



Organ der
Deutschen
Ophthalmologischen
Gesellschaft

Schriftleitung

Gerhard K. Lang, Ulm
Gabriele E. Lang, Ulm

Herausgeber

N. Bornfeld, Essen
G. I. W. Duncker, Halle
J. Esser, Essen
G. Grabner, Salzburg
G. Eckert, Senden
(Aktuelle Augenheilkunde)
I. Schipper, Luzern

Editorial Office

A. Cucera, Ulm

Refresher

G. I. W. Duncker, Halle
C. Meltendorf, Halle

Herausgeber Schwerpunktthemen

N. E. Bechrakis, Innsbruck
N. Bornfeld, Essen
Onkologie und Pathologie

C. Cursiefen, Erlangen
A. Heiligenhaus, Münster
Entzündliche Erkrankungen

G. I. W. Duncker, Halle
G. Geerling, Düsseldorf
Hornhaut und Sklera

K.-H. Emmerich, Darmstadt
H.-W. Meyer-Rüsenberg, Hagen
Ophthalmoplastische Chirurgie

C. Erb, Berlin
Glaukom

J. Esser, Essen
Strabologie und Kinderophthalmologie

R. Guthoff, Rostock
O. Stachs, Rostock
Neue Technologien

H. Helbig, Regensburg
A. Jousen, Berlin
Retina und Glaskörper

T. Kohnen, Frankfurt a. Main
Katarakt und Linse

H. Wilhelm, Tübingen
Neuroophthalmologie

Wissenschaftlicher Beirat

M. Becker, Zürich
W. Behrens-Baumann, Magdeburg
M. Blum, Erfurt
J. J. De Laey, Gent
C. Erb, Berlin
G. Geerling, Düsseldorf
F. Grehn, Würzburg
R. Grewe, Münster
S. Grisanti, Lübeck
R. Guthoff, Rostock
H. Hoerauf, Göttingen
A. Jousen, Berlin
A. Kampik, München
K. U. Löffler, Bonn
C. H. Meyer, Bonn
D. Mojon, St. Gallen
D. Pauleikhoff, Münster
T. Reinhard, Freiburg
J. M. Rohrbach, Tübingen
K. P. Steuhl, Essen
Z. Zagórski, Lublin

Editor emeritus

G. O. H. Naumann, Erlangen

Verlag

Georg Thieme Verlag KG
Rüdigerstraße 14
D-70469 Stuttgart
Postfach 30 11 20
D-70451 Stuttgart

1863 von Karl Wilhelm v. Zehender im Zusammenwirken mit Theodor Sämisch und Albrecht von Graefe gegründet, um den Bedürfnissen des am Patienten tätigen Augenarztes in Klinik und Praxis zu dienen. Die Leser werden seitdem fortlaufend über Ergebnisse und Probleme der klinischen Forschung durch die Publikation von Originalarbeiten, Beobachtungen und Übersichtsartikeln unterrichtet.

Gelistet im Journal Citation Report:
aktueller Impact Factor (2009) = 0,542

Physiologie des humanen Hornhautendothels – neue Erkenntnisse durch elektrophysiologische Untersuchungen

Physiology of the Human Corneal Endothelium – New Insights from Electrophysiological Investigations

Autoren

S. Mergler, U. Pleyer

Institut

Klinik für Augenheilkunde, Charité Universitätsmedizin Berlin

Schlüsselwörter

- Hornhautendothel
- In-vitro-Elektrophysiologie
- Zellvitalität
- Ionenkanäle

Key words

- human corneal endothelium
- in vitro electrophysiology
- cell vitality
- ion channels

eingereicht 12.2.2011

akzeptiert 18.2.2011

Bibliografie

DOI <http://dx.doi.org/10.1055/s-0031-1273254>

Online-Publikation: 3.5.2011

Klin Monatsbl Augenheilkd 2011; 228: 520–524 © Georg Thieme Verlag KG Stuttgart · New York · ISSN 0023-2165

