

Aus dem Zentrum für Augenheilkunde der Universität zu Köln  
Klinik und Poliklinik für Allgemeine Augenheilkunde  
Direktor: Universitätsprofessor Dr. med. C. Cursiefen

Vascular Endothelial Growth Factor – individuelle Suppressionszeiten während der  
intravitrealen Therapie der neovaskulären altersabhängigen Makuladegeneration mit  
Aflibercept

Inaugural-Dissertation zur Erlangung der Doktorwürde  
der Medizinischen Fakultät  
der Universität zu Köln

vorgelegt von  
Viktoria Schwabecker  
aus Tallinn (Estland)

promoviert am 02. Dezember 2022

Dekan:                          Universitätsprofessor Dr. med. G. R. Fink  
1. Gutachter:                  Professor Dr. med. P. S. Müther  
2. Gutachter:                  Professor Dr. med. C. J. Lüke

#### Erklärung

Ich erkläre hiermit, dass ich die vorliegende Dissertationsschrift ohne unzulässige Hilfe Dritter und ohne Benutzung anderer als der angegebenen Hilfsmittel angefertigt habe; die aus fremden Quellen direkt oder indirekt übernommenen Gedanken sind als solche kenntlich gemacht.

Bei der Auswahl und Auswertung des Materials sowie bei der Herstellung des Manuskriptes habe ich Unterstützungsleistungen von folgenden Personen erhalten:

Herrn Professor Dr. med. P. S. Müther und Herrn Professor Dr. med. S. Fauser

Weitere Personen waren an der geistigen Herstellung der vorliegenden Arbeit nicht beteiligt. Insbesondere habe ich nicht die Hilfe einer Promotionsberaterin/eines Promotionsberaters in Anspruch genommen. Dritte haben von mir weder unmittelbar noch mittelbar geldwerte Leistungen für Arbeiten erhalten, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertationsschrift stehen.

Die Dissertationsschrift wurde von mir bisher weder im Inland noch im Ausland in gleicher oder ähnlicher Form einer anderen Prüfungsbehörde vorgelegt.

#### Erklärung zur guten wissenschaftlichen Praxis:

Ich erkläre hiermit, dass ich die Ordnung zur Sicherung guter wissenschaftlicher Praxis und zum Umgang mit wissenschaftlichem Fehlverhalten (Amtliche Mitteilung der Universität zu Köln AM 24/2011) der Universität zu Köln gelesen habe und verpflichtete mich hiermit, die dort genannten Vorgaben bei allen wissenschaftlichen Tätigkeiten zu beachten und umzusetzen.

Köln, den 15.03.2022

Unterschrift:



Die dieser Arbeit zugrunde liegenden Untersuchungsdaten wurden im Rahmen einer prospektiven Beobachtungsstudie im Zentrum für Augenheilkunde der Uniklinik Köln ermittelt.

Die dieser Arbeit zugrunde liegenden ophthalmologischen Untersuchungen wurden ohne meine Mitarbeit im Zentrum für Augenheilkunde der Uniklinik Köln mit der Unterstützung der Orthoptistinnen Susanne Nelles und Erica Menrath ermittelt.

Die Proben für die angegebenen Untersuchungen wurden im Zentrum für Augenheilkunde der Uniklinik Köln durch die Operateure gewonnen und durch mich selbst weiter versorgt.

Die in dieser Arbeit angegebenen Experimente sind nach entsprechender Anleitung gemeinsam mit Herrn Professor Dr. med. P. S. Mütter ausgeführt worden.

Die statistische Aufarbeitung der Daten erfolgte in Zusammenarbeit mit Herrn Professor Dr. med. P. S. Mütter und Herrn Professor Dr. med. S. Fauser.

# Danksagung

An dieser Stelle möchte ich allen beteiligten Personen herzlich danken, die mich bei der Anfertigung dieser Dissertation unterstützt haben.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Professor Dr. med. Sascha Fauser für die Hilfestellung und die konstruktive Kritik bei der Datenakquise. Seine Ratschläge waren ebenfalls bei der Fertigstellung der Dissertationsschrift entscheidend.

Meinem Doktorvater, Herrn Professor Dr. med. Philipp Mütter, möchte ich von Herzen für seine engagierte Einarbeitung, die stets aufmerksame Betreuung und die enorme Unterstützung bei der Durchführung der gesamten Arbeit danken.

Außerdem möchte ich meinen ehemaligen Kolleginnen und Kollegen der Forschungsgruppe am Zentrum für Augenheilkunde der Uniklinik Köln, insbesondere Dr. med. Katharina Dröge, Priv.-Doz. Dr. med. Manuel Hermann, Dr. med. Robert Hörster, Erica Menrath, Susanne Nelles, Dr. med. vet. Ulrike Viebahn, meinen Dank für das angenehme Arbeitsklima und für die produktive Zusammenarbeit aussprechen.

Bei dieser Gelegenheit danke ich Dr. med. Yussor Al-Baldawi und Dr. med. Vasilena Sitnilska für ihre innige Freundschaft. Ihre Anregungen, Motivation und Vorbildlichkeit haben mein ganzes Studium geprägt.

Besonderer Dank gebührt meinen Eltern für ihre bedingungslose und uneingeschränkte Unterstützung in jeder Phase meines Lebens. Bei meiner Schwester, Julia Schwabecker PhD, möchte ich mich für die produktiven Gespräche und den stetigen Zuspruch während meines Medizinstudiums bedanken.

Zu guter Letzt möchte ich mich ausdrücklich bei meinem Ehemann, Jude Formambuh, und meinem Sohn, Alexander Neba Formambuh, für ihren verlässlichen Beistand und immerwährende Zuversicht bedanken. Sie geben jedem Tag meines Lebens einen Sinn.

# Inhaltsverzeichnis

<b>Abkürzungsverzeichnis</b>	<b>7</b>
<b>1. Einleitung</b>	<b>8</b>
1.1 Altersabhängige Makuladegeneration	10
1.1.1 Klassifikation	10
1.1.2 Pathogenese	10
1.1.3 Ursachen und Risikofaktoren	12
1.1.4 Diagnostik	12
1.2 Choroidale Neovaskularisation	14
1.2.1 Pathogenese	14
1.2.2 Einteilung	14
1.3 Vaskulärer endothelialer Wachstumsfaktor	16
1.3.1 VEGF-Rezeptoren	16
1.4 Therapie der neovaskulären AMD	17
1.4.1 Anti-VEGF-Medikamente	17
1.4.2 Behandlungsstrategien	19
1.5 Aflibercept	21
1.5.1 Präklinische und klinische Studien	21
1.5.2 Pharmakologie	22
1.6 Zielsetzung	25
<b>2. Material und Methoden</b>	<b>26</b>
2.1 Patientenkollektiv	26
2.2 Ein- und Ausschlusskriterien	26
2.3 Diagnose und Behandlung	26
2.4 Messung von VEGF im Kammerwasser	27
2.5 Materialien	28
2.6 Statistik	29
<b>3. Ergebnisse</b>	<b>30</b>
<b>4. Diskussion</b>	<b>34</b>
4.1 Mittlere VEGF-Suppressionszeit von Aflibercept	34

4.2	Stabilität der individuellen VEGF-Suppressionszeiten	35
4.3	Einschränkung der Studie	37
4.4	Nutzen der Studie	38
<b>5.</b>	<b>Zusammenfassung</b>	<b>39</b>
<b>6.</b>	<b>Literaturverzeichnis</b>	<b>40</b>
<b>7.</b>	<b>Vorabveröffentlichung von Ergebnissen</b>	<b>52</b>
<b>8.</b>	<b>Anhang</b>	<b>53</b>
8.1	Abbildungsverzeichnis	53
8.2	Tabellenverzeichnis	53
<b>9.</b>	<b>Lebenslauf</b>	<b>54</b>

## Abkürzungsverzeichnis

AMD	altersabhängige Makuladegeneration
AREDS	<i>Age-Related Eye Disease Study</i>
ARMS2	<i>Age-Related Maculopathy Susceptibility 2</i>
BCVA	<i>Best Corrected Visual Acuity</i>
CATT	<i>Comparison of Age-Related Macular Degeneration Treatments Trials</i>
CLEAR-IT	<i>Clinical Evaluation of Anti-angiogenesis in the Retina Intravitreal Trial</i>
CNV	choroidale Neovaskularisation
ETDRS	<i>Early Treatment Diabetic Retinopathy Study</i>
ELISA	<i>Enzyme-Linked Immunosorbent Assay</i>
IVOM	intravitreale operative Medikamenteneingabe
HWZ	Halbwertszeit
nAMD	neovaskuläre altersabhängige Makuladegeneration
PIGF	<i>Placental Growth Factor</i>
PK/PD	Pharmakokinetik und Pharmakodynamik
PRN	<i>Pro-re-nata</i>
RPE	retinales Pigmentepithel
SD-OCT	<i>Spectral-Domain Optical Coherence Tomography</i>
T&E	<i>Treat-and-Extend</i>
VEGF	<i>Vascular Endothelial Growth Factor</i>
VEGFR	<i>Vascular Endothelial Growth Factor Receptor</i>
VIEW	<i>VEGF Trap-Eye: Investigation of Efficacy and Safety in Wet AMD</i>
xMAP	<i>unknown (x) Multi Analyte Profiling</i>

## 1. Einleitung

Die altersabhängige Makuladegeneration (AMD) ist mit einer weltweiten Prävalenz von 8,69 % die häufigste Erblindungsursache in den Industrienationen (1). Die Prävalenz von AMD nimmt mit dem Alter bei allen Ethnien und in allen geografischen Regionen zu, und die weltweite Belastung durch die AMD wird sich voraussichtlich im Zuge des demographischen Wandels in den nächsten zwei Jahrzehnten erhöhen. Im Jahr 2040 wird die weltweite Zahl von Menschen mit AMD voraussichtlich 288 Millionen erreichen (1).

Die AMD ist eine fortschreitende, chronische, multifaktorielle Erkrankung der Netzhaut, die zu einer Minderung der Sehfähigkeit bis hin zur Erblindung vor allem bei Menschen über 60 Jahren führt (2, 3). Die AMD schreitet von frühen zu intermediären Stadien voran und kann anschließend in zwei fortgeschrittene Hauptformen unterteilt werden: die trockene Form, gekennzeichnet durch geographische Atrophie, und die feuchte Form, auch exsudative oder neovaskuläre AMD (nAMD) genannt, gekennzeichnet durch choroidale Neovaskularisation (CNV) (4). Obwohl bei nur 20 % der Patienten mit AMD eine nAMD diagnostiziert wird, verursacht sie in 90 % der Fälle einen Sehverlust und ist derzeit nicht heilbar (5, 6).

Das Hauptziel bei der Behandlung der nAMD ist die Stabilisierung der Sehschärfe, damit der Patient seine Unabhängigkeit im Alltag möglichst lange behalten kann. Der Behandlungsansatz basiert auf der Hemmung des vaskulären endothelialen Wachstumsfaktors (VEGF), der wesentlich zur Entwicklung der CNV beiträgt (5). Die CNV ist eine pathologische Form der Angiogenese, die zu einem Austritt von Flüssigkeit führt, die sich intraretinal, subretinal oder unterhalb des retinalen Pigmentepithels (RPE) ansammelt (2). Das Behandlungsziel liegt in der Inaktivierung der neovaskulären Membran. Die pathologische Angiogenese wird durch die intravitreale Anti-VEGF-Therapie supprimiert. Die Entstehung intra- und subretinaler Flüssigkeit kann dadurch verringert werden (6).

Im Jahr 2006 wurde das erste Anti-VEGF-Medikament zur Therapie der nAMD zugelassen. Dieser Therapieansatz hat die Behandlung der nAMD revolutioniert und es wurden große Therapieerfolge erzielt (3). Heutzutage hat sich die intravitreale Anti-VEGF-Therapie als Behandlungsstandart der nAMD etabliert und es gibt mehrere auf dem Markt zugelassene Wirkstoffe, die für die nAMD-Behandlung zur Auswahl stehen (7). Die verschiedenen Anti-VEGF-Wirkstoffe unterscheiden sich hinsichtlich ihrer pharmakodynamischen und pharmakokinetischen (PD/PK) Eigenschaften. Von der Kenntnis dieser Eigenschaften wird sich erhofft, die Wirkdauer dieser Medikamente genauer voraussagen zu können, damit im klinischen Alltag individualisierte Behandlungskonzepte zur optimierten Patientenversorgung etabliert werden können (8).



Aflibercept ist seit 2012 in Deutschland zur Behandlung von nAMD zugelassen. In dieser Arbeit werden die intraokularen VEGF-Suppressionszeiten in der Vorderkammer unter laufender Aflibercept-Therapie gemessen, um die intraokulare Pharmakokinetik von Aflibercept besser zu verstehen. Die Kenntnis der pharmakologischen Aktivität im menschlichen Auge könnte dabei helfen, die durch PD/PK-Modelle empfohlenen Behandlungsintervalle zu überprüfen und individualisierte Behandlungskonzepte festzulegen.

## 1.1 Altersabhängige Makuladegeneration

### 1.1.1 Klassifikation

Bei der AMD zeigt sich klinisch ein äußerst variables Krankheitsbild, weshalb weltweit mehrere Klassifikationssysteme vorliegen (9-12). Das Klassifikationssystem der *Age-related Eye Disease Study* (AREDS) ist international anerkannt und wurde in den letzten Jahren am häufigsten benutzt (11, 13). Im Jahr 2013 wurde auf Basis der AREDS-Daten durch ein internationales Komitee bestehend aus 31 Experten (*Beckman Initiative for Macular Research Classification Committee*) ein leicht modifiziertes klinisches Klassifikationsschema der AMD entwickelt. In Tabelle 1 findet sich eine Übersicht über dieses Klassifikationssystem der AMD (14, 15).

**Tabelle 1:** Klinisches Klassifikationssystem der AMD nach dem AMD-Klassifikationskomitee der Beckman-Initiative für Makula-Forschung

Klassifikation der AMD	Definition (bewertet innerhalb von 2 Papillendurchmessern um die Fovea in einem von beiden Augen)
Keine Altersveränderungen	Keine Drusen und keine AMD-Pigmentveränderungen*
Normale Altersveränderungen	Nur Drupelets (kleine Drusen $\leq 63 \mu\text{m}$ ) und keine AMD-Pigmentveränderungen*
Frühe AMD	Mittlere Drusen $> 63 \mu\text{m}$ und $\leq 125 \mu\text{m}$ und keine AMD-Pigmentveränderungen*
Intermediäre AMD	Große Drusen $> 125 \mu\text{m}$ und/oder jegliche AMD-Pigmentveränderungen*
Späte AMD	<b>Neovaskuläre AMD</b> und/oder jegliche geographische Atrophie
*AMD-Pigmentveränderungen = jede definitive Hyper- oder Hypopigmentierung assoziiert mit mittleren oder großen Drusen, aber nicht assoziiert mit anderen bekannten Netzhauterkrankungen	

Die Unterteilung im klinischen Sprachgebrauch in ‚trockene‘ und ‚feuchte‘ AMD ist leicht irreführend. So sind sowohl Drusen des Früh- und Intermediärstadiums als auch die geographische Atrophie des Spätstadiums nichtexsudative, also ‚trockene‘ Manifestationsformen. Als ‚feuchte‘ AMD wird die neovaskuläre AMD (nAMD) bezeichnet (16).

