

# Veränderungen der Cornea bei Mäusen mit retinaler Degeneration

Xenia Varga, BMA 21-24

Biomedizinische Analytik HF

Inselgruppe AG, experimentelle Ophthalmologie

## 1. Zusammenfassung

Die Forschungsarbeiten der Augenklinik des Inselspitals Bern fokussieren sich auf genetische Mutationen, die zur Retinadegeneration (Netzhaut) führen, wobei die Cornea bisher keinen hohen Stellenwert hat. Nur wenige Krankheiten des Auges beeinflussen, ob eine Cornea (Hornhaut) für eine Spende und anschliessende Transplantation geeignet ist. Es ist bis heute unklar, ob Mutationen, die zu einer retinalen Degeneration führen, auch einen systemischen Einfluss auf das Auge haben und somit auch auf die Cornea, und ob dies ein Ein- oder Ausschlusskriterium für eine Corneaspende sein könnte.

In dieser Arbeit wurden die Dicke und die Kollagenverteilung der Corneae von verschiedenen genetisch veränderten Mäusen untersucht. Es wurde festgestellt, dass diese dicker sind als beim natürlich vorkommenden Wildtyp. Zudem wurde eine andere Kollagenverteilung festgestellt.

## 2. Einleitung

Die verwendeten Corneae stammen von Mäusen, die als Standardtiermodelle genetisch verändert wurden, um menschliche Krankheiten besser zu verstehen. Die Mausmodelle sind aufgrund der genetischen Ähnlichkeiten zum Menschen ideal, auch wenn ihre Augen teils anatomische Unterschiede aufweisen. Die Mäuse tragen Mutationen, die eine Degeneration der Retina verursachen (rd1, rd7 und rd10), wie sie von den Krankheiten Retinitis pigmentosa und dem Goldmann-Favre-Syndrom bekannt sind.

Die Cornea ist der transparente, nicht durchblutete vordere Teil des Auges und spielt eine zentrale Rolle bei der Lichtbrechung und dem Schutz des Auges. Die einzelnen Schichten können mittels Hämatoxylin-Eosin-Färbung gut dargestellt werden. Die Schichten der Cornea bestehen aus unterschiedlichen Bestandteilen. Zudem variieren die verbauten Kollagentypen.<sup>2</sup>

## 3. Ziele und Fragestellungen

### Ziel 1

Überprüfung der Cornea-Dicke bei Mäusen mit retinaler Degeneration

### Fragestellungen

- Zeigt sich ein signifikanter Unterschied der Dicke der Cornea von Mäusen mit einer rd1 im Vergleich zur Kontrollgruppe?
- Zeigt sich ein signifikanter Unterschied der Dicke der Cornea von Mäusen mit einer rd7 im Vergleich zur Kontrollgruppe?
- Zeigt sich ein signifikanter Unterschied der Dicke der Cornea von Mäusen mit einer rd10 im Vergleich zur Kontrollgruppe?

### Ziel 2

Darstellung des Kollagengehalts in Corneae von Mäusen mit retinaler Degeneration.

### Fragestellung

Zeigt sich ein gehäuftes oder niedrigeres Auftreten der Kollagene I, III oder V im Vergleich zum Wildtyp?

## 4. Material, Methodik, Vorgehen

Von rd1-, rd7-, rd10- und Wildtyp-Mäusen wurden jeweils 5 Augen (n=5) entnommen und histologisch vorbereitet. Für die Hämatoxylin-Eosin-Färbung, als bekannte Übersichtsfärbung, wurden pro Auge 3 Schnitte angefertigt, um mikroskopisch die Dicke der Cornea zu messen. Da die Dicke der Cornea an verschiedenen Stellen variiert, wurden 3 Messstellen definiert und der Durchschnitt für die Auswertung verwendet. Für die Immunhistochemie/Immunfluoreszenz wurde jeweils ein Schnitt für den Nachweis von Kollagen I, III und V sowie eine Negativkontrolle verwendet.

## 5. Ergebnisse/ Resultate

Bereits in der deskriptiven Statistik zeigen die rd7-Mäuse im Vergleich zu den WT-Mäusen sowohl im Durchschnitt als auch in den einzelnen Messwerten deutlich dickere Corneae. Ein signifikanter Unterschied konnte mittels t-Test bestätigt werden. Auch die rd1- und rd10-Mäuse zeigen im Durchschnitt dickere Corneae als der Wildtyp. Jedoch ist der Unterschied nicht signifikant.

Tabelle 1: Darstellung der Resultate des t-Tests (Varga X, 2024)

Vergleich	T(8)-Wert	P-Wert	Signifikanz ( $\alpha = 0.05$ )
WT vs. rd1	0.7900	0.4523	Nicht signifikant
WT vs. rd7	3.267	0.0114	Signifikant
WT vs. rd10	0.8290	0.4311	Nicht signifikant

Die Ergebnisse der Fluoreszenzmikroskopie zeigen bei einer Wildtypmaus Kollagen I und V positiv (grün) im Stroma und Kollagen III positiv im Epithel und Endothel. Bei rd1 und rd10 sind Kollagen III und V positiv, während Kollagen I negativ ist. Bei rd7 konnte nur der Antikörper für Kollagen III binden; I und V sind negativ. Somit zeigt sich im Vergleich zu den Wildtypmäusen bei den Degenerationslinien keine Expression des Kollagen I. Die Linie rd7 zeigt nur eine Expression von Kollagen III.