Korrespondenzadresse

Stefan Mergler

Klinik für Augenheilkunde,
Charité Universitätsmedizin
Berlin

Augustenburger Platz 1
13353 Berlin

Tel.: ++49/30/55 96 48

Fax: ++49/30/55 99 48

stefan.mergler@charite.de

Zusammenfassung

Die Identifizierung von apoptotischen oder geschädigten humanen Hornhautendothel(HCE)-Zellen ist derzeit auf eine morphologische Beurteilung und Vitalfärbung begrenzt. Spezielle elektrophysiologische Untersuchungen könnten künftig helfen, geschädigte HCE Zellen bereits in einem früheren Stadium zu erkennen. Neben Calcium Imaging ist die sogenannte Patch-Clamp-Technik eine wichtige Testmethode, mit der man die Wirkung verschiedenster Substanzen auf Ionenkanäle und Rezeptoren der Zellmembran überprüfen kann. Erste elektrophysiologische Pilotexperimente mit kultivierten und frisch isolierten HCE-Zellen haben vielversprechende Ergebnisse hervorgebracht. So wurde erstmals die Expression bestimmter Transient-Rezeptor-Potenzial-Kanäle (TRPs) in HCE-Zellen nachgewiesen. Die Funktion dieser TRP-Kanäle ist allerdings noch nicht völlig geklärt. Beim Menschen spielen TRP-Kanäle eine wichtige Rolle bei der Wahrnehmung von Geschmack, Pheromonen, Temperatur und Schmerz und sind an Osmolarität beteiligt. Die Übersichtsarbeit fasst den Stand der Literatur zur Elektrophysiologie des humanen Hornhautendothels zusammen und leitet daraus mögliche Ansätze zu einem empfindlichen Vitalitäts- und Funktionstest unter Ausnutzung der elektrophysiologischen Eigenschaften von HCE Zellen ab.

Einleitung

Das Endothel bildet die innerste Zellschicht der Hornhaut und hat 2 Grundfunktionen. Zum einen ernährt es die Hornhaut durch Diffusion von Substanzen des Kammerwassers. Zum anderen sichert es über eine Barriere- und Pumpfunktion die Transparenz der Hornhaut. Die Kontakte der Hornhautendothelzellen untereinander

Abstract

Currently, the identification of apoptotic or damaged human corneal endothelial (HCE) cells is limited to a morphological assessment and vital staining. Specific electrophysiological investigations may prospectively help to identify damaged HCE cells at an earlier stage. Besides calcium imaging, the so-called patch-clamp technique is an important test method enabling one to assay the effect of various substances on ion channels and receptors of the cell membrane. First electrophysiological pilot experiments with cultivated and freshly isolated HCE cells have revealed promising results. In this way, the expression of certain transient receptor potential channels (TRPs) could be demonstrated. However, the function of these channels is still not fully elucidated. In humans, TRPs play a crucial role in the sense of taste, pheromones, temperature and pain and are involved in osmolarity. This review summarises the current literature on the electrophysiology of the human corneal endothelium and deduces potential approaches to a sensitive vitality and function test under utilisation of the electrophysiological properties of HCE cells.

verhindern einen Einstrom von Kammerwasser in das Stroma (passive Barrierefunktion). Überdies bedient sich das Endothel einer ATP-abhängigen, enzymkatalysierten Ionenpumpe, welche durch aktiven Transport von Na⁺-, K⁺- und HCO₃-Ionen einen passiven Austritt von H₂O aus dem Stroma in die Vorderkammer bewirkt (Pumpfunktion) [1]. Die Barriere- und Pumpfunktion hat eminente Auswirkung auf die Vita-

lität des Hornhautendothels. Dieses besteht aus einer einlagigen Zellschicht (5–6 μM Dicke) von 300000–500000 Zellen (bei Geburt), die kammerwärts der Descemetschen Membran aufsitzen. Im humanen Hornhautendothel finden im Gegensatz zur Hornhaut anderer Vertebraten kaum Mitosen statt, sodass die Zelldichte im Laufe des Lebens stets abnimmt [2]. Das Alter und eine Reihe weiterer endogener und exogener Faktoren spielen daher für die Hornhautendothelzelldichte eine wichtige Rolle. Die Zellen nehmen gleichzeitig an Zelloberfläche zu und werden „dünner“. Kommt es zu einer Verminderung der kritischen Endothelzelldichte, dekompensiert die Kornea. Kammerwasser dringt in das Hornhautstroma ein und es treten Quellung, Verdickung und Transparenzverlust der Hornhaut ein (bullöse Keratopathie). Vielfältige Faktoren kommen für eine reduzierte Endothelzelldichte in Betracht. Neben dem Alter sind Hornhautdystrophien sowie chirurgische Eingriffe Faktoren für Endothelzellverluste bzw. Hornhautendothelschäden. Dabei treten z.B. nach Kataraktoperationen insbesondere am Hornhautendothel Schädigungen auf, die bis zur Hornhautdekomensation führen können.