### 1.1.2 Pathogenese

Für die Entstehung einer AMD sind folgende Gewebeschichten des Auges entscheidend: das retinale Pigmentepithel (RPE), die Bruch-Membran und die Choriokapillaris (17). Bei der Choriokapillaris handelt es sich um eine feine Kapillarschicht der Aderhaut, die unmittelbar an die Bruch-Membran angrenzt. Die Zellen des RPE bilden eine einlagige Zellschicht zwischen der Bruch-Membran und den

Photorezeptoren. Zu den Funktionen des RPEs gehören der Abbau von Photorezeptoraußensegmenten, die Transport- und Barrierefunktion zwischen Aderhaut und Photorezeptoren sowie die Sekretion von Wachstumsfaktoren und Zytokinen (16). Im Alter kommt es zu einer Überlastung der metabolisch hochaktiven RPE-Zellen. Sie akkumulieren lebenslang Lipofuszin, das aus den Stoffwechselabbauprodukten der Netzhautzellen entsteht. Diese Lipofuszinablagerungen führen im Verlauf unter bestehendem oxidativen Stress zu einer weiteren Schädigung des RPEs (18). Ebenfalls kommt es zu einer zunehmenden Verdickung der Bruch-Membran, die durch lebenslange Einlagerung von Molekül- und Zellresten entsteht. Der Diffusionswiderstand nimmt dadurch kontinuierlich zu und resultiert in einem verminderten Stoffwchelaustausch zwischen RPE und Aderhaut. Dieser Prozess kann wahrscheinlich auch den Transport von Wachstumsfaktoren beeinflussen, die im RPE gebildet wurden. Die extrazellulären Ablagerungen der Abbauprodukte unter dem RPE werden **Drusen** genannt. Kleine Drusen gehören zu den normalen Veränderungen im Alter. Bei einer AMD treten sie allerdings früher auf und sind in ihrer Größe und Anzahl deutlicher ausgeprägt. Die Progression von AMD korreliert stark mit der Erscheinungsform von Drusen (16, 17).

**Früh- und Intermediärstadien** der AMD sind durch mittelgroße und große Drusen gekennzeichnet. (17). Diese Stadien betreffen etwa 80–90 % der AMD-Patienten und gehen mit einer relativ guten Sehschärfe einher (16). Im **Spätstadium** können sich zwei Formen einer AMD entwickeln – die neovaskuläre AMD und die geographische Atrophie. Diese können sowohl einzeln als auch kombiniert auftreten. In einer Studie mit einer medianen Follow-up-Periode von 6,3 Jahren entwickelten etwa 10 % der Patienten mit einer frühen oder intermediären AMD eine neovaskuläre AMD im Verlauf (19).

**Die geographische Atrophie** macht ungefähr ein Drittel aller AMD-Fälle im Spätstadium aus. Dabei gehen sowohl der RPE als auch die zusammenhängenden Bereiche der Photorezeptoren und der Choriokapillaris zugrunde. Die Fovea kann von der Atrophie lange ausgespart bleiben. Die geographische Atrophie dehnt sich mit der Zeit langsam aus. Für diese Spätform ist derzeit noch keine wirksame Therapie verfügbar (20).

**Die neovaskuläre AMD** ist die häufigste Spätform und auch die häufigste Ursache für einen Verlust der zentralen Sehschärfe. Sie macht 10–20 % der AMD-Fälle aus, schreitet jedoch rascher fort und führt in 80–90 % der Fälle zu einem schweren Sehverlust (16). Die nAMD ist durch choroidale Neovaskularisation (CNV) charakterisiert. Dabei kommt es zum Wachstum neuer, pathologischer Gefäße aus der Aderhaut durch die geschädigte Bruch-Membran unter dem RPE. Ein unreifer Aufbau dieser Gefäße neigt zu Leckagen und Blutungen, daher kommt es im Verlauf zu

Abhebungen des RPEs, Rissen des RPEs, subretinalen Blutungen und Fibrosierungen (14, 17). Die nAMD ist somit die aggressivere Form der AMD, die Blindheit verursachen kann. Bei einer konsequenten Behandlung kann das Fortschreiten der nAMD allerdings verlangsamt und die Sehschärfe stabilisiert werden (21).

### 1.1.3 Ursachen und Risikofaktoren

Im Laufe des Lebens treten in Rahmen natürlicher Alterungsprozesse Veränderung auch am Augenhintergrund auf. Dabei spielen genetische Faktoren ebenso eine Rolle wie Umwelteinflüsse. Zu den wichtigsten Prädispositionsgenen, deren Polymorphismen bei über 60 % der schweren AMD-Erkrankungsfälle beteiligt sind, zählen der Komplementfaktor H und ARMS2 (*Age-Related Maculopathy Susceptibility 2*). Das ARMS2-Genprodukt ist ein mitochondriales Protein, das für den Umgang mit oxidativem Stress in der Netzhaut eine Rolle spielt (22). Hinsichtlich der Umwelteinflüsse stellt das Rauchen den am besten beeinflussbaren Risikofaktor dar. Andere Risikofaktoren sind Body-Mass-Index, Kataraktchirurgie und systemische Hypertonie. Antioxidantien, Zink und Omega-3-Fettsäuren sind bedeutende Schutzfaktoren (16).

### 1.1.4 Diagnostik

Die nAMD ist eine häufige Diagnose in deutschen ophthalmologischen Kliniken. Die Früherkennung von nAMD würde einen früheren Start der Therapie ermöglichen, sodass bessere therapeutische Ergebnisse erzielt werden könnten (23).

Die Bestimmung der **Sehkraft** erfolgt mit Hilfe genormter Sehprobentafeln mit immer kleiner werdenden Buchstaben. Die Verschlechterung der Sehkraft wird beim Verlust von Zeilen oder Buchstaben quantitativ bestimmt. Die Sehschärfe mit optimaler Brillen- oder Kontaktlinsenkorrektur, die den höchsten Visuswert ergibt, wird als die ‚Sehschärfe mit bestmöglicher Korrektur‘ (*Best Corrected Visual Acuity*, **BCVA**) bezeichnet. In klinischen Studien wird zur Bestimmung der Sehkraft die Methode nach dem Protokoll der *Early Treatment Diabetic Retinopathy Study* (**ETDRS**) als Goldstandard verwendet. Die Sehkraft wird hier mit Hilfe von ETDRS-Tafeln ermittelt, wobei es für jedes Auge eine eigene ETDRS-Tafel gibt. Die weiße hintergrundbeleuchtete ETDRS-Tafel enthält pro Reihe fünf schwarze Buchstaben, die von oben nach unten kleiner werden. Das Ergebnis der ETDRS-Visusbestimmung wird auch ETDRS-Score genannt und spiegelt die Anzahl der gelesenen Buchstaben wider. Der ETDRS-Score wird nach einem an die bestimmte Studie angepassten Auswertungsprotokoll ermittelt (24).

Nach der Bestimmung der Sehkraft wird eine **Ophthalmoskopie** durchgeführt, um die anatomischen Veränderungen am Augenhintergrund einschließlich Makula erkennen zu können.

Für die Diagnose und zur Differenzierung einer nAMD ist eine retinale **Fluoreszenzangiographie** unerlässlich und sollte für die erstmalige Indikationsstellung einer Anti-VEGF-Therapie durchgeführt werden. In den Fundusphotographien wird das Gefäßsystem der Netzhaut dargestellt. Dadurch wird es möglich, Muster, Begrenzungen, Zusammensetzung und Lokalisierung der CNV relativ zum Zentrum der Fovea zu ermitteln. Auch der Erfolg der Therapie kann durch die Abnahme der Leckage in der Fluoreszenzangiographie verfolgt werden (25).

Die **SD-OCT** (*Spectral-Domain Optical Coherence Tomography*) ermöglicht eine zweidimensionale Querschnittsdarstellung der Netzhaut. Die hohe Auflösung erlaubt eine Differenzierung einzelner Netzhautschichten. Dadurch können intraretinale, subretinale oder subpigmenteptheliale Flüssigkeit und andere morphologische Veränderungen identifiziert werden. Die SD-OCT ist ein zuverlässiges Instrument zur Beurteilung der CNV-Aktivität, das sich auch zur Überwachung des Ansprechens auf die Anti-VEGF-Therapie als nützlich erwiesen hat, und wird zur Bestimmung der Notwendigkeit einer erneuten Behandlung eingesetzt (3).

Das **Amsler Gitter** kommt als Selbsttest für Patienten zum Einsatz, um schnell zentrale Gesichtsfeldausfälle zu ermitteln. Hochrisikopatienten für AMD profitieren von diesem Selbsttest, da die Methode eine frühere CNV-Erkennung erlaubt als die subjektive Symptomerkenntnis des Visusverlustes (26).

## 1.2 Choroidale Neovaskularisation

### 1.2.1 Pathogenese

Der genaue Mechanismus der CNV-Entstehung ist bis heute nicht vollständig geklärt und demnach noch Gegenstand intensiver Forschung. Für die normale Zellfunktion der äußeren Netzhaut sind physiologische Konzentrationen von Wachstumsfaktoren, Zytokinen und metabolischen Substraten erforderlich (27). Das RPE und die Gliazellen spielen für die Gesundheit der Netzhaut eine entscheidende Rolle, da sie den größten Anteil an den Wachstumsfaktoren sezernieren (28, 29). Einer der wesentlichen Mechanismen bei der CNV-Entstehung ist das Zusammenspiel der pro- und anti-angiogenen Faktoren. Es kommt zu einem Ungleichgewicht mit einer vermehrten Freisetzung pro-angiogener Faktoren, die das Wachstum neuer brüchiger Blutgefäßen unterhalb der Netzhaut stimulieren. Hier ist insbesondere der vaskuläre endotheliale Wachstumsfaktor (*Vascular Endothelial Growth Factor* oder **VEGF**) hervorzuheben. Neben VEGF ist auch der Plazenta-Wachstumsfaktor (*Placental Growth Factor* oder **PlGF**) an der Entwicklung von CNV beteiligt (30). Die vorgeschädigte Bruch-Membran ermöglicht das Einwachsen der Kapillaren aus der Choriokapillaris unter das RPE. Diese Kapillare differenzieren weiter zu Arteriolen und Venolen und breiten sich zuerst **subpigmentepithelial** aus. Da die neuen Gefäße von fibrösem Gewebe umgeben sind, kommt es schließlich zur Ausbildung einer **fibrovaskulären Membran**. Das RPE reagiert mit einer Proliferation darauf und umgibt die neugebildeten Gefäße (31). Dekompensiert jedoch das RPE, können die Gefäße dieses durchwachsen und sich **subretinal** ausbreiten (32). Diese pathologischen Gefäße können die Blut-Retina-Schranke nicht aufrechterhalten, da sie kein intaktes Endothel besitzen. Durch die brüchige Gefäßwand kommt es zu einem Austritt von Flüssigkeit, Blut und Lipiden (33). Im betroffenen Bereich entstehen eine Fibrosierung und eine disziforme Narbe (Junius-Kuhnt-Makulopathie). Abhängig vom Ausmaß der Narbe degenerieren ebenfalls die angrenzenden RPE-Zellen und die Photorezeptoren. Eine solche Narbe kann relativ klein, begrenzt und fibrotisch-trocken sein, sie kann aber auch durch fortlaufende Exsudation zu einer zentralen serösen Netzhautablösung führen (34).

### 1.2.2 Einteilung

Die CNV wurde früher nach dem Darstellungsmuster in der Fluoreszenzangiographie charakterisiert und es wurde die ‚klassische‘ von der ‚okkulten‘ CNV unterschieden. Nach diesen Leckagemustern konnte in der Vergangenheit die laserbasierte Therapie gesteuert werden (35).

Die aktuelle Einteilung in Typ-1 und Typ-2-CNV basiert auf einer von Gass entwickelten histologischen Klassifikation der anatomischen Lage von CNV unterhalb oder oberhalb

des PREs (36). Freund et al. zeigten, dass diese CNV-Formen mit Hilfe der Fluoreszenzangiographie, kombiniert mit SD-OCT, differenziert werden können, und erweiterte die Klassifikation um eine dritte Einheit, die Typ-3-Neovaskularisation (NV) (37).

**Typ-1-CNV** befindet sich unterhalb des RPEs, wobei sich in der Fluoreszenz-Angiographie eine **okkulte** Leckage zeigt. Die polypoidale choroidale Vaskulopathie ist ein Subtyp der Typ-1-CNV, der durch das Vorhandensein von polypenähnlichen aneurysmatischen Erweiterungen des verzweigten Gefäßnetzwerks gekennzeichnet ist.

**Typ-2-CNV**, der angiografisch ‚**klassische**‘ Typ, verläuft durch das RPE und befindet sich oberhalb des RPEs im subretinalen Raum.

**Typ-3-NV** wird als **retinale angiomatöse Proliferation** definiert, was einer Neovaskularisation entspricht, die sich innerhalb der neurosensorischen Netzhaut entwickelt und posterior in den subretinalen Raum fortschreitet (37).

Außerdem kann die Lage der CNV in Bezug auf das Zentrum der fovealen avaskulären Zone klassifiziert werden. Die **subfoveale** CNV liegt unter dem fovealen Zentrum, die **juxtafoveale** CNV befindet sich weniger und die **extrafoveale** CNV mehr als 200 µm vom fovealen Zentrum entfernt (16).

### 1.3 Vaskulärer endothelialer Wachstumsfaktor

Derzeit gilt VEGF als wichtigster pro-angiogener Faktor für die Bildung neuer Gefäße bei CNV (38). Die Rolle weiterer Faktoren wird derzeit noch untersucht. Es gibt sowohl pro-angiogene Faktoren wie PIGF, *Platelet Derived Growth Factor*, *Transforming Growth Factor Beta 1*, *Fibroblast Growth Factor* und *Angiogenin*, als auch anti-angiogene Faktoren, wie Endostatin, Thrombospondin und der *Pigment Epithelium Derived Factor* (39). In Experimenten an transgenen Mäusen konnte nachgewiesen werden, dass VEGF zwar das Wachstum der Gefäße initiiert, der Gefäßdurchbruch durch die Bruchmembran aber von anderen Strukturen beeinflusst wird (40). Hier sind sowohl vaskuläre Strukturen, wie Endothelzellen und Perizyten, als auch RPE-Zellen, Makrophagen, Lymphozyten und Fibroblasten beteiligt (41).

Die VEGF-Genfamilie besteht aus sechs Mitgliedern, VEGF-A, VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D, viralem VEGF-E und PIGF. **VEGF-A** ist der am besten untersuchte Wachstumsfaktor dieser Familie. Er lässt sich in verschiedene Isoformen unterteilen, die je nach Anzahl der enthaltenen Aminosäuren bezeichnet werden. Die vier wichtigsten Varianten sind VEGF-121, VEGF-165, VEGF-189 und VEGF-206. Die physiologisch aktivste Isoform **VEGF-165** wird auch am häufigsten sezerniert (42). VEGF-A wird im Folgenden, wenn nicht anders angegeben, als VEGF bezeichnet.

#### 1.3.1 VEGF-Rezeptoren

Die Wirkung von VEGF wird durch spezifische Rezeptoren vermittelt. Es sind derzeit drei verschiedene VEGF-Rezeptoren bekannt: VEGFR1, VEGFR2 und VEGFR3. Die Aktivierung verschiedener VEGF-Rezeptoren hat unterschiedliche zelluläre Wirkungen. VEGF-C und VEGF-D fördern die Lymphangiogenese durch Bindung an **VEGFR3**. Die Bindung von VEGF an **VEGFR2** ist in erster Linie für die Stimulierung der Proliferation und Migration von Endothelzellen im Zusammenhang mit der Angiogenese verantwortlich (43, 44). Der dritte VEGF-Rezeptor, **VEGFR1**, wurde als Köderrezeptor charakterisiert, der die VEGF-Signalgebung negativ regulieren kann, indem er verhindert, dass VEGF an VEGFR2 bindet (45). Außerdem erhöht VEGF die Gefäßpermeabilität stark. VEGF ist etwa 50000-mal stärker in seiner permeabilitätsinduzierenden Wirkung als Histamin, das die Permeabilität der Gefäße während Entzündungsreaktionen erhöht. Es werden fragile und hochdurchlässige Blutgefäße gebildet, denen eine Schlüsselrolle in der Pathogenese der nAMD zukommt (46).



