



Af Toke Bek,  
Aarhus Universitetshospital

# Fra dyremodel til patientbehandling ved retinale vaskulære sygdomme

## Baggrund:

Forstyrrelser i nethindens og synsnervens blodforsyning er involveret i patogenesen ved de hyppigste blindhedsforårsagende sygdomme i den vestlige verden, herunder aldersrelateret makuladegeneration, diabetisk retinopati og primært åbenvinklet glaukom. For at kunne udvikle nye behandlingstilbud, samt for at kunne forbedre den eksisterende behandling, er det nødvendigt at få et mere detaljeret kendskab til sygdomsudviklingen ved disse tilstande. Nethindens blodgennemstrømning reguleres af det arterielle fødetryk og af karrenes modstand, som overvejende er betinget af modstandskarrenes diameter. Studier af diameterreguleringen i disse kar in vivo er begrænset af opløseligheden ved billeddannelsen gennem øjets optik, samt af at nethindens blodkar ikke umiddelbart er tilgængelige for undersøgelser in vitro. Studier på bedøvede forsøgsdyr er endvidere begrænset af, at karrenes respons på specifikke interventioner i mange

tilfælde sløres af modregulatoriske fænomener, således at effekten af en given intervention ikke kan uddifferentieres nærmere.

## Strategi:

For at håndtere disse udfordringer er der ved øjenafdelingen på Aarhus Universitetshospital etableret aktiviteter rettet mod:

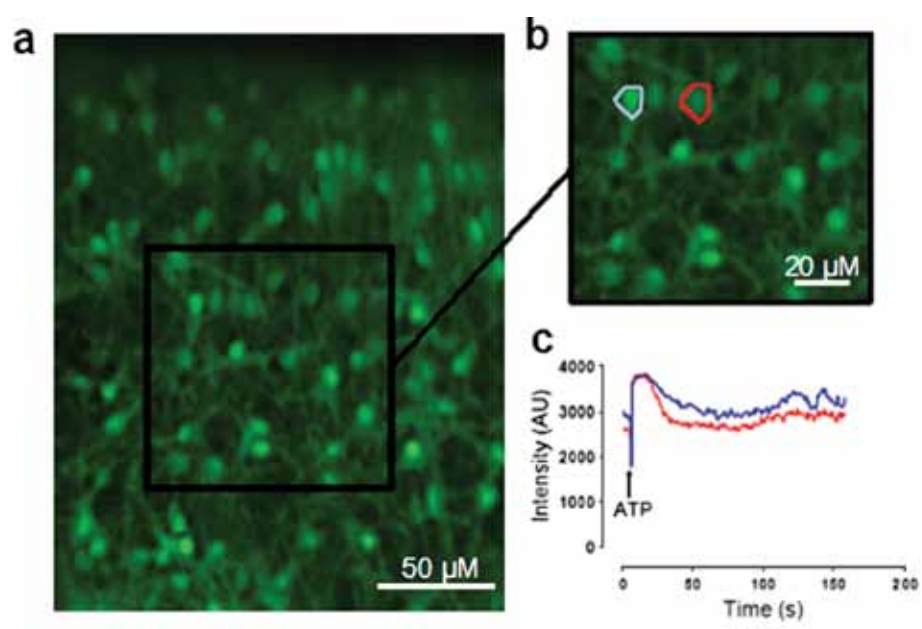
- 1) At udvikle dyremodeller, der gør det muligt at studere de mekanismer, der er involveret i reguleringen af diameter og tonus i nethindens arterioler in vitro.
- 2) At overføre viden opnået på disse dyremodeller til behandlingsmæssig intervention.

Udforskningen af nethindens arterioler under normale forhold foregår på retinale blodkar fra grise, som hentes hver morgen på Danish Crowns slagteri i Horsens og transporteres afkølet til øjenafdelingens laboratorieenhed. Her kan nethindeblodkarrene være monteret in vitro

forsøgsopstilling inden for en time, efter at øjet er fjernet.

For at få adskilt de forskellige elementer, som bidrager til tonusdannelsen i nethindens arterioler, er undersøgelserne startet på den mest simple karmodel, nemlig det isolerede retinale kar. Der er anvendt flere eksperimentelle tilgange. Ved den såkaldte isobarisk tilgang (1), hvor karret kanyleres med glaspipetter, er det muligt at måle ændringer i kardiameteren under kontrollerede ændringer i tryk og flow, mens man ikke kan kontrollere den spænding, der dannes i karvæggen, som i mange tilfælde er afgørende for at kunne gennemføre farmakologiske forsøg. Ved den såkaldte isometriske tilgang udstrækkes karret mellem to tynde wirer, hvilket giver mulighed for at studere ændringer i karvæggenes spænding, men ikke ændringer af karrets diameter og blodgennemstrømningen (2). Dette grundlag er successivt udvidet, ved at modellen er tilføjet flere anatomiske komponenter, der bidrager til dannelsen