Die zurzeit einzige Therapiemöglichkeit ist die lamelläre oder perforierende Keratoplastik. Sie ist weltweit die am häufigsten durchgeführte Organtransplantation. Allerdings bleibt auch nach diesen Eingriffen das Hornhautendothel gefährdet. Die Endothelzelldichte von Hornhauttransplantaten nach perforierender Keratoplastik fällt jedoch aus noch ungeklärter Ursache kontinuierlich ab [3]. Dieser postoperative Verlust an Transplantatendothelzellen liegt mit etwa 10% jährlich deutlich über der natürlichen altersabhängigen Endothelzellverlustrate nicht transplantiert Hornhäute von nur 0,5% pro Jahr [4, 5]. So ist 15–20 Jahre nach Keratoplastik aufgrund des deutlich über der Norm liegenden progredienten Endothelzellverlusts ein erhebliches Risiko einer Transplantatdekomensation mit bullöser Keratopathie gegeben [5–7]. Eine Rekeratoplastik wird notwendig – dies wiederum oft einhergehend mit höheren Risiken, z.B. einer Transplantatabstoß im Verlauf.

Eine weitere, klinisch bedeutsame Situation betrifft Spendertransplantate, die in Organkultur gelagert, zum Teil 20–30% der Endothelzellen verlieren [5]. Bei bis zu 30% aller Spenderhornhäute kommt es zu einem so starken Endothelzellverlust, dass diese nicht mehr transplantiert werden können [8]. Eine Prävention ist unter den bisherigen Organkulturbedingungen nicht möglich [9]. Da der Bedarf an Spendergewebe daher nach wie vor deutlich hoch ist, wird der Mangel an Spenderhornhäuten weiter verschärft.

Die heutige Funktions- und Vitalitätsprüfung des Hornhautendothels stützt sich im Wesentlichen auf eine morphologische Beurteilung und Vitalfärbung. Das Hornhautendothel ist mit lichtmikroskopischen Techniken sowohl *in vitro* als auch *in vivo* darstellbar. Die Qualität wird bisher allerdings einzig durch die Beschreibung der Morphologie und Zelldichte bestimmt. *In vitro* kann geschädigtes Endothel mit Vitalfarbstoffen verifiziert werden [10–13]. Am häufigsten wird Trypanblau als hierzu geeigneter Vitalfarbstoff in Hornhautbanken verwendet. Diese Verfahren erlauben jedoch eine nur begrenzte Beurteilung der Vitalität von Hornhautendothelzellen. Methoden zur Feststellung intrazellulärer Schädigungen oder Vitalparameter gibt es nicht. Zwar konnten in verschiedenen Organkulturen variable Parameter z.B. hinsichtlich Laktat-, pH-Wert u.a. gemessen werden, allerdings lässt keiner dieser Parameter Rückschlüsse auf die Endothelzellvitalität und Endothelfunktion sowie Endothelschäden zu [14]. Die molekula-

ren Mechanismen, die zum Hornhautendothelzellverlust führen, sind bisher noch nicht völlig verstanden.

Als grundlegende Mechanismen werden u.a. Apoptose-induzierte Prozesse angenommen. Möglichkeiten, diesem Verlust entgegenzuwirken, stellen eine Herausforderung zur Verbesserung der Hornhautkonservierung dar und sind daher für Hornhautbanken weltweit von Interesse. Eine Möglichkeit bietet die Erforschung von zellulären Signalen und Ionenkanalaktivitäten in Hornhautendothelzellen. Diese sind maßgeblich an der Aufrechterhaltung einer regelrechten Hornhautfunktion beteiligt.

Ionenkanäle im Hornhautendothelium



Ionenkanäle sind transmembrane Poren, welche hydrophile Kanäle präsentieren und elektrisch geladenen Teilchen (Ionen) das Durchqueren von Zellmembranen entlang ihrem elektrochemischen Gradienten ermöglichen (Kanalproteine). Spannungstimulationen, Neurotransmitter oder mechanischer Stress öffnen Proteinporen durch die Plasmazellmembran, durch welche selektive Ionen durchfließen können. Ionenkanäle vermitteln schnelle elektrische Signalereignisse, welche Sinneseindrücke und Bewegung ermöglichen. Sie ermöglichen auch die Regulation von Flüssigkeiten und Elektrolyten. Sie sind von universeller Bedeutung bei verschiedenartigen physiologischen Funktionen wie Muskelkontraktion, Volumenregulation (osmotische Aktivität) und Hormonsekretion. Man unterscheidet spannungsabhängige und Liganden-gesteuerte Ionenkanäle. Zu den klassischen spannungsabhängigen (und selektiven) Ionenkanälen gehören Natrium-, Kalium-, Chlorid- und Kalziumkanäle. Zu den Liganden-gesteuerte Ionenkanälen gehören z.B. die Acetylcholinrezeptoren.

Eine besondere Gruppe der nicht selektiven Ionenkanäle bilden die sog. Transient-Rezeptor-Potenzial-Kanäle (TRPs) (Abb. 1), welche besonders in der Sinnesphysiologie eine Rolle spielen.