## 1.4 Therapie der neovaskulären AMD

Bezüglich der Therapie der nAMD ergaben sich in den vergangenen zwei Jahrzehnten bedeutende Entwicklungen. Die ersten Versuche, nAMD zu behandeln, wurden mit der Laserphotokoagulation unternommen. Diese Behandlungsform wurde Anfang der 2000er Jahre durch die photodynamische Therapie ersetzt. Die Behandlung mit der photodynamischen Therapie zeigte eine stabile Sehprognose, führte aber mittel- und langfristig zu Rezidiven und damit zu einer Verschlechterung des morphologischen und klinischen Befundes. Die photodynamische Therapie wurde auch in Kombination mit intravitrealem Triamcinolon angewendet. Durch diese Behandlung konnte zwar eine Stabilisierung der Krankheitsaktivität erreicht werden, die Sehprognose war allerdings schlechter als bei einer Behandlung mit intravitrealen Anti-VEGF-Medikamenten (47, 48).

### 1.4.1 Anti-VEGF-Medikamente

Heutzutage werden zur Behandlung der nAMD vorwiegend Anti-VEGF-Medikamente eingesetzt. Dabei geht es um die Hemmung von VEGF, der für das Fortschreiten der nAMD verantwortlich ist. Die Anti-VEGF-Therapie wird mittels intravitrealer Medikamenteneingabe (**IVOM**) durchgeführt. Bei einer regelmäßigen Behandlung mit Anti-VEGF-Medikamenten kann in vielen Fällen die Sehschärfe erhalten oder sogar gesteigert werden (48).

**Pegaptanib** (Macugen®) war im Jahr 2004 in den USA und 2006 in Europa das erste zugelassene Anti-VEGF-Medikament, dessen Wirksamkeit zur Behandlung von nAMD in klinischen Studien belegt werden konnte und das die Behandlung von nAMD revolutionierte (49). Hierbei handelt es sich um ein Ribonukleinsäure-Aptamer, das spezifisch und hochaffin an VEGF-165 bindet und so die pro-angiogenetische Wirkung verhindert (50). Die Verwendung von Pegaptanib wurde jedoch schnell durch die neuen Anti-VEGF-Substanzen ersetzt, die ein breiteres Spektrum von VEGF-Isoformen antagonisieren können.

In Deutschland sind derzeit folgende Anti-VEGF-Substanzen zugelassen: Ranibizumab, Aflibercept und Brolucizumab. Bevacizumab wird bei der nAMD-Behandlung off-label verwendet. Diese Medikamente sind nach den aktuellen Studienergebnissen mit einem Beobachtungszeitraum von zwei Jahren in ihrer Effektivität, die Sehschärfe zu verbessern und die Netzhautdicke zu reduzieren, als ähnlich wirksam zu betrachten (25).

**Ranibizumab** (Lucentis®) ist seit 2006 in den USA und seit 2007 in Europa zur Behandlung der nAMD zugelassen. Seine Wirksamkeit und Sicherheit wurden in den multizentrischen, randomisierten, kontrollierten Phase-III-Studien MARINA (*The Minimally Classic/Occult Trial of the Anti-VEGF Antibody Ranibizumab in the Treatment*

of Neovascular AMD) (51) und ANCHOR (*Anti-VEGF Antibody for the Treatment of Predominantly Classic Choroidal Neovascularization in AMD*) (52) bewiesen. Ranibizumab ist ein rekombinantes, humanisiertes, monoklonales Antikörperfragment (Fab), das mit hoher Affinität an verschiedene VEGF-A-Isoformen bindet, wie etwa VEGF-165, VEGF-121, VEGF-101. Dadurch erfolgt keine Bindung von VEGF an seine Rezeptoren und das Signal zur Neovaskularisation findet nicht mehr statt. Mit einer Dosierung von 0,5 mg alle vier Wochen konnte mit Ranibizumab bei 95–96 % der Studienteilnehmer ein Sehverlust von mehr als drei Linien verhindert werden, zusätzlich war ein Sehgewinn von 7,2 und 11,3 ETDRS-Buchstaben nach einem Jahr erkennbar (51). In den randomisierten Studien für Ranibizumab waren Endophthalmitis (0,6 bis 1,3 %) und eine schwere Uveitis (1,3 %) die häufigsten Nebenwirkungen. Ein erhöhter intraokularer Druck löste sich innerhalb einer Stunde nach der Injektion auf (53, 54).

**Aflibercept** (Eylea®), anfangs auch ‚VEGF-Trap-Eye‘ genannt, wurde im Jahr 2011 in den USA und 2012 in der Europäischen Union zur nAMD-Behandlung zugelassen. Die Zulassung erfolgte nach zwei parallel durchgeführten randomisierten klinischen Studien der Phase III (VIEW 1 und VIEW 2). In diesen Studien wurde Aflibercept alle acht Wochen intravitreal injiziert und war in seiner Wirksamkeit und Sicherheit mit dem monatlich injizierten Ranibizumab vergleichbar (55). Heute gibt es weitere überzeugende Belege, dass Aflibercept zur Behandlung von nAMD der Ranibizumab-Therapie nicht unterlegen ist (56, 57). Die Daten aus den klinischen Studien für Aflibercept haben Nebenwirkungen wie Augenschmerzen, Bindehautblutungen, Mouches volantes, Kataraktbildung und einen erhöhten intraokularen Druck demonstriert (55).

**Bevacizumab** (Avastin®) wird seit vielen Jahren zur Off-Label-Behandlung der nAMD verwendet. Die initiale Zulassung im Jahr 2005 bestand nur für die intravenöse Behandlung des Kolonkarzinoms und bis jetzt erfolgte noch keine Zulassung für eine intravitreale Gabe. Es handelt sich um einen humanisierten rekombinanten monoklonalen Antikörper. In der randomisierten CATT-Studie (*Comparison of Age-Related Macular Degeneration Treatments Trials*) wurde gezeigt, dass Bevacizumab ebenso gut und mit den vergleichbaren Nebenwirkungen wie Ranibizumab wirkt (58, 59). Bevacizumab ist auch in der VEGF-Hemmung Ranibizumab nicht unterlegen (60).

**Brolucizumab** (Beovu®) ist die neueste Anti-VEGF-Substanz, die im Jahr 2019 in den USA und Anfang 2020 in der Europäischen Union zugelassen wurde. Es handelt sich um ein humanisiertes einzelkettiges Antikörperfragment mit hoher Affinität zu VEGF-A. Das Injektionsintervall beträgt zwölf Wochen, mit der Option, dieses bei Krankheitsaktivität auf acht Wochen zu verkürzen (61). In den HAWK- und HARRIER-Studien war jeder Brolucizumab-Arm in Woche 48 dem zweimonatlich injizierten

Aflibercept nicht unterlegen (62). Bei Brolicizumab wurde eine erhöhte Inzidenz von intraokularen Entzündungen, retinalen Vaskulitiden und retinalen Arterienverschlüssen beobachtet (63).

#### 1.4.2 Behandlungsstrategien

Die Anti-VEGF-Medikamente wurden in den Zulassungsstudien in festen Intervallen appliziert. Bei allen Medikamenten erfolgte die initiale Therapie mit drei IVOM in vierwöchigen Abständen. Danach wurde Ranibizumab monatlich, Aflibercept zweimonatlich und Brolicizumab dreimonatlich verabreicht. Die mit der monatlichen Ranibizumab-Therapie über 24 Monate erzielten Visusergebnisse gelten als Behandlungsstandart in Bezug auf die Effektivität für alle weiteren Studienergebnisse zur Behandlung von nAMD (25).

Anhand von Versorgungsstudien wurde allerdings offensichtlich, dass der Nutzen der Anti-VEGF-Medikamente unter den realen Bedingungen geringer ausfällt als in den Zulassungsstudien unter konsequenter Therapie mit festen Behandlungsintervallen (64). Die Wirkung der Behandlung bei festen Behandlungsintervallen war auch innerhalb der Patientenpopulation sehr unterschiedlich. Mantel et al. fanden heraus, dass nAMD-Patienten unter Behandlung mit Ranibizumab ein intrinsisches individuelles Behandlungsintervall von vier bis 14 Wochen haben, und dass dieses Behandlungsintervall bei den meisten von ihnen im Zeitverlauf relativ stabil ist (65). Daher wurde nach weiteren optimalen Behandlungsschemata gesucht, um die Patienten individueller versorgen zu können, um bessere Behandlungsergebnisse zu erzielen und die Anzahl der Injektionen nach Möglichkeit zu reduzieren (61). Heutzutage umfassen die aktuellen Behandlungsstrategien für Anti-VEGF-Wirkstoffe im klinischen Alltag in Deutschland nicht nur die Dosierung in festen Intervallen, sondern auch von der Krankheitsaktivität abhängige Injektionsserien nach dem *Pro-re-nata*-Schema (PRN) und an die Läsionsaktivität angepasste Injektionsintervalle nach dem *Treat-and-Extend*-Schema (T&E). Bei allen Behandlungsstrategien wird weiterhin eine initiale Aufsättigung mit drei IVOM in vierwöchigen Abständen durchgeführt (25).

Beim **PRN-Schema** wird nach einer Aufsättigung monatlich anhand festgelegter Kriterien entschieden, ob der Patient eine Injektion bei diesem Kontrollbesuch erhält oder nicht. Kriterien sind z. B. der Verlust von mehr als fünf Sehschärfenlinien, der Nachweis von sub- und intraretinaler Flüssigkeit im OCT oder Netzhautblutungen (61). Trotz vielversprechender Ergebnisse aus der ersten Studie führt die Behandlung nach PRN-Schema zu suboptimalen funktionellen Ergebnissen, wie in vielen Real-World-Studien in verschiedenen Ländern berichtet wurde. Ein wesentlicher Nachteil des PRN-Schemas besteht außerdem in der Notwendigkeit häufiger Nachuntersuchungen, üblicherweise alle vier Wochen (64, 66).

Beim **T&E-Schema** wird nach einer Aufsättigung auch eine regelmäßige Überwachung durchgeführt. Bei einem Kontrollbesuch wird allerdings immer eine Injektion verabreicht und das Intervall zwischen den Injektionsbesuchen kann angepasst werden. Die Krankheitsaktivität wird nach ähnlichen Kriterien wie beim PRN-Schema beurteilt. Das Behandlungsintervall wird bei Abnahme oder Stabilisierung der Krankheitsaktivität um jeweils zwei Wochen verlängert, bei Zunahme verkürzt. Das Intervall wird jedoch nie unter vier Wochen oder über zwölf (-16) Wochen festgelegt (66). Im Gegensatz zum PRN-Schema wurden mit dem T&E-Schema ähnliche Ergebnisse wie bei einer Behandlung mit festen Injektionsintervallen erzielt (61). Durch die reduzierte Behandlungsbelastung und gute Behandlungsergebnisse hat sich das T&E-Schema zu einer beliebten Behandlungsstrategie entwickelt (8).

## 1.5 Aflibercept

Aflibercept ist seit November 2012 zur nAMD-Behandlung in Deutschland zugelassen. Es gibt überzeugende Belege aus Labor- und klinischer Forschung, dass Aflibercept bei der Behandlung der nAMD wirksam ist (56, 57).

### 1.5.1 Präklinische und klinische Studien

In einer der ersten Studien wurde im Jahr 2003 die Wirkung von Aflibercept auf die laserinduzierte CNV bei den transgenen Mäusen untersucht. Durch die subkonjunktivale oder intravitreale Applikation des Wirkstoffes konnte eine Suppression der CNV erreicht werden (67). Viele Jahre später wurde seine Wirksamkeit auch bei nichtmenschlichen Primaten nachgewiesen (68).

In der ersten randomisierten, multizentrischen, placebo-kontrollierten **Phase-I-CLEAR-IT-Studie** (*Clinical Evaluation of Anti-angiogenesis in the Retina Intravitreal Trial*) wurde die **intravenöse** Wirksamkeit von Aflibercept bei Patienten mit nAMD untersucht. Dabei konnte im Mittel eine 60%-Reduktion der Netzhautdicke erreicht werden. Eine Veränderung der Sehschärfe konnte allerdings noch nicht nachgewiesen werden (69). In der nachfolgenden Dosisfindungsstudie wurde das Sicherheitsprofil von **intravitreal** injiziertem Aflibercept erstellt. Die größte Verbesserung der Sehschärfe wurde bei denjenigen Patienten identifiziert, die eine Aflibercept-Dosis von 1 mg oder höher erhalten haben (70).

Die Ergebnisse der **Phase-II-CLEAR-IT-2-Studie** waren ausschlaggebend für die Entscheidung, 2 mg Aflibercept alle acht Wochen zu verabreichen. Die Verbesserung der Sehschärfe war bei der Kontrolle nach acht Wochen in den beiden untersuchten Patientengruppen vergleichbar, sowohl bei Patienten, die 2 mg Aflibercept alle vier Wochen erhielten, als auch bei Patienten, die nur alle zwölf Wochen 2 mg Aflibercept erhielten. (71).

In den beiden doppelblinden, multinationalen **Phase-III-Studien VIEW 1** und **VIEW 2** (*VEGF Trap-Eye: Investigation of Efficacy and Safety in Wet AMD*) wurde prospektiv die klinische Wirksamkeit von Aflibercept in der Therapie der nAMD ausgewertet. Dabei wurde festgestellt, dass die Patienten, die alle acht Wochen 2 mg Aflibercept erhielten, die gleichen visuellen und anatomischen Ergebnisse erzielten wie die Patienten, die mit 0,5 mg Ranibizumab oder 2 mg Aflibercept alle vier Wochen behandelt wurden. Gleichzeitig haben die Patienten mit einer achtwöchigen Aflibercept-Behandlung über zwei Jahre etwa fünf Injektionen weniger erhalten. Diese Erkenntnisse führten zur Annahme, dass die Verwendung von Aflibercept für die Therapie der nAMD potenziell mit weniger Klinikbesuchen für die Patienten verbunden sein könnte (21, 55).

Nach der 52. Woche wurden die Patienten bei den VIEW-Studien bis zur 96. Woche nach einem PRN-Schema weiterbehandelt. Hier konnte festgestellt werden, dass, wenn nach einer festen Dosierung zu einem PRN-Schema gewechselt wird, daraus kleine Verluste der Sehschärfe sowie das erneute Auftreten anatomischer Veränderungen, wie z. B. Flüssigkeit in OCT, resultieren. Eine ähnliche Beobachtung wurde auch in der CATT-Studie gemacht, bei der die mittlere Visusverbesserung bei der Zweijahreskontrolle bei den Patienten mit einer festen Dosierung signifikant höher war als bei den Patienten, die nach dem PRN-Schema behandelt wurden (59).

