning as Endogenous Neuroprotection in Glaucoma. *Int J Mol Sci*. 2018;19(1).
237. Von Thun Und Hohenstein-Blaul N, Kunst S, Pfeiffer N, Grus FH. Biomarkers for glaucoma: from the lab to the clinic. *Eye (Lond)*. 2017;31(2):225-31.
238. Wilding C, Bell K, Funke S, Beck S, Pfeiffer N, Grus FH. GFAP antibodies show protective effect on oxidatively stressed neuroretinal cells via interaction with ERP57. *J Pharmacol Sci*. 2015;127(3):298-304.
239. Fan Z, Chen D, Ge J. [Experimental modulation of optic nerve regeneration by reducing inhibitory effects of reactive astrocytes]. *Yan Ke Xue Bao*. 2005;21(4):170-2.
240. Can N, Catak O, Turgut B, Demir T, Ilhan N, Kuloglu T, et al. Neuroprotective and antioxidant effects of ghrelin in an experimental glaucoma model. *Drug Des Devel Ther*. 2015;9:2819-29.
241. McGee AM, Douglas DL, Liang Y, Hyder SM, Baines CP. The mitochondrial protein C1qbp promotes cell proliferation, migration and resistance to cell death. *Cell Cycle*. 2011;10(23):4119-27.
242. Stasi K, Nagel D, Yang X, Wang R-F, Ren L, Podos SM, et al. Complement component 1Q (C1Q) upregulation in retina of murine, primate, and human glaucomatous eyes. *Investigative ophthalmology & visual science*. 2006;47(3):1024-9.

243. Zenkel M, Kruse FE, Jünemann AG, Naumann GOH, Schlötzer-Schrehardt U. Clusterin Deficiency in Eyes with Pseudoexfoliation Syndrome May Be Implicated in the Aggregation and Deposition of Pseudoexfoliative Material. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*. 2006;47(5):1982-90.
244. Shmerling RH. Autoantibodies in systemic lupus erythematosus—there before you know it. *New England Journal of Medicine*. 2003;349(16):1499-500.
245. Berger T, Rubner P, Schautzer F, Egg R, Ulmer H, Mayringer I, et al. Antimyelin antibodies as a predictor of clinically definite multiple sclerosis after a first demyelinating event. *New England Journal of Medicine*. 2003;349(2):139-45.
246. Challa AA, Stefanovic B. A novel role of vimentin filaments: binding and stabilization of collagen mRNAs. *Mol Cell Biol*. 2011;31(18):3773-89.
247. Ramos I, Stamatakis K, Oeste CL, Pérez-Sala D. Vimentin as a Multifaceted Player and Potential Therapeutic Target in Viral Infections. *Int J Mol Sci*. 2020;21(13).
248. Harre U, Georgess D, Bang H, Bozec A, Axmann R, Ossipova E, et al. Induction of osteoclastogenesis and bone loss by human autoantibodies against citrullinated vimentin. *J Clin Invest*. 2012;122(5):1791-802.
249. Divanyan T, Acosta E, Patel D, Constantino D, Lopez-Soler RI. Anti-vimentin antibodies in transplant and disease. *Hum Immunol*. 2019;80(8):602-7.
250. Bargagna-Mohan P, Deokule SP, Thompson K, Wizeman J, Srinivasan C, Vooturi S, et al. Withaferin A effectively targets soluble vimentin in the glaucoma filtration surgical model of fibrosis. *PLoS One*. 2013;8(5):e63881.
251. Mustafa MZ, Nguyen VH, Le Naour F, De Martin E, Beleoken E, Guettier C, et al. Autoantibody signatures defined by serological proteome analysis in sera from patients with cholangiocarcinoma. *J Transl Med*. 2016;14:17.
252. Abu-Amero KK, Morales J, Mohamed GH, Osman MN, Bosley TM. Glutathione S-transferase M1 and T1 polymorphisms in Arab glaucoma patients. *Mol Vis*. 2008;14:425-30.
253. Bagnis A, Izzotti A, Centofanti M, Sacca S. Aqueous humor oxidative stress proteomic levels in primary open angle glaucoma. *Experimental eye research*. 2012;103:55-62.
254. Yu Y, Weng Y, Guo J, Chen G, Yao K. Association of glutathione S transferases polymorphisms with glaucoma: a meta-analysis. *PloS one*. 2013;8(1):e54037.
255. Su F, Hu X, Jia W, Gong C, Song E, Hamar P. Glutathion S Transferase π indicates chemotherapy resistance in breast cancer. *Journal of Surgical Research*. 2003;113(1):102-8.
256. Konieczka K, Fränkl S. Primäre vaskuläre Dysregulation und Glaukom. Basel, Bern. 2013, 34: 207–215.
257. Faschinger C, Schmut O, Wachswender C, Mossböck G. Glaukom und oxidativer Stress. *Der Ophthalmologe*. 2006;103(11):953-9.
258. Oshida E, Matsumoto Y, Arai K. Free radicals in the aqueous humor of patients with glaucoma. *Clin Ophthalmol*. 2010;4:653-60.
259. Ferreira SM, Lerner SF, Brunzini R, Evelson PA, Llesuy SF. Antioxidant status in the aqueous humour of patients with glaucoma associated with exfoliation syndrome. *Eye*. 2009;23(8):1691-7.
260. Matunis MJ, Xing J, Dreyfuss G. The hnRNP F protein: unique primary structure, nucleic acid-binding properties, and subcellular localization. *Nucleic Acids Res*. 1994;22(6):1059-67.
261. Dominguez C, Fiset JF, Chabot B, Allain FH. Structural basis of G-tract recognition and encaging by hnRNP F quasi-RRMs. *Nat Struct Mol Biol*. 2010;17(7):853-61.
262. Min H, Chan RC, Black DL. The generally expressed hnRNP F is involved in a neural-specific pre-mRNA splicing event. *Genes & development*. 1995;9(21):2659-71.