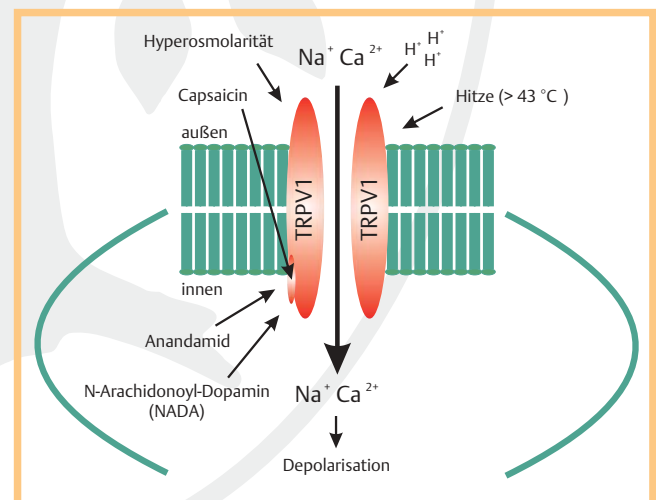


Abb. 1 Schematische Darstellung des Transient-Rezeptor-Potenzial-Vanilloid-Kanals 1 (TRPV1) (Capsaicin-Rezeptor). Er wird auch stark auf nicht neuronalen Hornhautzellen exprimiert und besitzt eine intrazelluläre Bindungsstelle für Capsaicin, den Inhaltsstoff von Paprika und Chili. Außerdem besitzt er endogene Aktivatoren wie z.B. Endocannabinoide (Anandamid, NADA). Auf der anderen Seite wird er auch durch erhöhte Temperatur aktiviert und ist wie alle unspezifischen Kationenkanäle permeabel für Na⁺, K⁺- und Ca²⁺-Ionen. Darüber hinaus besitzt er allerdings noch eine Leitfähigkeit für Protonen und kann über erhöhte Osmolarität aktiviert werden.

Tab. 1 TRP Kanäle.

Name	Selektivität ⁵ $P_{Ca} : P_{Na}$	Aktivierungstemperatur (°C) ⁵	Pharmakologie ⁵	Funktion ⁵	Hornhaut ⁵
TRPV1	4 – 10	> 43	Capsaicin Capsazepin	Hitzesensor Osmosensor ¹	Endothel Epithel
TRPV2	1 – 3	> 52	2-APB	Hitzesensor	Endothel Epithel
TRPV3	2,6	30 – 39	Camphor, 2-APB	Wärmesensor	Endothel Epithel
TRPV4	6 – 10	24 – 27	4a-PDD, GSK 1016790A	Wärmesensor Osmosensor ²	Endothel? ³ Epithel
TRPV5	> 100	–	geringe $[Ca^{2+}]_i$	Ca^{2+} Reabsorption in Nieren	–
TRPV6	> 100	–	geringe $[Ca^{2+}]_i$	–	–
TRPM8	3,3	< 23 – 28	Methol, Icilin	Kältesensor	Endothel? ⁴
TRPA1	0,8	< 17	Icilin	Kältesensor	?

¹ Aktiviert bei Hyperosmolarität.

² Aktiviert bei Hypoosmolarität.

³ [24].

⁴ [22, 24].

⁵ [15, 29].

Sie werden (derzeit) in 7 Unterfamilien unterteilt, besitzen 6 Transmembranregionen und sind durchlässig für Kationen [15]. TRP-Kanäle sind entwicklungs-geschichtlich sehr alt. Sie finden sich z.B. bereits in Hefezellen, aber nicht in Bakterien oder Pflanzen. Die Funktion der meisten TRP-Kanäle ist allerdings nur zum Teil geklärt. Beim Menschen spielen TRP-Kanäle eine wichtige Rolle bei der Wahrnehmung von Geschmack, Pheromonen und Schmerz. Experimente mit kultivierten und frisch isolierten Hornhautendothelzellen haben erste Ergebnisse hervorgebracht. So wurden nicht nur die zuvor erwähnten spannungsabhängigen Ionenkanäle in Hornhautendothelzellen vom Menschen und von Nagetieren detektiert (Natriumkanäle [16, 17], Kaliumkanäle [18–20], Kalziumkanäle [21–23]). Darüber hinaus wurden auch nicht selektive Kationenkanäle und vor Kurzem erstmals auch TRP-Kanäle in diesen Zellen registriert [24, 25]. Insbesondere konnte gezeigt werden, dass Wärme-sensitive TRP-Kanäle in humanen Hornhautendothelzellen zur Aufrechterhaltung der Hornhautendothelfunktion beitragen [24]. Diese TRPs zählen zu den TRP Vanilloid-Rezeptoren (TRPV-Kanäle) (● Tab. 1).