### **1.5.2 Pharmakologie**

Pharmakokinetik (PK) und Pharmakodynamik (PD) beschreiben, welche Wechselwirkungen die Medikamente am Zielort nach einer Injektion und vor einer Elimination mit dem Körper eingehen. PK/PD-Prinzipien sind für die Optimierung von Dosierungsschemata von Bedeutung. Im Gegensatz zu systemischen Verabreichungswegen, bei denen PK und PD umfassend charakterisiert wurden, stellt die Bewertung pharmakokinetischer Parameter für ein intravitreal verabreichtes Medikament eine Herausforderung dar. Aufgrund der invasiven Natur des Verfahrens gestaltet es sich vergleichsweise komplex, periodische Proben aus der Vorderkammer oder aus dem Glaskörper zu gewinnen (8). In keiner Studie wurden die okuläre PK von Anti-VEGF-Medikamenten beim Menschen und ihre Beziehung zur Häufigkeit intravitrealer Dosen umfassend untersucht. Die Festlegung der Dosierungsschemata basiert hauptsächlich auf der Krankheitsaktivität, die durch OCT-Bildgebung oder Kontrolle der Sehschärfe beurteilt wird, und nicht auf der Pharmakokinetik der Arzneimittel. In den letzten Jahren wurden einige Studien durchgeführt, um die wesentlichen pharmakokinetischen Parameter von Anti-VEGF-Medikamenten bei verschiedenen Tierarten und Menschen zu bestimmen. Vielfältige Bestimmungsmethoden und die Probengewinnung aus unterschiedlichen Kompartimenten sowie zu uneinheitlichen Zeitpunkten erschweren allerdings den Erhalt standardisierter Werte für jedes Anti-VEGF-Medikament (72). Die PK/PD-Eigenschaften sind für das Erreichen und Aufrechterhalten von Zielkonzentrationen im hinteren Augenabschnitt nach intravitrealer Injektion ausschlaggebend und werden durch die molekularen Eigenschaften der Wirkstoffe, wie Bindungsaffinität, Molekulargewicht, Konzentration, Potenz und Ladung, bestimmt (8).

Aflibercept ist ein rekombinantes Fusionsprotein, das aus Teilen der extrazellulären Bindungsdomänen der humanen VEGF-Rezeptoren 1 und 2 besteht, die mit dem Fc-Fragment des humanen Immunglobulin G1 fusioniert sind (71). Durch diese Struktur bindet Aflibercept an alle VEGF-A-Isoformen mit einer höheren Affinität als der VEGF selbst an die VEGF-Rezeptoren. So wird die Aktivierung der VEGF-Rezeptoren

gehemmt. Außerdem ist die Affinität von Aflibercept zu VEGF-165 94-mal stärker als von Ranibizumab und etwa 120-mal stärker als von Bevacizumab (73). Der Hauptunterschied zu den anderen Anti-VEGF-Medikamenten liegt darin, dass Aflibercept auch eine Bindungsaffinität zu VEGF-B und PlGF besitzt. Darüber hinaus bindet Aflibercept auch VEGF-A- und PlGF-Isoformen von allen getesteten Säugetierarten mit ähnlich hoher Affinität, während weder Ranibizumab noch Bevacizumab Maus- oder Ratten-VEGF-A effizient binden und neutralisieren können (30, 73).

Das Molekulargewicht der Anti-VEGF-Medikamente beeinflusst deren Elimination und somit auch die Halbwertszeit (HWZ) im Glaskörper. Die Elimination von Arzneimitteln aus dem Glaskörper kann entweder durch Metabolisierung oder durch Abgabe in den systemischen Kreislauf erfolgen. Im Falle der Anti-VEGF-Medikamente scheinen sie weder einem Metabolismus noch einem Abbau im Auge zu unterliegen (74). Im systemischen Kreislauf können die Arzneimittel nach der intravitrealen Injektion auf zwei Wegen entfernt werden: auf dem anterioren Weg oder auf dem posterioren Weg. Der anteriore Weg besteht aus der Diffusion des Medikaments durch den Glaskörper in Richtung hinterer Kammer, wo es in das Kammerwasser eintritt und dann durch seinen Fluss eliminiert wird. Alle Medikamente können auf diese Weise eliminiert werden. Der posteriore Weg steht nur für Verbindungen zur Verfügung, die die Endothelien und die Epithelien der Blut-Augen-Schranke überwinden können. Diese Barrieren erlauben den Durchgang kleiner Moleküle mit lipophilen Eigenschaften (8). In verschiedenen Berichten wird davon ausgegangen, dass Anti-VEGF-Medikamente aufgrund ihrer Molekülgröße hauptsächlich über den anterioren Weg eliminiert werden und Anti-VEGF-Medikamente mit einem größeren Molekül dabei eine längere Eliminationshalbwertszeit aufweisen (75-77).

Die Halbwertszeiten von Anti-VEGF-Medikamenten wurden in unterschiedlichen Studien gemessen und sind im Allgemeinen proportional zu ihrer Molekülgröße, wie Tabelle 2 zu entnehmen ist (72). Allerdings handelt es sich bei den Halbwertszeiten um Durchschnittswerte für die Studien, und auf Patientenebene variieren die Halbwertszeiten zwischen den Individuen, was zu einer potenziell großen Bandbreite von Halbwertszeiten führt (8).

**Tabelle 2:** Molekulargewicht und Halbwertszeiten von unterschiedlichen Anti-VEGF-Medikamenten

<b>Wirkstoff</b>	<b>Molekulargewicht (kDA) (78)</b>	<b>Gemessene HWZ (Tage, Probe)</b>
Brolucizumab	26	5,1 Serum (79)
Ranibizumab	48	9 GK (80); 7,19 VK (77); 5,8 Serum (81)
Aflibercept	115	9,1 VK (82); 11,4 Serum (81)
Bevacizumab	148	9,82 VK (76)
VK = Vorderkammerprobe; GK = Glaskörperprobe		

Die PK/PD-Eigenschaften helfen, die Dauer der biologischen Aktivität der Medikamente mit Hilfe mathematischer PK/PD-Modellierung vorherzusagen. Die Halbwertszeit der jeweiligen Moleküle ist bei dieser Berechnung besonders relevant und trägt zum Ergebnis dieser Berechnung bei. Allerdings ist die Anzahl an Studien, in denen Proben aus dem Glaskörper untersucht wurden, um HWZ zu messen, sehr begrenzt, da die direkte Bestimmung der Glaskörperspiegel invasive Techniken erfordert. Aus diesem Grund muss die Vorhersage einer mathematischen PK/PD-Modellierung mit Vorsicht betrachtet werden und kann nicht auf jeden Patienten übertragen werden (8, 72).



## 1.6 Zielsetzung

Aflibercept ist neben Ranibizumab und Bevacizumab einer der drei am häufigsten verwendeten Anti-VEGF-Wirkstoffe zur Behandlung der nAMD (57). Seine höhere Bindungsaffinität zu VEGF-A und ein relativ großes Molekulargewicht deuten auf eine längere biologische Aktivität im Unterschied zu Ranibizumab und Bevacizumab. Diese Annahme wird durch die Berechnungen mit mathematischen PK/PD-Modellen unterstützt (83).

Zum Zeitpunkt der Durchführung dieser Studie lagen allerdings keine Daten vor, die die intraokulare Pharmakokinetik von Aflibercept im menschlichen Auge gemessen haben. Das empfohlene Therapieschema (Acht-Wochen-Intervalle nach Aufsättigung) basierte auf mathematisch-theoretischen Tiermodellen. Aufgrund der unterschiedlichen Anatomie, wie z. B. kleinere Glaskörpervolumina, kann die Pharmakokinetik der Arzneimittel im tierischen Auge nicht auf das menschliche Auge übertragen werden (83-85).

Diese prospektive klinische Studie wurde durchgeführt, um neue Erkenntnisse über die intraokulare Pharmakokinetik von Aflibercept zu gewinnen. Die gemessenen VEGF-Suppressionszeiten werden als Surrogatparameter benutzt, um die intraokulare biologische Aktivität von Aflibercept indirekt zu beschreiben und diese mit den Vorhersagen der PK/PD-Modelle zu vergleichen. Die Kenntnis der pharmakokinetischen Aktivität von Aflibercept im menschlichen Auge könnte dabei helfen, optimale Dosierungsintervalle bei der Behandlung von nAMD zu ermitteln.

## **2. Material und Methoden**

In der vorliegenden Arbeit wird Bezug auf die prospektive Beobachtungsstudie aus dem Zentrum für Augenheilkunde der Uniklinik Köln genommen. Diese Studie wurde bei ClinicalTrials.gov unter der Kennnummer NCT01213667 registriert und im April 2014 veröffentlicht.

### **2.1 Patientenkollektiv**

Die Studie umfasste 27 Augen von 27 Patienten, die 60 Jahre oder älter waren und eine aktive CNV bei nAMD aufwiesen. Alle Augen wurden im Zentrum für Augenheilkunde der Uniklinik Köln untersucht und behandelt. Alle Teilnehmer haben die Patienteneinwilligung unterschrieben. Die Studie wurde in Einklang mit den Grundsätzen der Deklaration von Helsinki durchgeführt. Das Studienprotokoll wurde von der Ethikkommission der Universität zu Köln unter der Referenznummer 11-027 registriert und genehmigt.

### **2.2 Ein- und Ausschlusskriterien**

Alle eingeschlossenen Patienten hatten eine aktive subfoveale oder juxtafoveale CNV bei der nAMD. Die Diagnose wurde durch Fluoreszein- und Indocyaningrün-Angiographie sowie SD-OCT (SPECTRALIS® OCT, Heidelberg Engineering GmbH, Heidelberg, Deutschland) gestellt. Die CNV-Größe (mm<sup>2</sup>) wurde aus Fluoreszenzangiographien mit Hilfe der HRA-2-Software bestimmt (Heidelberg Retina Angiograph 2, Heidelberg Engineering GmbH, Heidelberg, Deutschland). Zudem musste das Studienauge einen BCVA-Wert von  $\geq 20$  ETDRS-Buchstaben aufweisen. Zu den Ausschlusskriterien zählten eine frühere photodynamische Therapie, intraokulare Operationen (außer Kataraktoperationen), jede Behandlung mit den intraokularen Steroiden, jede Ranibizumab/Bevacizumab/Pegaptanib-Behandlung innerhalb der letzten 90 Tage und jede frühere Aflibercept-Behandlung.

### **2.3 Diagnose und Behandlung**

Bei jedem Patienten erfolgte am Anfang der Behandlung eine Aufsättigung mit drei IVOM mit jeweils 2 mg Aflibercept in einem Abstand von vier bis sechs Wochen. Nach dieser ersten Behandlungsphase wurden die Patienten monatlich untersucht. Bei den Kontrolluntersuchungen wurde eine Bestimmung der Sehschärfe mit ETDRS-Visustafel, Fundusuntersuchungen und SD-OCT durchgeführt. Die Fluoreszenzangiographie wurde nur in unklaren Fällen wiederholt. Folgende Kriterien wurden als Rezidiv oder Persistenz einer CNV festgelegt: der Nachweis einer sub- oder intraretinaler Flüssigkeit in der SD-OCT oder einer Leckage bei der Fluoreszenzangiographie, ein Verlust von ETDRS-Buchstaben bei der entsprechenden CNV-Aktivität sowie eine neue sub- oder

intraretinale Blutung. Im Fall eines Rezidivs oder einer Persistenz bei entsprechenden morphologischen Befunden im SD-OCT wurden die zusätzlichen Aflibercept-Injektionen nach dem PRN-Schema verabreicht. Die variablen Behandlungsintervalle sind ohne ein experimentelles Studiendesign durch mehrere Faktoren entstanden. Die individuell gestellten schriftlichen Behandlungsanträge wurden durch die unterschiedlichen Krankenkassen oft verzögert genehmigt. Die Patienten hatten zudem eine unterschiedlich ausgeprägte Krankheitsaktivität und die Terminierung der Kontroll- und Behandlungsuntersuchungen wurde individuell an die Patientenwünsche angepasst.

## **2.4 Messung von VEGF im Kammerwasser**

Die Vorderkammerproben wurden nur während der notwendigen Behandlung erworben. Vor jeder intravitrealen Aflibercept-Injektion wurde unter sterilen Bedingungen eine limbale Parazentese mittels einer 30-Gauge-Nadel durchgeführt und etwa 0,1 ml Vorderkammerflüssigkeit in eine Insulinspritze gewonnen. Daraufhin wurden die Vorderkammerproben sofort in die sterilen Polypropylengefäße umgefüllt, um diese bis zur Analyse in einem Kühlschrank bei -80 °C aufzubewahren. Das Verfahren der Probeentnahme gefolgt von einer Aflibercept-Injektion wurde normalerweise durch drei Chirurgen durchgeführt. Da kein Chirurg bestimmten Patienten zugeordnet wurde, sind mögliche Unterschiede in den Dosierungen ausgeschlossen.

Die Analyse der Vorderkammerproben erfolgte mit der xMAP®-(*unknown Multi Analyte Profiling*)-Technologie der Firma Luminex® (Luminex Corporation, Austin, Texas, USA). Diese Technologie wurde als Alternative zum ELISA (*Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*) entwickelt und ist ein Bead-basierter Immunoassay, der den Multiplex-Nachweis von bis zu 100 Analyten in einer einzigen Probe gleichzeitig ermöglicht. Das notwendige Probenvolumen kann dabei sehr klein sein (25 bis 50 µl), was bei der Messung der Vorderkammerproben von großer Bedeutung ist. Anders als bei ELISA findet bei diesem Immunoassay die Bildung eines Antigen-Antikörperkomplexes auf den kugelförmigen Beads in einer Suspension und nicht auf der flachen Oberfläche einer Platte statt. Beads sind mikroskopisch kleine Polystyrolpartikel, die einen unterschiedlichen Fluoreszenzfarbton haben und mit spezifischen Antikörpern beschichtet sind. Nachdem die Beads mit den Standards und den Proben in die Mikrowellplatten pipettiert wurden, binden sich die Analyte an die Antikörper auf der Oberfläche der Beads. Das überschüssige Reagenz wird gewaschen und die Proben werden dann mit einer Mischung aus biotinylierten Nachweisantikörpern und einem Streptavidin-Phycoerythrin-Reporter inkubiert. Die Auswertung erfolgt basierend auf der Methode der Durchflusszytometrie mit einem Luminex®200-Analysesystem, bei dem zwei unterschiedliche Laser verwendet werden. Zuerst wird mit einem Laser die Fluoreszenz-Signatur der Beads erkannt, um den entsprechenden Analyten zu bestimmen. Ein

weiterer Laser bestimmt die Größe des von Phycoerythrin abgeleiteten Signals, das proportional zur Menge des gebundenen Analyten ist. Im Zentrum für Augenheilkunde der Uniklinik Köln wurden ausführliche Vormessungen mittels Luminex®-xMAP®-Technologie durchgeführt, um die Standard-Protokolle für die Messung der Vorderkammerproben zu erstellen. Diese Protokolle wurden durch ELISAs überprüft und validiert.

Die Messungen wurden mit dem Kit für die menschliche Angiogenese nach Angaben des Herstellers in der Testanleitung durchgeführt (Human Angiogenesis Panel, R&D Systems, Wiesbaden, Deutschland). Die VEGF-Standardkurven wurden unter Verwendung des mit dem Kit gelieferten Referenzstandards erstellt. Die untere Grenze der VEGF-Quantifizierung lag bei 4 pg/mL.