**Forkortet Produktresumé Taflotan;** 1 ml øjendråber, opløsning, indeholder 15 mikrogram tafluprost. 1 enkelt-dosisbeholder (0,3 ml) øjendråber, opløsning, indeholder 4,5 mikrogram tafluprost. **Indikationer:** Reduktion af forhøjet intraokulært tryk ved åbenvinklet glaukom og okulær hypertension. Som monoterapi hos patienter: som ville have gavn af øjendråber uden konserveringsmiddel, som ikke responderer tilstrækkeligt på første behandlingsvalg, som er intolerante eller kontraindicerede over for første behandlingsvalg. Som supplerende behandling til betablokkere. Dosering og indgivelsesmåde: Den anbefalede dosis er 1 dråbe Taflotan i konjunktivalsækken i det eller de syge øjne en gang dagligt om aftenen. Dosis bør ikke overskride en dråbe daglig i det/de aktuelle øje/øjne, da en hyppigere administration kan mindske den sænkende virkning på det intraokulære tryk. Kun til engangsbrug. En beholder er tilstrækkelig til behandling af begge øjne. Overskydende opløsning skal kasseres umiddelbart efter brug. Hvis der anvendes mere end et topikalt oftalmisk lægemiddel, skal hvert lægemiddel administreres med mindst 5 minutters mellemrum. **Kontraindikationer:** Overfølsomhed over for tafluprost eller over for et eller flere af hjælpestofferne. **Særlige advarsler og forsigtighedsregler vedrørende brugen:** For behandlingen påbegyndes, skal patienterne informeres om risikoen for vækst af øjenvipperne, farvning af huden på øjenlåget og forøget pigmentering af iris. Nogle af disse ændringer kan være permanente og føre til forskelle i udseendet på øjnene, når kun det ene øje behandles. Ændringen i pigmenteringen af iris sker langsomt og ses måske ikke i flere måneder. Ændringen i øjenfarve er hovedsageligt blevet set hos patienter med blandede irisfarver, f.eks. blåbrun, gråbrun, gulbrun og grøn-brun. Risikoen for livslang heterokromi i øjnene i unilaterale tilfælde er oplagt. Der er ingen erfaring med tafluprost i neovaskulær, snærvinklet eller kongenit glaukom. Der er kun begrænset erfaring med tafluprost hos afakiske patienter og ved pigmentglaukom eller pseudoeksfoliativt glaukom. Det anbefales at udvise forsigtighed ved brug af tafluprost hos afakiske patienter, pseudofakiske patienter med bristet bagerste lensekapsel eller forreste øjnlinsen eller hos patienter med kendte risikofaktorer for cystoidt makulært ødem eller iritis/uveitis. Der er ingen erfaring hos patienter med alvorlig astma. Disse patienter skal derfor behandles med forsigtighed. **Graviditet og amning:** Taflotan må ikke anvendes af kvinder i den fødedygtige alder, medmindre der er truffet tilstrækkelige forholdsregler mht. prævention. Der foreligger ikke tilstrækkelig data om brugen af tafluprost hos gravide kvinder. Tafluprost kan have skadelige farmakologiske virkninger for graviditeten og/eller fostret/den nyfødte. Det vides ikke, om tafluprost udskilles i modermælken. Derfor må tafluprost ikke anvendes under amning. **Bivirkninger:** I kliniske forsøg er over 1.200 patienter blevet behandlet med tafluprost enten som monoterapi eller som supplerende terapi til timolol 0,5 %. Den hyppigst indberettede behandlingsrelaterede bivirkning var okulær hyperæmi. Den forekom hos ca. 13 % af patienterne, der deltog i de kliniske forsøg med tafluprost i Europa og USA. Den var mild i de fleste tilfælde og førte til, at gennemsnitligt 0,4 % af patienterne, der deltog i de pivotale studier, ophørte med brugen. Følgende behandlingsrelaterede bivirkninger blev indberettet under kliniske forsøg med tafluprost i Europa og USA efter en maksimal opfølgning på 12 måneder: Inden for hver hyppighedsgruppe vises bivirkningerne i faldende rækkefølge. **Øjne:** Meget almindelig ( $\geq 1/10$ ): konjunktival/okulær hyperæmi Almindelig ( $\geq 1/100$  til  $< 1/10$ ): øjenkløe, øjenirritation, øjensmerte, ændringer i øjenvipper (forøget længde, tykkelse og antal af vipper), tørre øjne, misfarvning af øjenvipper, fornemmelse af fremmedlegeme i øjnene, erytem på øjenlåget, sløret syn, forøget tåredannelse, pigmentering på øjenlåget, øjenudfliad, reduceret visuel skarphed, fotofobi, øjenlågsoedem og øget irispigmentering. Ikke almindelig ( $\geq 1/1.000$  til  $< 1/100$ ): overfladisk punktførmig keratitis, astenopi, konjunktival ødem, blefaritis, ubehag i øjnene, flere i det forreste kammer, konjunktivale follikler, allergisk konjunktivitis, celler i det forreste kammer, konjunktival pigmentering og unormal følelse i øjet. **Nervesystemet:** Almindelig ( $\geq 1/100$  til  $< 1/10$ ): hovedpine. **Hud og subkutane væv:** Ikke almindelig ( $\geq 1/1.000$  til  $< 1/100$ ): hypertrikose på øjenlåget. **Overdosering:** Der er ikke rapporteret tilfælde af overdosering. Det er usandsynligt, at der vil forekomme overdosering efter okulær administration. Hvis der forekommer overdosering, bør behandlingen være symptomatisk. **Udlevering:** B. **Tilskud:** ja. **Hjælpestoffer:** Glycerol, natriumdihydrogenfosfatdihydrat, dinatriumedetat, polysorbitat 80, hydrochloridsyre og/eller natriumhydroxid til pHjustering, vand til injektion. **Opbevaringstid:** 2 år. Efter den første åbning af en foliepose: 28 dage. **Særlige opbevaringsforhold:** Opbevares i køleskab (2°C til 8°C). Efter åbning af folieposen: enkelt-dosisbeholderne opbevares i den originale foliepose, må ikke opbevares over 25°C. Åbnet enkelt-dosisbeholder med overskydende opløsning skal kasseres umiddelbart efter brug. **Pakninger og priser ekskl. rec. gebyr:** enkelt-dosisbeholder 30 x 0,3 ml 292,75 DKK og 90 x 0,3 ml 862,60 DKK (sep 08). **Dato for første markedsførings-tilladelse:** 30. april 2008.