Der bekannteste Vertreter ist der TRPV1, der auch als Capsaicin-Rezeptor bezeichnet wird. Er wird nicht nur in freien Nervenendigungen, die als Schmerzrezeptoren (Nozizeptoren) fungieren, exprimiert. Er konnte auch in nicht neuronalen Hornhautendothel- und Hornhautepithelzellen nachgewiesen werden [24, 26, 27] (● Abb. 2).

Oft koexprimiert bzw. interagiert TRPV1 mit dem Kälterezeptor TRPM8 [28, 29], der auch in Nervenfasern der Hornhaut eine besondere Bedeutung hat [30]. Parra und Mitarbeiter (2010) konnten zeigen, dass die Feuchtigkeit an der Augenoberfläche durch TRPM8-Kanäle in diesen Nervenfasern reguliert wird. Bekannt ist, dass diese temperatursensitiven Kanäle auch wesentlich an der Regulation des intrazellulären Kalziums beteiligt sind [15] und ihre Aktivität mit Induktion der Apoptose assoziiert [31–34]. Daher wurde postuliert, dass z.B. der TRPV1-Kanal auch in Hornhautendothelzellen mit der Apoptose assoziiert und als physiologischer Regulator bedeut-

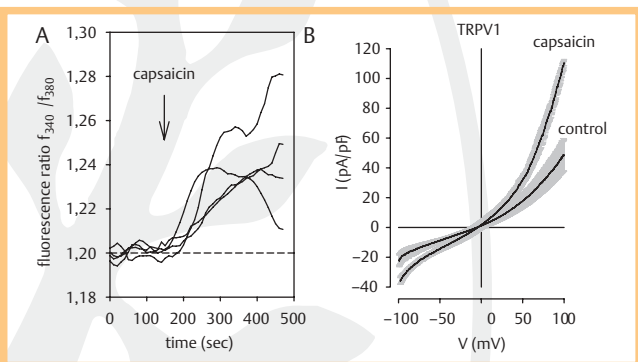


Abb. 2 Capsaicin-induzierte Kalzium- und Stromantworten in humanen kultivierten Hornhautendothelzellen (HCEC-12). **A** TRPV1-induzierte Kalziumregulation in HCEC-12. Die Zellen wurden mit dem Fluoreszenzfarbstoff Fura-2 AM beladen. Danach wurde das Fluoreszenzverhältnis gemessen, das durch wechselnde Anregung bei 340 und 480 nm Lichtwellenlänge induziert wurde (Fluoreszenzverhältnis f_{340}/f_{380}). Das Fluoreszenzverhältnis verläuft proportional zur intrazellulären Kalziumkonzentration ($[Ca^{2+}]_i$). Der selektive TRPV1-Kanalaktivator Capsaicin (CAP) ($20 \mu M$) wurde nach ca. 2 min hinzugefügt (Pfeil). Die Daten zeigen 4 Einzelmessungen. Capsaicin (CAP) aktivierte selektiv TRPV1 und führte zu einer signifikanten Erhöhung von $[Ca^{2+}]_i$. **B** TRPV1-Kanäle in HCEC-12. CAP-induzierte TRPV1-Kationenkanalstromantworten nach Stimulation mit einer Spannungsrampe von -100 mV bis $+100$ mV. Die Daten zeigen Mittelwerte \pm SEM (grau) von 3–4 Experimenten. Das Diagramm zeigt Stromantworten vor Zugabe von CAP (control) und während der Zugabe von $10 \mu M$ CAP. Die Ströme (pA) wurden auf die Zellmembrankapazität (pF) normiert, um die Stromdichten zu erhalten (pA/pF).

sam ist [24]. Um Hornhautendothelverluste effektiv zu reduzieren, ist eine zielgerichtete Untersuchung der biologischen Ursachen notwendig. Aber wie lassen sich die dafür geeigneten endogenen Modulatoren schnell und planmäßig aufspüren?

Einschätzung der Qualität/Vitalität von Hornhautendothelzellen mithilfe hochsensitiver elektro-physiologischer Messmethoden (Patch-Clamp, Calcium Imaging)