## 2.5 Materialien

**Tabelle 3:** Liste der verwendeten Medikamente, Reagenzien, Geräte, Software und weiteren Verbrauchsmaterialien

Bezeichnung	Hersteller
<b>Intravitreale operative Medikamenteneingabe</b>	
Eylea® (Aflibercept) 40mg/ml Injektionslösung	Bayer AG, Leverkusen, D
<b>Gewinnung und Aufbewahrung der Vorderkammerproben</b>	
Insulinspritzen BD Plastipak™	Becton Dickinson GmbH, Heidelberg, D
Kanüle 30 G BD Microlance™	Becton Dickinson GmbH, Heidelberg, D
Einfrier Röhrchen aus Polypropylen Cryo.s™ 2 ml	Greiner Bio-One GmbH, Frickhausen, D
Ultra-Tiefkühlbox B 35-85	FRYKA-Kältetechnik GmbH, Esslingen, D
Tiefkühlschrank Herafreeze HFU 486 Basic	Heraeus Holding GmbH, Hanau, D
<b>Messung von VEGF in den Vorderkammerproben</b>	
Luminex® 200™ System <ul style="list-style-type: none"> <li>• Luminex 200 Analysegerät</li> <li>• Desktop PC mit Windows, Dell Monitor, Zubehör, xPONENT Software</li> <li>• Luminex SD™ Zuführungssystem für die Hüllenflüssigkeit</li> <li>• Luminex XYX™ Platforminstrument</li> <li>• Zwei lange Probensonden</li> <li>• Behälter für Hüllenflüssigkeit und Abfallbehälter</li> <li>• Schlauchverbindung für Hüllenflüssigkeit</li> <li>• Heizplatte</li> </ul>	Luminex Corporation, Austin, Texas, USA und Invitrogen Corporation, Carlsbad, California, USA

<ul style="list-style-type: none"> <li>• Barcode-Lesegerät</li> </ul>	
<p>xMAP-Technologie Reagenzien</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• xMAP-Hüllenflüssigkeit</li> <li>• Luminex® 100/200 Calibration Kit</li> <li>• Luminex® 100/200 Performance Verification Kit</li> <li>• Fluorokine MAP Human Angiogenesis Base Kit A</li> <li>• VEGF-spezifisches Bead-Set</li> </ul>	<p>Luminex Corporation, Austin, Texas, USA und Invitrogen Corporation, Carlsbad, California, USA</p> <p>R&amp;D Systems GmbH, Wiesbaden, D</p>
<p>Laborreagenzien</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Natriumhypochloritlösung (12% Cl)</li> <li>• Aqua dest., Ampuwa®</li> </ul>	<p>Carl Roth GmbH + Co. KG, Karlsruhe, D</p> <p>Fresenius Kabi Deutschland GmbH, Bad Homburg, D</p>
<p>Kühlschrank T 1400</p> <p>Reagenzglasschüttler Vortex-Genie® 2T</p> <p>Plattformschüttler Titramax 100</p> <p>Kleinschüttler MS 3 digital</p> <p>Mikrozentrifuge 5415R, Refrigerant R134A</p> <p>Reaktionsgefäße PP 1,5 ml</p> <p>PCR Gefäße PP 0,5 ml</p> <p>Wasserstrahlpumpe PP</p> <p>Laborflaschen Duran® 500ml</p> <p>Zentrifugenröhrchen Falcon™, 15 ml und 50 ml</p> <p>Serumpipetten 153mm lang</p> <p>96-Well-Platten MaxiSorp™</p> <p>Reagenz Reservoirs PS 100 ml</p>	<p>Liebherr-International AG, Bulle, CH</p> <p>Scientific Industries Inc, Bohemia, NY, USA</p> <p>Heidolph Instruments GmbH &amp; Co. KG, Schwabach, D</p> <p>IKA Werke GmbH &amp; Co. KG, Staufen, D</p> <p>Eppendorf SE, Hamburg, D</p> <p>BRAND GmbH &amp; Co. KG, Wertheim, D</p> <p>BRAND GmbH &amp; Co. KG, Wertheim, D</p> <p>BRAND GmbH &amp; Co. KG, Wertheim, D</p> <p>Schott AG, Mainz, D</p> <p>Greiner Bio-One GmbH, Frickenhausen, D</p> <p>Greiner Bio-One GmbH, Frickenhausen, D</p> <p>Nunc A/S, Roskilde, DNK</p> <p>VWR International GmbH, Darmstadt, D</p>
<p><b>Auswertung der Ergebnisse</b></p>	
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Microsoft Office Excel 2007</li> <li>• IBM SPSS Statistics 19.0</li> </ul>	<p>Microsoft Corporation, Redmond, Washington, USA</p> <p>IBM, Chicago, Illinois, USA</p>

## 2.6 Statistik

Die Mittelwerte und die Standardabweichungen der erhobenen Daten wurden mit der Software IBM SPSS Statistics 19.0 ermittelt. Auf Basis der einzelnen Datenpunkte pro Patienten konnten individuelle VEGF-Suppressionszeiten modelliert werden. Entsprechende Diagramme wurden mit der Software Microsoft Office Excel 2007 erstellt.

### 3. Ergebnisse

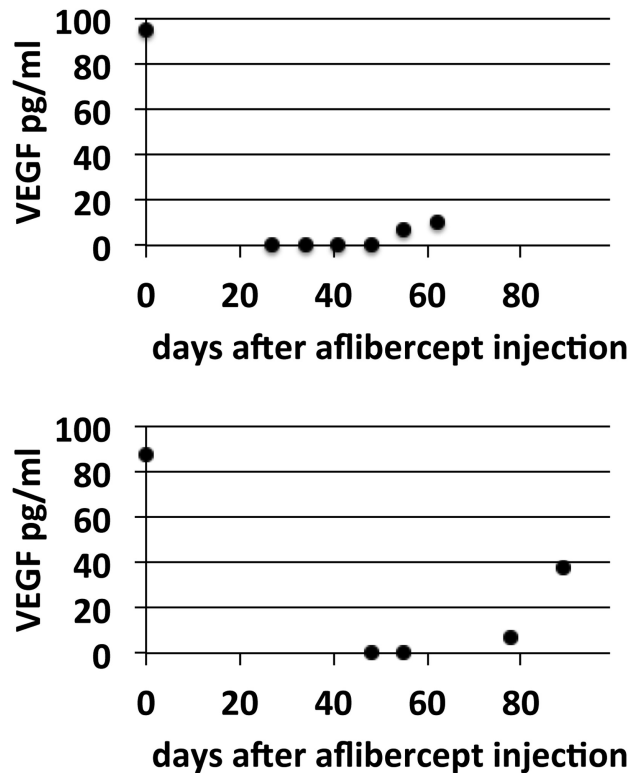
Die intraokularen VEGF-Konzentrationen wurden in den Vorderkammerproben von 27 nAMD-Patienten, die mit Aflibercept nach PRN-Schema behandelt wurden, gemessen. Die klinischen Charakteristika der Studienpopulation sind in der Tabelle 4 aufgeführt.

**Tabelle 4:** Klinische Merkmale der Studienpopulation während der Behandlung mit Aflibercept bei der neovaskulären altersbedingten Makuladegeneration

Anzahl der Patienten	27 Patienten
Geschlecht (Anzahl und Prozent) <ul style="list-style-type: none"> <li>• Männer</li> <li>• Frauen</li> </ul>	13 (48 %) 14 (52 %)
Alter in Jahren bei der ersten Aflibercept Injektion (Durchschnittswert $\pm$ Standardabweichung, Umfang)	77,5 $\pm$ 6,4 (64–90)
Anzahl der Augen (in Prozent)	27 Augen 9 (33 %) rechtes Auge 18 (67 %) linkes Auge
Beobachtungszeit pro Patienten in Monaten (Durchschnittswert $\pm$ Standardabweichung, Umfang)	7,7 $\pm$ 2,1 (4,1–12,0)
Anzahl intravitrealer Injektionen pro Patienten (Durchschnittswert $\pm$ Standardabweichung, Umfang)	5,5 $\pm$ 1,3 (3–8)
VEGF-Konzentration im Vorderkammer am Tag 0 (pg/ml) (Durchschnittswert $\pm$ Standardabweichung, Umfang)	90,6 $\pm$ 37,1 (23,4–190,3)
VEGF-Suppressionszeit (in Tagen) (Durchschnittswert $\pm$ Standardabweichung, Umfang)	70,5 $\pm$ 18,0 (41–109)
CNV-Typ <ul style="list-style-type: none"> <li>• okkult</li> <li>• gemischt</li> <li>• klassisch</li> <li>• retinale angiomatöse Proliferation</li> </ul>	18 4 2 3
Größe der CNV (mm <sup>2</sup> ) (Durchschnittswert $\pm$ Standardabweichung, Umfang)	4,5 $\pm$ 3,4 (0,3–12,7)
BCVA in ETDRS-Buchstaben am Tag 0 (Durchschnittswert $\pm$ Standardabweichung, Umfang)	59,5 $\pm$ 17,0 (20–85)
Zentrale retinale Dicke am Tag 0 ( $\mu$ m) (Durchschnittswert $\pm$ Standardabweichung, Umfang)	392 $\pm$ 132 (210–6)

Es wurden 132 Vorderkammerproben nach den 149 während der Studie verabreichten intravitrealen Aflibercept-Injektionen analysiert. Die VEGF-Konzentrationen (y-Achse: VEGF pg/ml) wurden für jeden Patienten in Bezug auf das Intervall zur vorherigen

Aflibercept-Injektion (x-Achse: *days after aflibercept injection*) aufgetragen. Als Tag 0 wurde die erste Aflibercept-Injektion definiert. Repräsentative Beispiele sind in Abbildung 1 dargestellt. Komplette VEGF-Suppression wurde angenommen, wenn die VEGF-Konzentrationen unterhalb der unteren Nachweisgrenze der analytischen Methode (4 pg/ml) lagen.

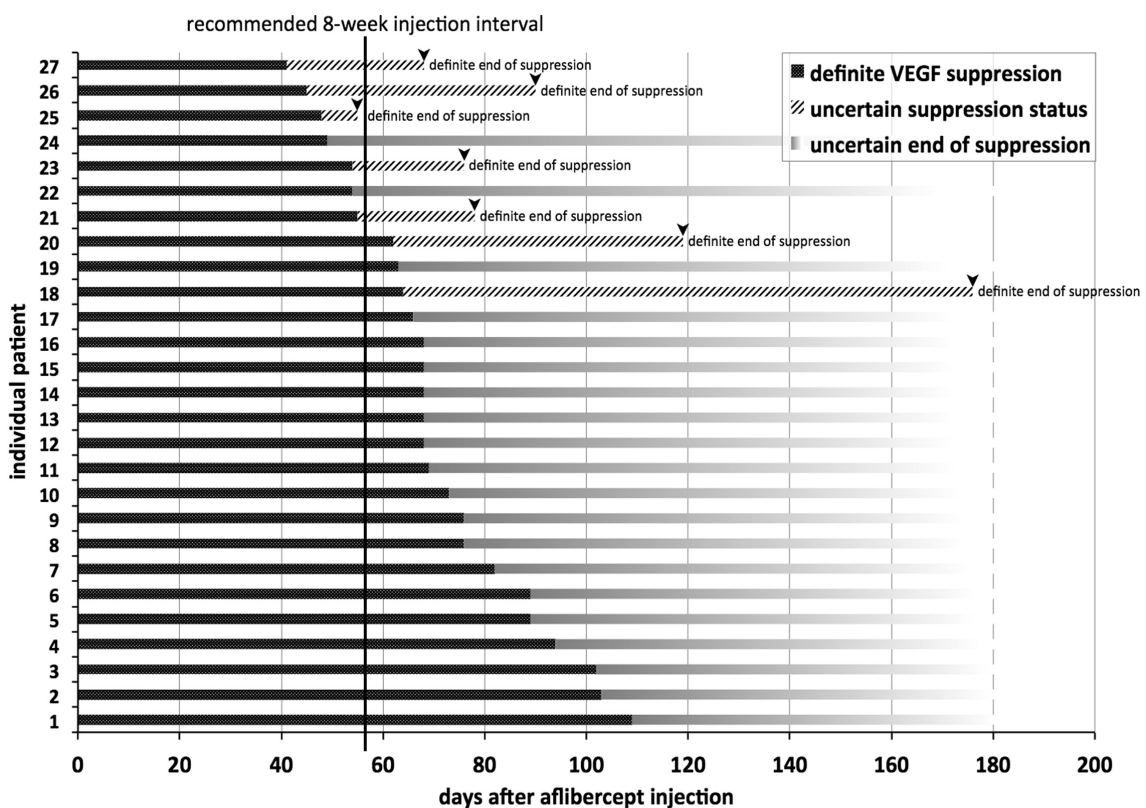


**Abbildung 1:** Streudiagramme von zwei Patienten zeigen Zeitintervalle in Tagen seit der letzten intravitrealen Aflibercept-Injektion (*days after aflibercept injection*) und die entsprechenden VEGF-Konzentrationen im Vorderkammerwasser (VEGF pg/ml)

Die Mittelwerte der VEGF-Konzentrationen im Kammerwasser betragen vor der Therapie  $90,6 \pm 37,1$  pg/ml. Aflibercept führte kurz nach der Injektion bei allen Patienten zur kompletten Suppression von VEGF-Konzentrationen im Kammerwasser. Die Patienten wurden monatlich gesehen und nach dem PRN-Schema mit Aflibercept behandelt. Zur Entstehung der variablen Behandlungsintervalle haben folgende Faktoren beigetragen: die individuelle Krankheitsaktivität der Patienten, die verzögerte Genehmigung der Behandlungsanträge durch die Krankenkassen und die Berücksichtigung der Patientenwünsche bei der Terminierung der Kontroll- und Behandlungsuntersuchungen.

Die Vorderkammerproben sind nur vor den Injektionen mit Aflibercept gesammelt worden und nicht während jeder Kontrolluntersuchung. Aus diesem Grund gestaltet es sich schwierig, den genauen Zeitpunkt, zu dem die VEGF-Suppression endete, zu messen. Dennoch konnte bei allen Patienten der späteste Probenzeitpunkt mit der

kompletten VEGF-Suppression (*definite VEGF suppression* in Abbildung 2) bestimmt werden. Der früheste Zeitpunkt, an dem die komplette VEGF-Suppression verloren wurde, konnte bei nur sieben Patienten detektiert werden (*definite end of suppression* in Abbildung 2). Die wahre VEGF-Suppressionszeit liegt zwischen diesen zwei Zeitpunkten – innerhalb der Zeitperiode, während der der VEGF-Suppressionsstatus unsicher ist (*uncertain suppression status* in Abbildung 2), da keine weitere Vorderkammerproben für eine genauere Bestimmung zur Verfügung standen. Die restlichen 20 Patienten zeigten auch in den letzten vorhandenen Vorderkammerproben eine komplette Suppression und haben daher ein nicht definierbares Ende der VEGF-Suppression (*uncertain end of suppression* in Abbildung 2).



**Abbildung 2:** Gestapeltes Histogramm mit allen Studienpatienten. Das Histogramm zeigt sowohl die Dauer der kompletten VEGF-Suppression als auch das Ende der VEGF-Suppression, wenn überhaupt definierbar

Nach dem empfohlenen Dosierungsintervall von 56 Tagen (Acht-Wochen-Intervall) waren bei den 20 Patienten die VEGF-Konzentrationen im Kammerwasser noch vollständig supprimiert. Bei einem Patienten wurde ein sicherer Verlust der VEGF-Suppression detektiert (Patient 25; Abbildung 2). Bei den restlichen sechs Patienten war der VEGF-Suppressionsstatus unsicher, da die weiteren Vorderkammerproben für diesen Zeitpunkt nicht verfügbar waren (Patienten 21–24, 26, 27; Abbildung 2).