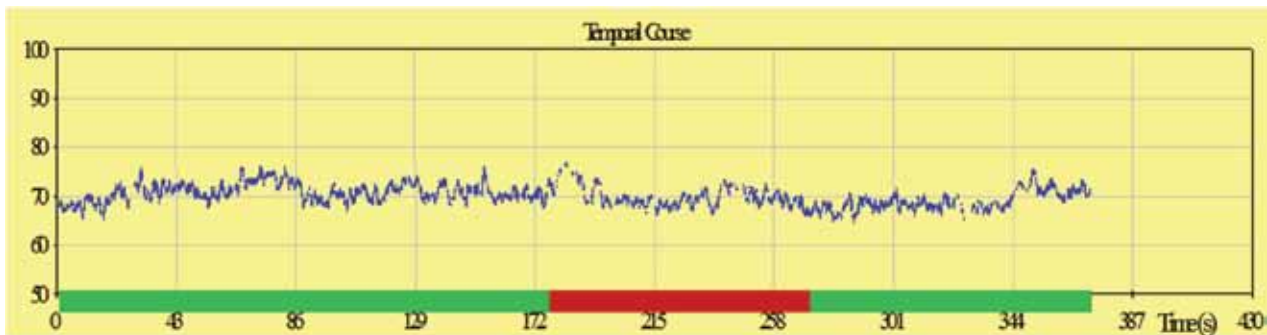
Figur 1. a) Perivaskulære celler loaded med den calcium følsomme fluorofor Oregon Green viser hyperfluorescens umiddelbart efter tilsætning af ATP. b) Udsnit af billede a med markering af to celler. c) Fluorescensudviklingen som funktion af tiden i de to celler markeret i b. (Fremstillet af post. doc. Mikkel Misfeldt).

af kartonus. Den første udvidelse har bestået i at studere ændringer i karrenes kontraktile egenskaber med bevaret nethindevæv omkring. Efter fjernelse af dette væv fra karret er undersøgelserne gentaget, og den forskel, der er observeret før og efter fjernelsen af vævet, antages at skyldes påvirkning fra det fjernede væv (3). Disse undersøgelser er suppleret med konfokalmikroskopiske undersøgelser af vævet efter at cellerne er loaded med et farvestof, der fluorescerer, når der frisættes ioniseret calcium i cellens cytoplasma, og cellen dermed er aktiv. Dette har ført til opdagelsen af en ny celletype (Figur 1), som er ansvarlig for at koordinere kontraktionen i karvæggens glatte muskelceller, og dermed for at ændre karrets diameter (4). Efterfølgende er modelgrundlaget udvidet til at omfatte studier af diameterreguleringen

i arterioler med forskellig kaliber, og senest ved at etablere en model, der kan anvendes til at studere blodgen-nemstrømningen i et helt perfunderet retinalt segment.