▼ Eine Möglichkeit dazu bieten Untersuchungsverfahren wie Calcium Imaging und das sogenannte planare Patch-Clamping. Der große Vorteil gegenüber herkömmlichem Patch-Clamping liegt in dem geringeren Aufwand des Verfahrens, dessen Durchführung weniger Zeit in Anspruch nimmt und das sich daher auch sehr gut zur Prüfung potenzieller Wirkstoffe eignet. Allerdings stehen dem auch einige Nachteile gegenüber. So kann die Adhärenz zur extrazellulären Matrix als auch der intakte Zellverband nach einer chemischen Behandlung verloren gehen. Diese Behandlung (für die Vereinzeln der Zellen) ist für die elektro-physiologischen Untersuchungen jedoch erforderlich, da nur einzelne Zellen untersucht werden können. Trotzdem haben Messungen an verschiedenen Zelltypen von Patienten gezeigt, dass trotz der Vereinzeln der Zellen aussagekräftige Ergebnisse gewonnen werden können. Beispielsweise zeigten immunohistochemische Untersuchungen, dass der zuvor genannte Capsaicin-Rezeptor TRPV1 auf der zur Vorderkammer gerichteten apikalen Seite der Hornhautendothelzellen exprimiert wird. Nach Vereinzeln der Zellen lässt sich der TRPV1-Kanal trotzdem mit der automatisierten Patch-Clamp Methode messen. Er verliert dadurch seine Funktion nicht. Damit sind Messungen von Ionenkanalströmen und sehr geringen Änderungen der intrazellulären Kalziumkonzentration an einzelnen Zellen unter Erhalt ihrer Lebensfähigkeit möglich. Der Vorteil gegenüber herkömmlichen Messmethoden (z. B. Vitalfärbung) ist, dass apoptotische Zellen möglicherweise früher erkannt werden können, da dies im Allgemeinen mit einer veränderten Ionenkanalleitfähigkeit und einer erhöhten zytosolischen Kalziumkonzentration verbunden ist [35]. Das neue Verfahren kann bezüglich Spenderhornhäuten zur Transplantation einen Beitrag leisten, wenn die elektro-physiologischen Charakteristiken und endogene Modulatoren genau bekannt sind und diese z. B. antiapoptotisch wirken (Optimierung von Organkulturen). Das Transplantat kann für Patienten verwendet werden, wenn die Anwendung von mutmaßlichen endogenen Modulatoren zu reproduzierbar vitaleren Zellen führt (experimentelle Studien).

Hinweise auf klinische Bedeutung

▼ Li et al. stellten bei Patienten mit Fuchs-Dystrophie fest, dass Hornhautendothelzellverluste mit Apoptose verbunden sind (immunohistochemische Charakterisierung von Zellmarkern, die mit Apoptosis assoziieren; Bcl-2 u. a.) [36]. Weiterreichende Untersuchungsbefunde liegen vom Hornhautepithel vor. Hier konnte belegt werden, dass Apoptose mit einer geänderten (meist erhöhten) Ionenkanalaktivität in diesen Zellen verbunden ist [37]. Interaktionen zwischen Kalziumkanälen und Wachstumsfaktoren spielen dabei eine Rolle wie in anderen Zelltypen schon gezeigt [38]. Auch die Zugabe von Wachstumsfaktoren in Kulturmedien erhöht die Zahl (überlebender) Hornhautendothelzellen und erlaubt eine zeitliche Verlängerung der Hornhautkonservierung [2, 39–41]. Fuchsluger und Mitarbeiter (2010) konnten belegen, dass humane Hornhautendothelzellen über Gentherapie gegen Apoptoseinduktion geschützt werden können (antiapoptotische Gentherapie) [8].

In diesem Zusammenhang spielt die Kalziumregulation für die Vitalität der Hornhautendothelzellen eine wichtige Rolle. Aus Untersuchungen anderer Zelltypen ist bekannt, dass bereits geringste Störungen der Kalziumregulation Zelldifferenzierung, -migration und Zelluntergang beeinflussen können (z. B. bei retinaler Degeneration) [42]. Die intrazelluläre Kalziumkonzentration spielt generell eine entscheidende Rolle [43–46]. Unter den Kultivierungsbedingungen von Hornhautzellen spielt auch die extrazelluläre Kalziumkonzentration eine wichtige Rolle. Am kornealen und limbalen Epithel konnte gezeigt werden, dass eine Erhöhung der extrazellulären Kalziumkonzentration die Zelldifferenzierung fördert [47]. In anderen Zelltypen (z. B. Neuronen) konnte gezeigt werden, dass Ca^{2+} -leitende Ionenkanäle wiederum mit der Apoptose verbunden sind [43, 48]. Durch eine genaue Charakterisierung der Elektro-physiologie des Hornhautendothels ist ein gezieltes Eingreifen zum besseren Erhalt des Hornhautendothels denkbar. Dies trägt einerseits zum grundlegenden Verständnis der Hornhautendothelfunktion bei und könnte andererseits unmittelbar zu klinisch relevanten Konsequenzen führen. Die neuen Befunde können direkte klinische Auswirkungen auf die Kulturbedingungen der Transplantate und intraokularen Spülflüssigkeiten z. B. bei intraokularen Eingriffen haben.