Die mittlere VEGF-Suppressionszeit war größer als  $71 \pm 18$  Tage. Alle VEGF-Suppressionszeiten sind in Abbildung 2 dargestellt. Individuelle VEGF-Suppressionszeiten waren während der Behandlung im Rahmen dieser Studie stabil, da keine Messungen einen Verlust der VEGF-Suppression zu dem Zeitpunkt gezeigt haben, an dem die VEGF-Suppression durch die vorherigen Messungen bei dem gleichen Patienten zu erwarten war.

Werden die Aufsättigungsphase mit drei IVOM am Anfang der Behandlung und die Patienten mit persistierender Aktivität ausgeschlossen, wurden nur sechs Injektionen vor der achten Woche basierend auf den Rezidivzeichen in SD-OCT indiziert. Das mittlere Rezidivintervall nach der letzten Aflibercept-Injektion in diesen sechs Fällen betrug  $49 \pm 5$  Tage.

## 4. Diskussion

Anhand vieler klinischer Studien konnte gezeigt werden, dass die Anti-VEGF-Therapie zu einer deutlichen Prognoseverbesserung der Patienten mit nAMD führt, sodass die Wiederherstellung und der Erhalt der Sehfunktion bei der Mehrheit der Patienten möglich sind (3). Trotz vieler Fortschritte ist die Therapie der nAMD jedoch mit vielen Herausforderungen verbunden. Die Patienten werden durch die hohe Terminanzahl und die damit verbundene Angst vor den Injektionen belastet, die betreuenden Angehörigen beklagen Einkommensverluste und die Gesundheitssysteme sind weltweit von den steigenden Behandlungszahlen betroffen (57). Um die mit der Anti-VEGF-Therapie verbundene Behandlungsbelastung zu vermindern und die Behandlungsergebnisse zu optimieren, wird in der klinischen Forschung derzeit der Fokus auf die Identifizierung von Wirkstoffen mit molekularen Merkmalen und PK/PD-Eigenschaften gelegt, die optimale Dosierungsschemata ermöglichen – mit reduzierter Injektionshäufigkeit, aber unter Aufrechterhaltung einer permanenten VEGF-Suppression (61).

### 4.1 Mittlere VEGF-Suppressionszeit von Aflibercept

Im Rahmen dieser Arbeit wurden die VEGF-Konzentrationen in den Vorderkammerproben bei Patienten mit nAMD unter der Aflibercept-Behandlung gemessen. Es wurde verglichen, ob die empfohlenen achtwöchigen intraokularen Injektionsintervalle von Aflibercept der Suppressionszeit von VEGF entsprechen. Für PK/PD-Analysen sind die Vorderkammerproben einfacher und sicherer zu gewinnen als die Proben aus dem Glaskörper. Bei Netzhauterkrankungen konnte in mehreren Studien nachgewiesen werden, dass die VEGF-Konzentrationen in der Vorderkammer mit den VEGF-Konzentrationen im Glaskörper korrelieren (86, 87).

Durch Aflibercept wurden die VEGF-Konzentrationen unter die Nachweisgrenze unserer analytischen Methode bei allen 27 Patienten in der ersten Zeit nach der Aflibercept-Injektion komplett supprimiert. Die mittlere VEGF-Suppressionszeit lag bei 71 Tagen, also zwei Wochen länger als das empfohlene Acht-Wochen-Injektionsintervall. Daraus lässt sich schließen, dass sich die meisten Patienten mit den achtwöchigen Injektionsintervallen unter einer Aflibercept-Behandlung in einer sicheren VEGF-Suppression befinden.

Die in dieser Studie gewonnenen Ergebnisse unterstützen auch die Prognosen von Stewart et al. In seinem mathematischen Modell postulierte Stewart sogar eine zehn- bis zwölfwöchige Aktivität von Aflibercept (83). Ein leichter Anstieg der Eliminationshalbwertszeit von Aflibercept aus dem Kammerwasser, kombiniert mit einer stärkeren Bindungsaffinität (73), wurde als Erklärung für die Differenz zur funktionellen Halbwertszeit dargestellt. Im Gegensatz zu den theoretischen Überlegungen von

Stewart et al. wurden in dieser Arbeit, wie auch in einer früheren Studie mit Ranibizumab (88), die VEGF-Konzentrationen vor und während einer Behandlung mit Aflibercept gemessen. Durch diese Messungen wurde eine präzisere Korrelation zu den funktionellen Effekten ermöglicht.

Es ist bekannt, dass die VEGF-Konzentrationen im Vorderkammerwasser niedriger sind als im Glaskörper. Bei den VEGF-Konzentrationen im Glaskörper handelt es sich vermutlich auch nur um eine verdünnte Reflexion der VEGF-Konzentration innerhalb der Netzhaut oder im subretinalen Raum, in dem VEGF seine pro-angiogene Funktion entfaltet. Dennoch ist es plausibel, dass die VEGF-Konzentrationen in diesen unterschiedlichen Kompartimenten des Auges in einem angemessenen Gleichgewicht zueinanderstehen. Aus diesem Grund wird davon ausgegangen, dass die VEGF-Konzentrationen aus den Vorderkammerproben die VEGF-Konzentrationen in den anderen Augenkompartmenten widerspiegeln (86).

#### **4.2 Stabilität der individuellen VEGF-Suppressionszeiten**

Die Dauer der individuellen VEGF-Suppression variierte unter den Patienten und betrug zwischen 41 und 109 Tagen. Von den 27 Patienten in dieser Studie hatte nur ein Patient einen definitiven Verlust der VEGF-Suppression nach weniger als 56 Tagen (55 Tage), trotzdem waren die VEGF-Konzentrationen mindestens 48 Tage komplett supprimiert (Patient 25; Abbildung 2). Sechs Patienten wiesen aufgrund der ungenügenden Vorderkammerproben einen unsicheren VEGF-Suppressionsstatus nach 56 Tagen auf, wobei die VEGF-Suppressionszeit mindestens 41 Tage betrug (Patienten 21–24, 26, 27; Abbildung 2).

Individuelle Aflibercept-VEGF-Suppressionszeiten blieben bis zu zwölf Monate stabil. Es wurden keine Anzeichen von Tachyphylaxie oder Rebound-Effekten beobachtet. Bei keinem Patienten wurde eine VEGF-Konzentration über die Nachweisgrenze zu einem Zeitpunkt gemessen, zu dem eine andere Probe des gleichen Patienten eine VEGF-Suppression unter der Nachweisgrenze zeigte. Eine solche Stabilität der VEGF-Suppressionszeiten wurde schon während der Ranibizumab-Behandlung sowohl bei den nAMD-Patienten (89) als auch bei den Patienten mit diabetischem Makulaödem beobachtet (90). In den beiden Fällen variiert die VEGF-Suppressionszeit zwischen den unterschiedlichen Patienten, bleibt aber für jeden Patienten konstant. Diese individuellen Unterschiede in der VEGF-Suppressionszeit könnten sowohl auf die unterschiedliche VEGF-Produktion als auch auf den individuellen Aflibercept-Zerfall zurückzuführen sein und unterstützen somit eine individualisierte Therapie.

Ebenfalls ist bekannt, dass die Krankheitsaktivität je nach Patienten sehr unterschiedlich sein kann (91). Während Patienten mit einer sehr aktiven Erkrankung durchaus eine achtwöchige oder sogar häufigere Behandlung benötigen, wären Patienten, bei denen

die Erkrankung nicht aktiv ist, mit einer zweimonatlichen Therapie eher überbehandelt (91). Es gibt auch eine zunehmende Bestätigung aus der klinischen Forschung, dass feste Behandlungsintervalle nicht für alle Patienten passend sind. Anhand von Daten aus einer Real-World-Studie zur nAMD-Behandlung mit Aflibercept nach dem T&E-Schema wurde eine Untergruppe von Patienten gebildet, die eine Behandlung mit Intervallen von weniger als zwei Monaten benötigen (92). Auch Ebnetter et al. publizierten, dass 38 % der nAMD-Patienten nach 24 Monaten Aflibercept-Behandlung eine häufigere Behandlung als alle acht Wochen benötigen (93). Gleichzeitig bestünde es bei den Patienten mit einer längeren VEGF-Suppressionszeit die Möglichkeit, das Dosierungsintervall zu verlängern und die Anzahl von IVOM zu verringern. In den ALTAIR- und ARIES-Studien wurden am Ende des zweiten Jahres (Woche 96 bzw. 104) etwa 47 bis 60 % der Patienten mit über zwölfwöchigen Aflibercept-Behandlungsintervallen und etwa 27 bis 46 % der Patienten mit 16-wöchigen Intervallen behandelt (94). Auch in der 96. Woche der zulassungsrelevanten VIEW-Studie konnten 48 bis 54 % der mit Aflibercept behandelten Patienten das zwölfwöchige Behandlungsintervall beibehalten (95). Zukünftige Analysen, in denen der Anteil von Patienten mit unterschiedlicher VEGF-Suppressionsdauer oder unterschiedlicher Krankheitsaktivität ermittelt werden könnte, wären ebenfalls von Wert (8).

Die Ergebnisse der ALTAIR-Studie haben zur Zulassung einer neuen Dosierungsempfehlung für Aflibercept geführt. In dieser randomisierten kontrollierten Studie erzielten Patienten nach 52 Wochen mit einer proaktiven Aflibercept-Behandlung nach einem T&E-Schema Visusgewinne, die mit den Ergebnissen der Zulassungsstudien vergleichbar sind. Daher kann Aflibercept seit der neuen Zulassung im August 2018 bei nAMD nun bereits im ersten Jahr, alternativ zur Behandlung mit festen Intervallen alle zwei Monate, auch nach T&E-Behandlungsschema eingesetzt werden (96).

Auch die Deutsche Ophthalmologische Gesellschaft, die Retinologische Gesellschaft und der Berufsverband der Augenärzte Deutschlands halten in ihrer aktuellen, gemeinsamen Stellungnahme zur Anti-VEGF-Therapie bei der nAMD fest, dass eine individualisierte Behandlung notwendig sei, bei der die Krankheitsaktivität eines Patienten und das Ansprechen auf die Therapie berücksichtigt werden sollten. Eine Dauertherapie mit festen Intervallen habe zwar in vielen Studien zu guten visuellen Ergebnissen geführt, doch aufgrund eines kumulativ erhöhten Nebenwirkungsrisikos, einer möglichen Übertherapie sowie einer fehlenden Exit-Strategie sei diese nicht als erste Wahl einzustufen (25).

### 4.3 Einschränkung der Studie

Als Haupteinschränkung dieser Studie ist das nicht-experimentelle Design zu nennen, da die Variabilität der Aflibercept-Injektionsintervalle hauptsächlich auf der individuellen Krankheitsaktivität der Patienten basierte. Deshalb konnte der genaue Zeitpunkt des VEGF-Suppressionsverlustes nicht exakt erhoben werden. Da die meisten Patienten in der letzten vorhandenen Vorderkammerprobe eine komplette VEGF-Suppression zeigten und somit ein nicht definierbares Ende der VEGF-Suppression hatten, sollte die wahre mittlere VEGF-Suppressionszeit länger sein als die von uns ermittelte mittlere VEGF-Suppressionszeit von 71 Tagen.

Außerdem konnte in unserer Studie keinerlei Beziehung zwischen den Aflibercept-VEGF-Suppressionszeiten und der klinischen CNV-Aktivität bestimmt werden. Jedoch wurde für Ranibizumab eine Abfolge von Ereignissen vom Verlust der VEGF-Suppression bis zu den morphologischen und funktionellen Rezidiven beschrieben. Solche Veränderungen führen typischerweise und letztendlich zu einem Verlust der Sehschärfe (88). Die mittlere Aflibercept-VEGF-Suppressionszeit von 71 Tagen ist länger als die mittlere Ranibizumab-VEGF-Suppressionszeit von 37 Tagen (88, 89). In einer separaten Studie wurde die VEGF-Suppression bei einer kleinen Patientengruppe gemessen, die zuerst mit Ranibizumab und nach zwei Jahren mit Aflibercept behandelt wurde. Bei diesen sieben Patienten zeigte sich unter einer Ranibizumab-Therapie für mindestens zwei Jahre eine anhaltende CNV-Aktivität. Daher wurden diese Patienten auf eine Aflibercept-Therapie nach dem PRN-Schema umgestellt. In dieser Studie wurde festgestellt, dass Aflibercept im Vergleich zu Ranibizumab in der Vorderkammer VEGF doppelt so lange supprimiert. Dies korrelierte auch mit der klinischen Wirksamkeit der Medikamente. Allerdings erlauben die oben genannten Limitationen dieser Studie es nicht, diese klinische Korrelation auf andere nAMD-Patienten zu übertragen. Außerdem gab es keine Untersuchungen von VEGF-Suppressionszeiten in einer Konstellation, in der die Therapie von Aflibercept auf Ranibizumab umgestellt wurde. Eine weitere Erkenntnis aus der Studie bestand darin, dass die frühesten Anzeichen einer CNV-Aktivität bei den beiden Anti-VEGF-Medikamenten zu einem Zeitpunkt nachgewiesen werden konnten, der der Hälfte der jeweiligen VEGF-Suppressionszeit entsprach. Trotz der Korrelation der VEGF-Spiegel in den verschiedenen Kompartimenten im Auge können die absoluten und zeitlichen Unterschiede erklären, warum die klinische Aktivität lange vor dem Verschwinden der VEGF-Suppression in der Vorderkammer wieder auftritt. Ein weiterer Grund für diese Beobachtung könnte sein, dass eine untere Bestimmungsgrenze in der analytischen Methode für VEGF von 4 pg/ml zu hoch war und eine CNV-Aktivität bei niedrigeren Konzentrationen von VEGF möglich ist (97). Gleichzeitig bedeutet das Ende der VEGF-Suppression auch nicht das sofortige

Auftreten von Anzeichen einer wiederkehrenden CNV-Aktivität. Die Anwesenheit von VEGF ist notwendig, aber nicht ausreichend für Rezidive, da andere Wachstumsfaktoren sowie das Komplementsystem eine zentrale Rolle bei der Krankheitsaktivität spielen. Außerdem können einzelne Patienten trotz anhaltender VEGF-Suppression eine anhaltende CNV-Aktivität aufweisen. Die CNV-Aktivität bei nAMD ist unregelmäßig und es ist kein Zusammenhang zwischen dem Wiederauftreten einer CNV und den VEGF-Suppressionszeiten zu finden (98).

#### **4.4 Nutzen der Studie**

Unsere veröffentlichten Daten zu den VEGF-Suppressionszeiten für Aflibercept und die veröffentlichten Daten zu den VEGF-Suppressionszeiten von Ranibizumab (89) wurden von Essing et al. verwendet, um die Dauer der VEGF-Suppression für den neu zugelassenen Anti-VEGF-Wirkstoff Brolucizumab vorherzusagen. Ab März 2020 ist Brolucizumab zur Behandlung von nAMD auch in Deutschland erhältlich. Die Verschreibungsempfehlung für die intravitreale Brolucizumab-Therapie beträgt 6 mg monatlich für die ersten drei Dosen, gefolgt von einer Dosis von 6 mg alle acht bis zwölf Wochen. Die durchgeführte Analyse unter Verwendung gut etablierter PK/PD-Modellierungsprinzipien konnte eine mittlere VEGF-Suppressionszeit von 51 Tagen für Brolucizumab vorhersagen. Mit diesen Daten ist angesichts des potenziellen Verlusts der wirksamen VEGF-Suppression von Brolucizumab nach Tag 48 bis Tag 59 Vorsicht geboten, bevor die Dosierungsintervalle über diesen Zeitrahmen hinaus verlängert werden (8). Diese PK/PD-Modellierung liefert eine mögliche Erklärung für die Unterschiede in den funktionellen Ergebnissen, die in den letzten klinischen Studien mit Aflibercept und Brolucizumab beobachtet wurden. Ein indirekter Vergleich der Ergebnisse der ALTAIR- und ARIES-Studien mit Aflibercept sowie der HAWK- und HARRIER-Studien mit Brolucizumab deutet darauf hin, dass im Durchschnitt ein höherer Anteil der Patienten mit Aflibercept mit zwölfwöchigen oder längeren Intervallen behandelt werden konnte als mit Brolucizumab (8, 62, 94, 99).