263. Black DL. Mechanisms of alternative pre-messenger RNA splicing. *Annual review of biochemistry*. 2003;72(1):291-336.
264. Lo C-S, Shi Y, Chenier I, Ghosh A, Wu C-H, Cailhier J-F, et al. Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein F stimulates sirtuin-1 gene expression and attenuates nephropathy progression in diabetic mice. *Diabetes*. 2017;66(7):1964-78.
265. Li F, Su M, Zhao H, Xie W, Cao S, Xu Y, et al. HnRNP-F promotes cell proliferation by regulating TPX2 in bladder cancer. *American Journal of Translational Research*. 2019;11(11):7035.
266. Clinton A, McMullin MF. The Calreticulin gene and myeloproliferative neoplasms. *J Clin Pathol*. 2016;69(10):841-5.
267. Krause K-H, Michalak M. Calreticulin. *Cell*. 1997;88(4):439-43.
268. Michalak M, CORBETT EF, MESAELI N, NAKAMURA K, OPAS M. Calreticulin: one protein, one gene, many functions. *Biochemical Journal*. 1999;344(2):281-92.
269. Coe H, Michalak M. Calcium binding chaperones of the endoplasmic reticulum. *Gen Physiol Biophys*. 2009;28(Spec No Focus):F96-F103.
270. Mattson MP, Magnus T. Ageing and neuronal vulnerability. *Nat Rev Neurosci*. 2006;7(4):278-94.
271. Gould DB, Reedy M, Wilson LA, Smith RS, Johnson RL, John SW. Mutant myocilin nonsecretion in vivo is not sufficient to cause glaucoma. *Mol Cell Biol*. 2006;26(22):8427-36.
272. Lorenz K, Beck S, Keilani MM, Wasielica-Poslednik J, Pfeiffer N, Grus FH. Longitudinal Analysis of Serum Autoantibody-Reactivities in Patients with Primary Open Angle Glaucoma and Optic Disc Hemorrhage. *PLoS One*. 2016;11(12):e0166813.
273. Coppelino MG, Dedhar S. Calreticulin. *The international journal of biochemistry & cell biology*. 1998;30(5):553-8.
274. Alur M, Nguyen MM, Eggener SE, Jiang F, Dadras SS, Stern J, et al. Suppressive roles of calreticulin in prostate cancer growth and metastasis. *The American journal of pathology*. 2009;175(2):882-90.
275. Young A, editor *Structural insights into the clathrin coat*. *Seminars in cell & developmental biology*; 2007: Elsevier.
276. Hemalatha A, Mayor S. Recent advances in clathrin-independent endocytosis. *F1000Res*. 2019;8.
277. Mousavi SA, Malerød L, Berg T, Kjekken R. Clathrin-dependent endocytosis. *Biochem J*. 2004;377(Pt 1):1-16.
278. Biancospino M, Buel GR, Niño CA, Maspero E, Scotto di Perrotolo R, Raimondi A, et al. Clathrin light chain A drives selective myosin VI recruitment to clathrin-coated pits under membrane tension. *Nat Commun*. 2019;10(1):4974.
279. Hirst J, Robinson MS. Clathrin and adaptors. *Biochim Biophys Acta*. 1998;1404(1-2):173-93.
280. Janssen SF, Gorgels TG, van der Spek PJ, Jansonius NM, Bergen AA. In silico analysis of the molecular machinery underlying aqueous humor production: potential implications for glaucoma. *J Clin Bioinforma*. 2013;3(1):21.
281. Michael I, Shmoish M, Walton DS, Levenberg S. Interactions between trabecular meshwork cells and lens epithelial cells: a possible mechanism in infantile aphakic glaucoma. *Investigative ophthalmology & visual science*. 2008;49(9):3981-7.