Interessenkonflikt: Nein

Literatur

- 1 Waring III GO, Bourne WM, Edelhauser HF et al. The corneal endothelium. Normal and pathologic structure and function. *Ophthalmology* 1982; 89: 531–590
- 2 Joyce NC. Proliferative capacity of the corneal endothelium. *Prog Retin Eye Res* 2003; 22: 359–389
- 3 Bell KD, Campbell RJ, Bourne WM. Pathology of late endothelial failure: late endothelial failure of penetrating keratoplasty: study with light and electron microscopy. *Cornea* 2000; 19: 40–46
- 4 Ing JJ, Ing HH, Nelson LR et al. Ten-year postoperative results of penetrating keratoplasty. *Ophthalmology* 1998; 105: 1855–1865
- 5 Bourne WM. Corneal endothelium – past, present, and future. *Eye Contact Lens* 2010; 36: 310–314
- 6 Armitage WJ, Dick AD, Bourne WM. Predicting endothelial cell loss and long-term corneal graft survival. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2003; 44: 3326–3331
- 7 Barcia RN, Dana MR, Kazlauskas A. Corneal graft rejection is accompanied by apoptosis of the endothelium and is prevented by gene therapy with bcl-xL. *Am J Transplant* 2007; 7: 2082–2089
- 8 Fuchsluger TA, Jurkunas U, Kazlauskas A et al. Corneal Endothelial Cells Are Protected from Apoptosis by Gene Therapy. *Hum Gene Ther* 2010; (Epub ahead of print)
- 9 Lindstrom RL. Advances in corneal preservation. *Trans Am Ophthalmol Soc* 1990; 88: 555–648
- 10 Borenfreund E, Puerner JA. Toxicity determined in vitro by morphological alterations and neutral red absorption. *Toxicol Lett* 1985; 24: 119–124
- 11 Bednarz J, Doubilei V, Wollnik PC et al. Effect of three different media on serum free culture of donor corneas and isolated human corneal endothelial cells. *Br J Ophthalmol* 2001; 85: 1416–1420
- 12 Engelmann K, Drexler D, Böhnke M. Transplantation of adult human or porcine corneal endothelial cells onto human recipients in vitro. Part I: Cell culturing and transplantation procedure. *Cornea* 1999; 18: 199–206
- 13 Melles GR, Lander F, Rietveld FJ. Transplantation of Descemet's membrane carrying viable endothelium through a small scleral incision. *Cornea* 2002; 21: 415–418
- 14 Moller-Pedersen T, Hartmann U, Moller HJ et al. Evaluation of potential organ culture media for eye banking using human donor corneas. *Br J Ophthalmol* 2001; 85: 1075–1079
- 15 Ramsey IS, Delling M, Clapham DE. An introduction to TRP channels. *Annu Rev Physiol* 2006; 68: 619–647