Unsere Studie bietet somit die klinischen Daten, durch die das Verständnis über die Pharmakokinetik von Aflibercept erweitert werden kann. Die ermittelte mittlere VEGF-Suppressionszeit von Aflibercept kann in den mathematischen PK/PD-Modellen benutzt werden, um Vorhersagen über die biologische Aktivität auch weiterer Anti-VEGF-Medikamente zu treffen. Die individuell unterschiedlich lange VEGF-Suppressionszeiten sind unter einer Aflibercept-Therapie im Rahmen dieser Studie bei allen Patienten stabil geblieben. Weitere umfangreiche Studien sind notwendig, um eine Korrelation zwischen den klinischen Befunden bei nAMD und den individuellen VEGF-Suppressionszeiten von Aflibercept zu untersuchen.

## 5. Zusammenfassung

Die altersabhängige Makuladegeneration (AMD) zählt heute zu den häufigsten Erblindungsursachen in den Industrienationen. Die neovaskuläre Form der AMD (nAMD) ist durch die choroidale Neovaskularisation (CNV) charakterisiert. Dabei werden unter dem Einfluss vom *Vascular Endothelial Growth Factor* (VEGF) neue Blutgefäße gebildet, die zu sub- und intraretinalen Makulaödemen, Blutung, Fibrose und letztendlich zum Visusabfall führen. Im Fokus der effektiven Therapie steht das Neutralisieren von VEGF mit dem Antikörper (Bevacizumab), den Antikörperfragmenten (Ranibizumab, Brolucizumab) und dem Fusionsprotein (Aflibercept). Aflibercept ist seit 2012 auf dem deutschen Markt zugelassen. Diese prospektive Studie wurde durchgeführt, um die klinisch gemessenen intraokularen VEGF-Suppressionszeiten von Aflibercept mit der vorhergesagten biologischen Aktivität der mathematischen pharmakokinetischen und pharmakodynamischen (PK/PD) Modelle zu vergleichen und die empfohlenen Behandlungsintervalle (Acht-Wochen-Intervalle nach Aufsättigung) zu überprüfen.

Es wurden 27 Patienten mit einer nAMD eingeschlossen. Die Patienten haben Aflibercept-Injektionen nach dem *Pro-re-nata*-Schema erhalten, angetrieben durch Kontrollen mit SD-OCT (*Spectral-Domain Optical Coherence Tomography*). Es wurden 132 Kammerwasserproben vor der Aflibercept-Injektion gesammelt, deren VEGF-Konzentrationen mit der xMAP®-(*unknown Multi Analyte Profiling*)-Technologie der Firma Luminex® gemessen wurden. Intravitreale Injektionen mit Aflibercept supprimierten die VEGF-Konzentrationen unter der Nachweisgrenze bei allen Patienten. Die gemessene mittlere VEGF-Suppressionszeit lag bei  $71 \pm 18$  Tagen. Der früheste Zeitpunkt, zu dem die Suppression nach der Aflibercept-Injektion vor dem Acht-Wochen-Intervall endete, wurde bei nur einem Patienten detektiert und betrug 55 Tage. Für 20 Patienten konnte die VEGF-Suppression nach acht Wochen weiterhin nachgewiesen werden. Der VEGF-Suppressionsstatus der restlichen sechs Patienten war für dieses Intervall unsicher.

Die mittlere intraokulare VEGF-Suppressionszeit nach der intravitrealen Aflibercept-Therapie lag durchschnittlich bei zehn Wochen, was mit der in den PD/PK-Modellen berechneten biologischen Aktivität von Aflibercept übereinstimmt. Die individuell unterschiedlich lange VEGF-Suppressionszeiten sind im Rahmen dieser Studie bei allen Patienten stabil geblieben. Somit bietet unsere Studie klinische Daten, die mehr Verständnis über die intraokulare Pharmakokinetik von Aflibercept erlauben und eine Entwicklung mathematischer PK/PD-Modelle zur Einschätzung der Wirksamkeit neuer Anti-VEGF-Medikamente unterstützen.

## 6. Literaturverzeichnis

1. Wong WL, Su X, Li X, Cheung CM, Klein R, Cheng CY, Wong TY. Global prevalence of age-related macular degeneration and disease burden projection for 2020 and 2040: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Glob Health*. 2014;2(2):e106-16.
2. Mitchell P, Liew G, Gopinath B, Wong TY. Age-related macular degeneration. *Lancet*. 2018;392(10153):1147-59.
3. Schmidt-Erfurth U, Chong V, Loewenstein A, Larsen M, Souied E, Schlingemann R, Eldem B, Mones J, Richard G, Bandello F, European Society of Retina S. Guidelines for the management of neovascular age-related macular degeneration by the European Society of Retina Specialists (EURETINA). *Br J Ophthalmol*. 2014;98(9):1144-67.
4. Holz FG, Schmitz-Valckenberg S, Fleckenstein M. Recent developments in the treatment of age-related macular degeneration. *J Clin Invest*. 2014;124(4):1430-8.
5. Bakri SJ, Thorne JE, Ho AC, Ehlers JP, Schoenberger SD, Yeh S, Kim SJ. Safety and Efficacy of Anti-Vascular Endothelial Growth Factor Therapies for Neovascular Age-Related Macular Degeneration: A Report by the American Academy of Ophthalmology. *Ophthalmology*. 2019;126(1):55-63.
6. Wykoff CC, Clark WL, Nielsen JS, Brill JV, Greene LS, Heggen CL. Optimizing Anti-VEGF Treatment Outcomes for Patients with Neovascular Age-Related Macular Degeneration. *J Manag Care Spec Pharm*. 2018;24(2-a Suppl):3-15.
7. Nguyen QD, Das A, Do DV, Dugel PU, Gomes A, Holz FG, Koh A, Pan CK, Sepah YJ, Patel N, MacLeod H, Maurer P. Brolucizumab: Evolution through Preclinical and Clinical Studies and the Implications for the Management of Neovascular Age-Related Macular Degeneration. *Ophthalmology*. 2020;127(7):963-76.
8. Eissing T, Stewart MW, Qian CX, Rittenhouse KD. Durability of VEGF Suppression With Intravitreal Aflibercept and Brolucizumab: Using Pharmacokinetic Modeling to Understand Clinical Outcomes. *Transl Vis Sci Technol*. 2021;10(4):9.
9. Bird AC, Bressler NM, Bressler SB, Chisholm IH, Coscas G, Davis MD, de Jong PT, Klaver CC, Klein BE, Klein R, et al. An international classification and grading system



for age-related maculopathy and age-related macular degeneration. The International ARM Epidemiological Study Group. *Surv Ophthalmol.* 1995;39(5):367-74.

10. Klein R, Davis MD, Magli YL, Segal P, Klein BE, Hubbard L. The Wisconsin age-related maculopathy grading system. *Ophthalmology.* 1991;98(7):1128-34.

11. Age-Related Eye Disease Study Research G. The Age-Related Eye Disease Study system for classifying age-related macular degeneration from stereoscopic color fundus photographs: the Age-Related Eye Disease Study Report Number 6. *Am J Ophthalmol.* 2001;132(5):668-81.

12. Seddon JM, Sharma S, Adelman RA. Evaluation of the clinical age-related maculopathy staging system. *Ophthalmology.* 2006;113(2):260-6.

13. Jager RD, Mieler WF, Miller JW. Age-related macular degeneration. *N Engl J Med.* 2008;358(24):2606-17.

14. Ferris FL, 3rd, Wilkinson CP, Bird A, Chakravarthy U, Chew E, Csaky K, Sadda SR, Beckman Initiative for Macular Research Classification C. Clinical classification of age-related macular degeneration. *Ophthalmology.* 2013;120(4):844-51.

15. Fleckenstein M, Thiele S, Pfau M, Schmitz-Valckenberg S, Holz FG. Dry Age-Related Macular Degeneration - Epidemiology and Classification. *Klin Monbl Augenheilkd.* 2019;236(9):1068-75.

16. Holz FG, Pauleikhoff D, Spaide R, Bird A. Altersabhängige Makuladegeneration. 3. Auflage ed: Springer-Verlag; 2011.

17. Herrmann P, Holz F, Issa PC. Ätiologie und Pathogenese der altersabhängigen Makuladegeneration. *Der Ophthalmologe.* 2013;110(4):377-89.

18. Gamulescu MA, Renner AB, Helbig H. Clinical manifestations of functional disturbances of the retinal pigment epithelium. *Ophthalmologe.* 2009;106(4):305-10.

19. Clemons TE, Milton RC, Klein R, Seddon JM, Ferris FL, 3rd, Age-Related Eye Disease Study Research G. Risk factors for the incidence of Advanced Age-Related Macular Degeneration in the Age-Related Eye Disease Study (AREDS) AREDS report no. 19. *Ophthalmology.* 2005;112(4):533-9.

20. Bhutto I, Luttj G. Understanding age-related macular degeneration (AMD): relationships between the photoreceptor/retinal pigment epithelium/Bruch's membrane/choriocapillaris complex. *Mol Aspects Med.* 2012;33(4):295-317.
21. Schmidt-Erfurth U, Kaiser PK, Korobelnik JF, Brown DM, Chong V, Nguyen QD, Ho AC, Ogura Y, Simader C, Jaffe GJ, Slakter JS, Yancopoulos GD, Stahl N, Vitti R, Berliner AJ, Soo Y, Anderesi M, Sowade O, Zeitz O, Norenberg C, Sandbrink R, Heier JS. Intravitreal aflibercept injection for neovascular age-related macular degeneration: ninety-six-week results of the VIEW studies. *Ophthalmology.* 2014;121(1):193-201.
22. Katta S, Kaur I, Chakrabarti S. The molecular genetic basis of age-related macular degeneration: an overview. *J Genet.* 2009;88(4):425-49.
23. Krause L, Yousif T, Pohl K, group Cs. An epidemiological study of neovascular age-related macular degeneration in Germany. *Curr Med Res Opin.* 2013;29(10):1391-7.
24. Early Treatment Diabetic Retinopathy Study Research Group. Early Treatment Diabetic Retinopathy Study design and baseline patient characteristics. ETDRS report number 7. *Ophthalmology.* 1991;98(5 Suppl):741-56.
25. RG, DOG, BVA. Stellungnahme der DOG, der RG und des BVA zur Anti-VEGF-Therapie bei der neovaskulären altersabhängigen Makuladegeneration. Stand Februar 2020. *Klin Monatsbl Augenheilkd.* 2020;237:995–1003.
26. Group AHSR, Chew EY, Clemons TE, Bressler SB, Elman MJ, Danis RP, Domalpally A, Heier JS, Kim JE, Garfinkel R. Randomized trial of a home monitoring system for early detection of choroidal neovascularization home monitoring of the Eye (HOME) study. *Ophthalmology.* 2014;121(2):535-44.
27. Bazan NG. Homeostatic regulation of photoreceptor cell integrity: significance of the potent mediator neuroprotectin D1 biosynthesized from docosahexaenoic acid: the Proctor Lecture. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2007;48(11):4866-81; biography 4-5.
28. Saint-Geniez M, Kurihara T, Sekiyama E, Maldonado AE, D'Amore PA. An essential role for RPE-derived soluble VEGF in the maintenance of the choriocapillaris. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2009;106(44):18751-6.

29. Bai Y, Ma JX, Guo J, Wang J, Zhu M, Chen Y, Le YZ. Muller cell-derived VEGF is a significant contributor to retinal neovascularization. *J Pathol.* 2009;219(4):446-54.
30. Rakic JM, Lambert V, Devy L, Luttun A, Carmeliet P, Claes C, Nguyen L, Foidart JM, Noel A, Munaut C. Placental growth factor, a member of the VEGF family, contributes to the development of choroidal neovascularization. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2003;44(7):3186-93.
31. Miller H, Miller B, Ryan SJ. The role of retinal pigment epithelium in the involution of subretinal neovascularization. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1986;27(11):1644-52.
32. Hermans P, Lommatzsch A, Bomfeld N, Pauleikhoff D. [Angiographic-histological correlation of late exudative age-related macular degeneration]. *Ophthalmologie.* 2003;100(5):378-83.
33. Wong TY, Chakravarthy U, Klein R, Mitchell P, Zlateva G, Buggage R, Fahrback K, Probst C, Sledge I. The natural history and prognosis of neovascular age-related macular degeneration: a systematic review of the literature and meta-analysis. *Ophthalmology.* 2008;115(1):116-26.
34. Green WR, Enger C. Age-related macular degeneration histopathologic studies: the 1992 Lorenz E. Zimmerman Lecture. *Retina.* 2005;25(5 Suppl):1519-35.
35. Patel R, Wang J, Campbell JP, Kiang L, Lauer A, Flaxel C, Hwang T, Lujan B, Huang D, Bailey ST, Jia Y. Classification of Choroidal Neovascularization Using Projection-Resolved Optical Coherence Tomographic Angiography. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2018;59(10):4285-91.
36. Gass JD. Biomicroscopic and histopathologic considerations regarding the feasibility of surgical excision of subfoveal neovascular membranes. *Am J Ophthalmol.* 1994;118(3):285-98.
37. Freund KB, Zweifel SA, Engelbert M. Do we need a new classification for choroidal neovascularization in age-related macular degeneration? *Retina.* 2010;30(9):1333-49.
38. Kwak N, Okamoto N, Wood JM, Campochiaro PA. VEGF is major stimulator in model of choroidal neovascularization. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2000;41(10):3158-64.

39. Balaratnasingam C, Dhrami-Gavazi E, McCann JT, Ghadiali Q, Freund KB. Aflibercept: a review of its use in the treatment of choroidal neovascularization due to age-related macular degeneration. *Clin Ophthalmol*. 2015;9:2355-71.
40. Ambati J, Ambati BK, Yoo SH, Ianchulev S, Adamis AP. Age-related macular degeneration: etiology, pathogenesis, and therapeutic strategies. *Surv Ophthalmol*. 2003;48(3):257-93.
41. Spaide RF. Rationale for combination therapies for choroidal neovascularization. *Am J Ophthalmol*. 2006;141(1):149-56.
42. Chang JH, Garg NK, Lunde E, Han KY, Jain S, Azar DT. Corneal neovascularization: an anti-VEGF therapy review. *Surv Ophthalmol*. 2012;57(5):415-29.
43. Shibuya M. Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) and Its Receptor (VEGFR) Signaling in Angiogenesis: A Crucial Target for Anti- and Pro-Angiogenic Therapies. *Genes Cancer*. 2011;2(12):1097-105.
44. Witmer AN, Vrensen GF, Van Noorden CJ, Schlingemann RO. Vascular endothelial growth factors and angiogenesis in eye disease. *Prog Retin Eye Res*. 2003;22(1):1-29.
45. Lien S, Lowman HB. Therapeutic anti-VEGF antibodies. *Handb Exp Pharmacol*. 2008(181):131-50.
46. Lutun A, Brusselmans K, Fukao H, Tjwa M, Ueshima S, Herbert JM, Matsuo O, Collen D, Carmeliet P, Moons L. Loss of placental growth factor protects mice against vascular permeability in pathological conditions. *Biochem Biophys Res Commun*. 2002;295(2):428-34.
47. Sacu S, Michels S, Prager F, Weigert G, Dunavoelgyi R, Geitzenauer W, Prunte C, Schmidt-Erfurth U. Randomised clinical trial of intravitreal Avastin vs photodynamic therapy and intravitreal triamcinolone: long-term results. *Eye (Lond)*. 2009;23(12):2223-7.
48. Schmidt-Erfurth UM, Richard G, Augustin A, Aylward WG, Bandello F, Corcostegui B, Cunha-Vaz J, Gaudric A, Leys A, Schlingemann RO, European Society

for Retina Specialists' Guidelines C. Guidance for the treatment of neovascular age-related macular degeneration. *Acta Ophthalmol Scand*. 2007;85(5):486-94.