**Hidtidige opdagelser**

De hidtidige undersøgelser har ført til nogle opdagelser, som potentielt kan overføres til patientbehandling. For det første har laboratorieundersøgelserne vist, at PGF $\alpha$  kan kontrahere retinale kar in vitro, og det er efterfølgende vist, at behandling med PGF2 $\alpha$  som øjendråber kan kontrahere patologisk dilaterede retinale arterioler hos patienter med diabetes mellitus (5). Dette har ført til igangsættelse af et længere varende prospektivt randomiseret forsøg rettet mod at studere, om behandling med PGF2 $\alpha$  agonister også kan reducere konsekvenserne af den forøgede



Figur 2. Trace fra Retinal Vessel Analyzer måling af diameteren af en retinal arteriole med en diameter omkring 70 mikrometer under hvile (grønne linier) og under forøgelse af blodtrykket ved løft af en håndvægt (rød linie). Lige efter blodtrykket stiger (ved 175 sekunder) ses der en kortvarig dilatation af karret efterfulgt af en reflektorisk kontraktion, som udtryk for karrets trykautoregulation. (Fremstillet af overlæge Ph.D. Peter Jeppesen).

blodgennemstrømning, og dermed reducere udviklingen af diabetisk retinopati. Et andet laboratoriefund har været, at GABA induceret relaxation af retinale arterioler medieres via GABA<sub>C</sub> receptoren (6). Denne receptor er velbeskrevet i nethinden, men man har hidtil ikke haft kendskab til, hvilken rolle denne receptor spillede i synsorganet. Det er nu håbet at kunne overføre den observerede vasorelaserende virkning af GABA<sub>C</sub> receptor stimulering til patientbehandling. Der er allerede udviklet mediatorer med virkning på GABA<sub>C</sub> receptoren rettet mod brug ved CNS sygdomme, og der er derfor indledt et samarbejde med forskningsgrupper, der arbejder med syntese af lægemidler med det formål at udvikle GABA<sub>C</sub> mediatorer, der kan anvendes inden for oftalmologien. Endelig er der identificeret stoffer i nethinden, som medvirker ved den relaxation af retinale kar, som opstår under hypoxi, og der planlægges kliniske studier rettet mod at overføre disse fund til patientbehandling. Den relaxation, som ses i nethindens blodkar ved hypoxi, er formentlig en meget basal

reguleringsmekanisme, som sikrer, at nethindens blodgennemstrømning hele tiden matcher behovet, og ud over mulig behandling af sygdomme med retinal hypoxi er det derfor også forventningen, at man ved specifik intervention på disse mekanismer vil kunne ændre diameteren af nethindens blodkar i tilfælde, hvor denne er patologisk ændret af andre årsager end hypoxi.

De kliniske undersøgelser gennemføres med en såkaldt Retinal Vessel Analyzer, som er et fundus camera med en videoenhed, der gør det muligt at optage sammenhængende sekvenser af nethinden med en varighed af flere minutter (Figur 2). Specielt software korrigerer for billedforskydninger under øjenbevægelserne, og på baggrund af kontrastforskelle mellem karvæggene og den omkringliggende nethinde, kan ændringer i diameteren af nethindens blodkar beregnes (7). Hvis man samtidig lader patienten løfte en håndvægt, vil blodtrykket stige, og den deraf følgende kontraktion af diameteren af nethindens blodkar, såkaldt trykautoregulation, kan derefter måles. Man kan desuden

stimulere nethinden med blinkende lys, hvorved metabolismen under normale forhold vil øges og karrene dilatere, såkaldt metabolisk autoregulation. Disse lokale reguleringsmekanismer er forstyrrede ved retinale karsygdomme som f.eks. diabetisk retinopati, og målemetoden kan derfor anvendes til at vurdere effekten af behandlingsmæssig intervention på disse mekanismer.

#### Konklusion

Den beskrevne forskningsplan er en såkaldt translationel tilgang, hvor resultaterne af eksperimentel forskning omsættes til patientbehandling. De enkelte elementer i denne strategi vil de kommende år blive søgt udbygget, dels ved at udvide repertoire af eksperimentelle teknikker, såvel in vivo som in vitro, og dels ved at omsætte resultaterne fra den basale laboratorieforskning til kliniske interventionsstudier rettet mod undersøgelse af potentielt nye behandlingstilbud til de hyppige synstruende retinale vaskulære sygdomme.

Referencer: [www.ofthalmolog.com](http://www.ofthalmolog.com) ■