- 16 *Rae JL, Watsky MA.* Ionic channels in corneal endothelium. *Am J Physiol* 1996; 270: C975–C989
- 17 *Watsky MA, Cooper K, Rae JL.* Sodium channels in ocular epithelia. *Pflugers Archive* 1991; 419: 454–459
- 18 *Watsky MA, Cooper K, Rae JL.* Transient outwardly rectifying potassium channel in the rabbit corneal endothelium. *J Membr Biol* 1992; 128: 123–132
- 19 *Rae JL, Shepard AR.* Kir2.1 Potassium channels and corneal epithelia. *Curr Eye Res* 2000; 20: 144–152
- 20 *Rae JL, Dewey J, Cooper K.* Properties of single potassium-selective ionic channels from the apical membrane of rabbit corneal endothelium. *Exp Eye Res* 1989; 49: 591–609
- 21 *Mergler S, Dannowski H, Bednarz J et al.* Calcium influx induced by activation of receptor tyrosine kinases in SV40-transfected human corneal endothelial cells. *Exp Eye Res* 2003; 77: 485–495
- 22 *Mergler S, Pleyer U, Reinach P et al.* EGF suppresses hydrogen peroxide induced Ca²⁺ influx by inhibiting L-type channel activity in cultured human corneal endothelial cells. *Exp Eye Res* 2005; 80: 285–293
- 23 *Mergler S, Pleyer U.* The human corneal endothelium: New insights into electrophysiology and ion channels. *Prog Retin Eye Res* 2007; 26: 359–378
- 24 *Mergler S, Valtink M, Coulson-Thomas VJ et al.* TRPV channels mediate temperature-sensing in human corneal endothelial cells. *Exp Eye Res* 2010; 90: 758–770
- 25 *Rae JL, Dewey J, Cooper K et al.* A non-selective cation channel in rabbit corneal endothelium activated by internal calcium and inhibited by internal ATP. *Exp Eye Res* 1990; 50: 373–384
- 26 *Zhang F, Yang H, Wang Z et al.* Transient receptor potential vanilloid 1 activation induces inflammatory cytokine release in corneal epithelium through MAPK signaling. *J Cell Physiol* 2007; 213: 730–739
- 27 *Mergler S, Garreis F, Sahlmüller M et al.* Thermosensitive transient receptor potential channels (thermo-TRPs) in human corneal epithelial cells. *J Cell Physiol* 2010; (Epub ahead of print)
- 28 *Chuang HH, Neuhausser WM, Julius D.* The super-cooling agent icilin reveals a mechanism of coincidence detection by a temperature-sensitive TRP channel. *Neuron* 2004; 43: 859–869
- 29 *Voets T, Droogmans G, Wissenbach U et al.* The principle of temperature-dependent gating in cold- and heat-sensitive TRP channels. *Nature* 2004; 430: 748–754
- 30 *Parra A, Madrid R, Echevarria D et al.* Ocular surface wetness is regulated by TRPM8-dependent cold thermoreceptors of the cornea. *Nat Med* 2010; 16: 1396–1399
- 31 *Chow J, Norng M, Zhang J et al.* TRPV6 mediates capsaicin-induced apoptosis in gastric cancer cells – Mechanisms behind a possible new “hot” cancer treatment. *Biochim Biophys Acta* 2007; 1773: 565–576
- 32 *Sappington RM, Sidorova T, Long DJ et al.* TRPV1: Contribution to Retinal Ganglion Cell Apoptosis and Increased Intracellular Ca²⁺ with Exposure to Hydrostatic Pressure. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2009; 50: 717–728
- 33 *Yao X, Garland CJ.* Recent developments in vascular endothelial cell transient receptor potential channels. *Circ Res* 2005; 97: 853–863
- 34 *Zhang W, Chu X, Tong Q et al.* A novel TRPM2 isoform inhibits calcium influx and susceptibility to cell death. *J Biol Chem* 2003; 278: 16222–16229
- 35 *Rusznak Z, Harasztosi C, Stanfield PR et al.* An improved cell isolation technique for studying intracellular Ca(2+) homeostasis in neurones of the cochlear nucleus. *Brain Res Brain Res Protoc* 2001; 7: 68–75
- 36 *Li QJ, Ashraf MF, Shen DF et al.* The role of apoptosis in the pathogenesis of Fuchs endothelial dystrophy of the cornea. *Arch Ophthalmol* 2001; 119: 1597–1604
- 37 *Lu L.* Stress-induced corneal epithelial apoptosis mediated by K(+) channel activation. *Prog Retin Eye Res* 2006; 25: 515–538
- 38 *Banan A, Fields JZ, Zhang Y et al.* Key role of PKC and Ca²⁺ in EGF protection of microtubules and intestinal barrier against oxidants. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2001; 280: G828–G843
- 39 *Barisani-Asenbauer T, Kaminski S, Schuster E et al.* Impact of growth factors on morphometric corneal endothelial cell parameters and cell density in culture-preserved human corneas. *Cornea* 1997; 16: 537–540
- 40 *Rieck P, Oliver L, Engelmann K et al.* The role of exogenous/endogenous basic fibroblast growth factor (FGF2) and transforming growth factor beta (TGF beta-1) on human corneal endothelial cells proliferation in vitro. *Exp Cell Res* 1995; 220: 36–46
- 41 *Rieck PW, Gigon M, Jaroszewski J et al.* Increased endothelial survival of organ-cultured corneas stored in FGF-2-supplemented serum-free medium. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2003; 44: 3826–3832
- 42 *Mergler S, Steinhausen K, Wiederholt M et al.* Altered regulation of L-type channels by protein kinase C and protein tyrosine kinases as a pathophysiologic effect in retinal degeneration. *FASEB J* 1998; 12: 1125–1134
- 43 *Akanda N, Elinder F.* Biophysical properties of the apoptosis-inducing plasma membrane VDAC. *Biophys J* 2006; 90: 4405–4417
- 44 *Nagy P, Panyi G, Jenei A et al.* Ion-channel activities regulate transmembrane signaling in thymocyte apoptosis and T-cell activation. *Immunol Lett* 1995; 44: 91–95
- 45 *Parekh AB, Penner R.* Store depletion and calcium influx. *Physiol Rev* 1997; 77: 901–930
- 46 *Skryma R, Mariot P, Bourhis XL et al.* Store depletion and store-operated Ca²⁺ current in human prostate cancer LNCaP cells: involvement in apoptosis. *J Physiol* 2000; 527 Pt 1: 71–83
- 47 *Kruse FE, Tseng SC.* Proliferative and differentiative response of corneal and limbal epithelium to extracellular calcium in serum-free clonal cultures. *J Cell Physiol* 1992; 151: 347–360
- 48 *Chvatchko Y, Valera S, Aubry JP et al.* The involvement of an ATP-gated ion channel, P(2X1), in thymocyte apoptosis. *Immunity* 1996; 5: 275–283