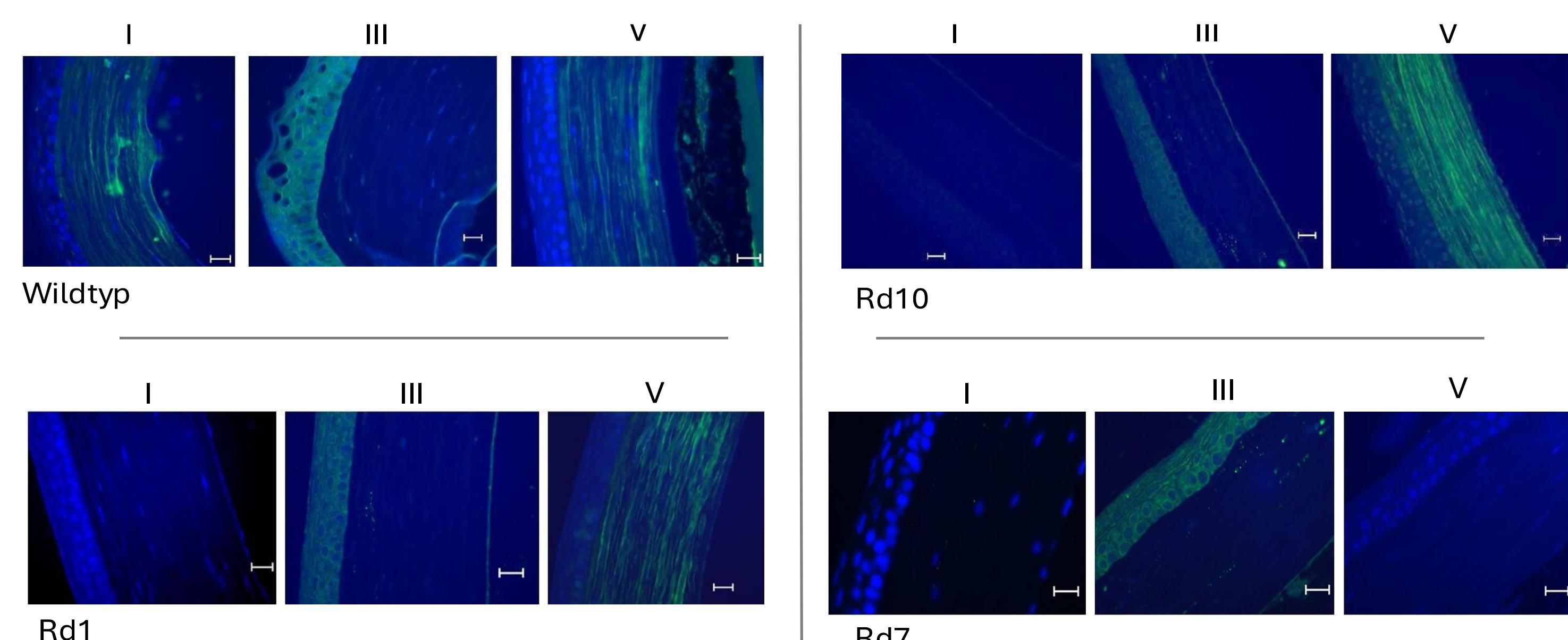


Abb. 1: Gegenüberstellung der Ergebnisse der Immunfluoreszenz (Varga X, 2024)

## 6. Diskussion

Die immunhistochemischen Untersuchungen zeigten eine Diskrepanz zwischen den theoretischen Erwartungen und den tatsächlichen Beobachtungen. Gemäss Literatur sollten Kollagen I und V in der Bowman'schen Schicht der Cornea vorhanden sein, diese wurden jedoch in keiner der untersuchten Mauslinien (rd1, rd7, rd10) nachgewiesen. Stattdessen wurde Kollagen III, welches normalerweise nicht im Epithel und Endothel der Cornea vorkommt, dort detektiert. Besonders auffällig war, dass die rd7-Mäuse nicht nur eine signifikant dickere Cornea aufwiesen, sondern auch ausschliesslich Kollagen III exprimierten, was auf eine mutationsabhängige Veränderung der Kollagenverteilung hindeutet. Eine rein visuelle, qualitative Auswertung der Immunhistochemie schränkt jedoch die Aussagekraft ein, weshalb zukünftig quantitative Methoden erforderlich sind, um die Kollagenexpression präziser zu bestimmen.

**Fazit:** Die Untersuchung zeigt, dass genetische Mutationen wie die in der rd7-Mauslinie signifikante Auswirkungen auf die Corneadicke haben, während dies bei anderen Mutationen (rd1, rd10) nicht der Fall ist. Zudem unterscheiden sich die Mauslinien auch in der Kollagenverteilung, insbesondere in der Expression von Kollagen III. Methodische Herausforderungen, wie die geringe Stichprobengrösse und die Ungenauigkeit der Messmethoden, schränken aber die Aussagekraft der Ergebnisse ein. Zukünftige Studien sollten verbesserte Methoden anwenden, um zuverlässigere Daten zu generieren. Diese Daten könnten dann als Kriterium zum Ein- oder Ausschluss einer Corneaspende verwendet werden.

### Referenzen

- [1] The Jackson Laboratory, Stand vom 12.02.2024; <https://www.jax.org/jax-mice-and-services>
- [2] Sridhar, M. S. (2018). Anatomy of cornea and ocular surface. *Indian J Ophthalmol*, 66(2), 190-194. [https://doi.org/10.4103/ijo.IJO\\_646\\_17](https://doi.org/10.4103/ijo.IJO_646_17)

### Abbildungen

Abb. 1 Varga, Xenia (2024) Gegenüberstellung der Ergebnisse der Immunfluoreszenz. medi

### Tabellen

Tabelle 1 Varga, Xenia (2024) Darstellung der Resultate des t-Tests. medi