8 Anhang

Tabelle 16: Auflistung der für die Herstellung der Protein-Microarrays verwendeten Antigene (vergl. 3.2.)

Abkürzung	Artikel	Hersteller
HSPD1	heat shock protein 60kDa (HSP60) human, recombinant	Enzo LifeSciences
NTF3	Neurotrophin 3 Protein	Biomol
GST	Glutathion S transferase (GST) full-length ORF	Abnova
VIM	Vimentin, human	ProGen
CLTA	Clathrin A, B, C	Sigma Aldrich
SPTA1	Spectrin, alpha	Sigma-Aldrich
ADRB2	Beta - 2 - Adrenergic Receptor	Sigma-Aldrich
b-S-Crys	Beta - S - Crystallin	Sigma-Aldrich
HSPA1A	Heat shock protein 70, HSP70	Sigma-Aldrich
ANXA5	Annexin V	Sigma-Aldrich
SNCG	Gamma - Synuclein	Sigma-Aldrich
VDAC2	Recombinant human voltage dependent anion channel protein 2 (VDAC2)	Abcam
CALD1	Recombinant human Caldesmon	Abcam
TOP1	Topoisomerase 1 human	Sigma
GAPDH	Glyceraldehyde - 3 - phosphate dehydrogenase	Abcam
14-3-3 a/b	Recombinant Human 14-3-3 beta protein	Abcam
IQGAP	Ras GTPase-activating-like protein IQGAP1 (611 - 710) protein	Abnova
PNMA2	Human paraneoplastic antigen Ma2 PNMA2 full-length ORF (AAH62301, 1 a.a. - 364 a.a.) recombinant protein	Abnova
MCM7	DNA replication licensing factor MCM7	Abnova
MCTS1	Malignant T-cell-amplified sequence 1	Abnova
C1QBP	Complement component 1 Q subcomponent-binding protein, mitochondrial C1QBP (Human) Recombinant Protein (P01)	Abnova
TARS	Human Threonine--tRNA ligase 1, cytoplasmic TARS full-length ORF (NP_689508.3, 1 a.a. - 723 a.a.) recombinant protein	Abnova
ANP32B	Acidic leucine-rich nuclear phosphoprotein 32 family member B	Abnova
FLNA	Human Filamin A FLNA full-length ORF (AAH14654, 1 a.a. - 838 a.a.) recombinant protein	Abnova
GFAP	Glial fibrillary acidic protein	US biological
TNNI3	Troponin I, cardiac muscle	Abcam
Cyclo A	Cyclophilin A	Sigma-Aldrich
g Syn	Gamma-Synuclein	Sigma-Aldrich
NSE	Neuron - specific enolase	Sigma-Aldrich
LPPR3	Lipid phosphate phosphatase-related protein type 3	Protagen
CLUS	clusterin secretory from human, recombinant His-Tag	Enzo LifeScience
CALR	Calreticulin	Sigma-Aldrich
b-L-Crys	Beta - L - Crystallin	Sigma-Aldrich
SOD	Superoxid dismutase 1	Sigma
ACTN1	Human alpha actinin ACTN1 full-length ORF (NP_001093.1, 1 a.a. - 892 a.a.) recombinant protein	Abnova
COPA	Coatomer subunit alpha	Abnova
HNRNPF	Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein F	Abnova
HSP27	heat shock protein 27kDa HSP27 recombinant, human	Enzo LifeScience
TGFB111	Human Transforming growth factor beta-1-induced transcript 1 protein TGFB111 full-length ORF (AAH32545, 1 a.a. - 444 a.a.) recombinant protein	Abnova
ACT	Actin from bovine muscle	Sigma-Aldrich

9 Danksagung

10 Tabellarischer Lebenslauf