49. Singerman LJ, Masonson H, Patel M, Adamis AP, Buggage R, Cunningham E, Goldbaum M, Katz B, Guyer D. Pegaptanib sodium for neovascular age-related macular degeneration: third-year safety results of the VEGF Inhibition Study in Ocular Neovascularisation (VISION) trial. *Br J Ophthalmol*. 2008;92(12):1606-11.

50. Ng EW, Shima DT, Calias P, Cunningham ET, Jr., Guyer DR, Adamis AP. Pegaptanib, a targeted anti-VEGF aptamer for ocular vascular disease. *Nat Rev Drug Discov*. 2006;5(2):123-32.

51. Rosenfeld PJ, Brown DM, Heier JS, Boyer DS, Kaiser PK, Chung CY, Kim RY, Group MS. Ranibizumab for neovascular age-related macular degeneration. *N Engl J Med*. 2006;355(14):1419-31.

52. Brown DM, Kaiser PK, Michels M, Soubrane G, Heier JS, Kim RY, Sy JP, Schneider S, Group AS. Ranibizumab versus verteporfin for neovascular age-related macular degeneration. *N Engl J Med*. 2006;355(14):1432-44.

53. Meredith TA, McCannel CA, Barr C, Doft BH, Peskin E, Maguire MG, Martin DF, Prenner JL, Comparison of Age-Related Macular Degeneration Treatments Trials Research G. Postinjection endophthalmitis in the comparison of age-related macular degeneration treatments trials (CATT). *Ophthalmology*. 2015;122(4):817-21.

54. Schmidt-Erfurth U. Clinical safety of ranibizumab in age-related macular degeneration. *Expert Opin Drug Saf*. 2010;9(1):149-65.

55. Heier JS, Brown DM, Chong V, Korobelnik JF, Kaiser PK, Nguyen QD, Kirchhof B, Ho A, Ogura Y, Yancopoulos GD, Stahl N, Vitti R, Berliner AJ, Soo Y, Anderesi M, Groetzbach G, Sommerauer B, Sandbrink R, Simader C, Schmidt-Erfurth U, View SG. Intravitreal aflibercept (VEGF trap-eye) in wet age-related macular degeneration. *Ophthalmology*. 2012;119(12):2537-48.

56. Semeraro F, Morescalchi F, Duse S, Parmeggiani F, Gambicorti E, Costagliola C. Aflibercept in wet AMD: specific role and optimal use. *Drug Des Devel Ther*. 2013;7:711-22.

57. Hollaus M, Buhl W, Schmidt-Erfurth U, Sacu S. The Challenges of Treating Neovascular Age-Related Macular Degeneration. *Klin Monbl Augenheilkd*. 2021;DOI: 10.1055/a-1473-5713.
58. Group CR, Martin DF, Maguire MG, Ying GS, Grunwald JE, Fine SL, Jaffe GJ. Ranibizumab and bevacizumab for neovascular age-related macular degeneration. *N Engl J Med*. 2011;364(20):1897-908.
59. Comparison of Age-related Macular Degeneration Treatments Trials Research G, Martin DF, Maguire MG, Fine SL, Ying GS, Jaffe GJ, Grunwald JE, Toth C, Redford M, Ferris FL, 3rd. Ranibizumab and bevacizumab for treatment of neovascular age-related macular degeneration: two-year results. *Ophthalmology*. 2012;119(7):1388-98.
60. Chakravarthy U, Harding SP, Rogers CA, Downes SM, Lotery AJ, Culliford LA, Reeves BC, investigators Is. Alternative treatments to inhibit VEGF in age-related choroidal neovascularisation: 2-year findings of the IVAN randomised controlled trial. *Lancet*. 2013;382(9900):1258-67.
61. Khanna S, Komati R, Eichenbaum DA, Hariprasad I, Ciulla TA, Hariprasad SM. Current and upcoming anti-VEGF therapies and dosing strategies for the treatment of neovascular AMD: a comparative review. *BMJ Open Ophthalmol*. 2019;4(1):e000398.
62. Dugel PU, Koh A, Ogura Y, Jaffe GJ, Schmidt-Erfurth U, Brown DM, Gomes AV, Warburton J, Weichselberger A, Holz FG. HAWK and HARRIER: Phase 3, Multicenter, Randomized, Double-Masked Trials of Brolucizumab for Neovascular Age-Related Macular Degeneration. *Ophthalmology*. 2020;127(1):72-84.
63. Rosenfeld PJ, Browning DJ. Is This a 737 Max Moment for Brolucizumab? *Am J Ophthalmol*. 2020;216:A7-A8.
64. Holz FG, Tadayoni R, Beatty S, Berger A, Cereda MG, Cortez R, Hoyng CB, Hykin P, Staurenghi G, Heldner S, Bogumil T, Heah T, Sivaprasad S. Multi-country real-life experience of anti-vascular endothelial growth factor therapy for wet age-related macular degeneration. *Br J Ophthalmol*. 2015;99(2):220-6.
65. Mantel I, Deli A, Iglesias K, Ambresin A. Prospective study evaluating the predictability of need for retreatment with intravitreal ranibizumab for age-related macular degeneration. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 2013;251(3):697-704.

66. Hufendiek K, Pielen A, Framme C. Strategies of Intravitreal Injections with Anti-VEGF: "Pro re Nata versus Treat and Extend". *Klin Monbl Augenheilkd*. 2018;235(8):930-9.
67. Saishin Y, Saishin Y, Takahashi K, Lima e Silva R, Hylton D, Rudge JS, Wiegand SJ, Campochiaro PA. VEGF-TRAP(R1R2) suppresses choroidal neovascularization and VEGF-induced breakdown of the blood-retinal barrier. *J Cell Physiol*. 2003;195(2):241-8.
68. Nork TM, Dubielzig RR, Christian BJ, Miller PE, Miller JM, Cao J, Zimmer EP, Wiegand SJ. Prevention of experimental choroidal neovascularization and resolution of active lesions by VEGF trap in nonhuman primates. *Arch Ophthalmol*. 2011;129(8):1042-52.
69. Nguyen QD, Shah SM, Hafiz G, Quinlan E, Sung J, Chu K, Cedarbaum JM, Campochiaro PA, Group C-AS. A phase I trial of an IV-administered vascular endothelial growth factor trap for treatment in patients with choroidal neovascularization due to age-related macular degeneration. *Ophthalmology*. 2006;113(9):1522 e1- e14.
70. Nguyen QD, Shah SM, Browning DJ, Hudson H, Sonkin P, Hariprasad SM, Kaiser P, Slakter JS, Haller J, Do DV, Mieler WF, Chu K, Yang K, Ingerman A, Vitti RL, Berliner AJ, Cedarbaum JM, Campochiaro PA. A phase I study of intravitreal vascular endothelial growth factor trap-eye in patients with neovascular age-related macular degeneration. *Ophthalmology*. 2009;116(11):2141-8 e1.
71. Heier JS, Boyer D, Nguyen QD, Marcus D, Roth DB, Yancopoulos G, Stahl N, Ingerman A, Vitti R, Berliner AJ, Yang K, Brown DM, Investigators C-I. The 1-year results of CLEAR-IT 2, a phase 2 study of vascular endothelial growth factor trap-eye dosed as-needed after 12-week fixed dosing. *Ophthalmology*. 2011;118(6):1098-106.
72. Garcia-Quintanilla L, Luaces-Rodriguez A, Gil-Martinez M, Mondelo-Garcia C, Maronas O, Mangas-Sanjuan V, Gonzalez-Barcia M, Zarra-Ferro I, Aguiar P, Otero-Espinar FJ, Fernandez-Ferreiro A. Pharmacokinetics of Intravitreal Anti-VEGF Drugs in Age-Related Macular Degeneration. *Pharmaceutics*. 2019;11(8):365.
73. Papadopoulos N, Martin J, Ruan Q, Rafique A, Rosconi MP, Shi E, Pyles EA, Yancopoulos GD, Stahl N, Wiegand SJ. Binding and neutralization of vascular

endothelial growth factor (VEGF) and related ligands by VEGF Trap, ranibizumab and bevacizumab. *Angiogenesis*. 2012;15(2):171-85.

74. Del Amo EM, Rimpela AK, Heikkinen E, Kari OK, Ramsay E, Lajunen T, Schmitt M, Pelkonen L, Bhattacharya M, Richardson D, Subrizi A, Turunen T, Reinisalo M, Itkonen J, Toropainen E, Casteleijn M, Kidron H, Antopolsky M, Vellonen KS, Ruponen M, Urtti A. Pharmacokinetic aspects of retinal drug delivery. *Prog Retin Eye Res*. 2017;57:134-85.

75. Bakri SJ, Snyder MR, Reid JM, Pulido JS, Singh RJ. Pharmacokinetics of intravitreal bevacizumab (Avastin). *Ophthalmology*. 2007;114(5):855-9.

76. Krohne TU, Eter N, Holz FG, Meyer CH. Intraocular pharmacokinetics of bevacizumab after a single intravitreal injection in humans. *Am J Ophthalmol*. 2008;146(4):508-12.

77. Krohne TU, Liu Z, Holz FG, Meyer CH. Intraocular pharmacokinetics of ranibizumab following a single intravitreal injection in humans. *Am J Ophthalmol*. 2012;154(4):682-6 e2.

78. Stewart MW. Extended Duration Vascular Endothelial Growth Factor Inhibition in the Eye: Failures, Successes, and Future Possibilities. *Pharmaceutics*. 2018;10(1):21.

79. Holz FG, Dugel PU, Weissgerber G, Hamilton R, Silva R, Bandello F, Larsen M, Weichselberger A, Wenzel A, Schmidt A, Escher D, Sararols L, Souied E. Single-Chain Antibody Fragment VEGF Inhibitor RTH258 for Neovascular Age-Related Macular Degeneration: A Randomized Controlled Study. *Ophthalmology*. 2016;123(5):1080-9.

80. Xu L, Lu T, Tuomi L, Jumbe N, Lu J, Eppler S, Kuebler P, Damico-Beyer LA, Joshi A. Pharmacokinetics of ranibizumab in patients with neovascular age-related macular degeneration: a population approach. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2013;54(3):1616-24.

81. Avery RL, Castellarin AA, Steinle NC, Dhoot DS, Pieramici DJ, See R, Couvillion S, Nasir MA, Rabena MD, Maia M, Van Everen S, Le K, Hanley WD. Systemic Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of Intravitreal Aflibercept, Bevacizumab, and Ranibizumab. *Retina*. 2017;37(10):1847-58.



82. Do DV, Rhoades W, Nguyen QD. Pharmacokinetic Study of Intravitreal Aflibercept in Humans with Neovascular Age-Related Macular Degeneration. *Retina*. 2020;40(4):643-7.
83. Stewart MW, Rosenfeld PJ. Predicted biological activity of intravitreal VEGF Trap. *Br J Ophthalmol*. 2008;92(5):667-8.
84. Stewart MW, Rosenfeld PJ, Penha FM, Wang F, Yehoshua Z, Bueno-Lopez E, Lopez PF. Pharmacokinetic rationale for dosing every 2 weeks versus 4 weeks with intravitreal ranibizumab, bevacizumab, and aflibercept (vascular endothelial growth factor Trap-eye). *Retina*. 2012;32(3):434-57.
85. Christoforidis JB, Williams MM, Kothandaraman S, Kumar K, Eitropoulos FJ, Knopp MV. Pharmacokinetic properties of intravitreal I-124-aflibercept in a rabbit model using PET/CT. *Curr Eye Res*. 2012;37(12):1171-4.
86. Funatsu H, Yamashita H, Noma H, Mimura T, Nakamura S, Sakata K, Hori S. Aqueous humor levels of cytokines are related to vitreous levels and progression of diabetic retinopathy in diabetic patients. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 2005;243(1):3-8.
87. Noma H, Funatsu H, Yamasaki M, Tsukamoto H, Mimura T, Sone T, Hirayama T, Tamura H, Yamashita H, Minamoto A, Mishima HK. Aqueous humour levels of cytokines are correlated to vitreous levels and severity of macular oedema in branch retinal vein occlusion. *Eye (Lond)*. 2008;22(1):42-8.
88. Muether PS, Hermann MM, Viebahn U, Kirchhof B, Fauser S. Vascular endothelial growth factor in patients with exudative age-related macular degeneration treated with ranibizumab. *Ophthalmology*. 2012;119(10):2082-6.
89. Muether PS, Hermann MM, Droge K, Kirchhof B, Fauser S. Long-term stability of vascular endothelial growth factor suppression time under ranibizumab treatment in age-related macular degeneration. *Am J Ophthalmol*. 2013;156(5):989-93 e2.
90. Muether PS, Droege KM, Fauser S. Vascular endothelial growth factor suppression times in patients with diabetic macular oedema treated with ranibizumab. *Br J Ophthalmol*. 2014;98(2):179-81.

91. Finger RP, Wickremasinghe SS, Baird PN, Guymer RH. Predictors of anti-VEGF treatment response in neovascular age-related macular degeneration. *Surv Ophthalmol.* 2014;59(1):1-18.
92. Barthelmes D, Nguyen V, Daien V, Campain A, Walton R, Guymer R, Morlet N, Hunyor AP, Essex RW, Arnold JJ, Gillies MC, Fight Retinal Blindness Study G. Two Year Outcomes of "Treat and Extend" Intravitreal Therapy Using Aflibercept Preferentially for Neovascular Age-Related Macular Degeneration. *Retina.* 2018;38(1):20-8.
93. Ebnetter A, Michels S, Prunte C, Imesch P, Eilenberger F, Oesch S, Thomet-Hunziker IP, Hatz K. Two-year outcomes of intravitreal aflibercept in a Swiss routine treat and extend regimen for patients with neovascular age-related macular degeneration. *Sci Rep.* 2020;10(1):20256.
94. Ohji M, Takahashi K, Okada AA, Kobayashi M, Matsuda Y, Terano Y, Investigators A. Efficacy and Safety of Intravitreal Aflibercept Treat-and-Extend Regimens in Exudative Age-Related Macular Degeneration: 52- and 96-Week Findings from ALTAIR : A Randomized Controlled Trial. *Adv Ther.* 2020;37(3):1173-87.
95. Khurana RN, Rahimy E, Joseph WA, Saroj N, Gibson A, Vitti R, Berliner AJ, Chu K, Cheng Y, Boyer DS. Extended (Every 12 Weeks or Longer) Dosing Interval With Intravitreal Aflibercept and Ranibizumab in Neovascular Age-Related Macular Degeneration: Post Hoc Analysis of VIEW Trials. *Am J Ophthalmol.* 2019;200:161-8.
96. Schroeder D. Presse-Information: Bayer erhält Zulassung für neues Behandlungsschema mit Eylea® in der EU. Bayer AG. 2018 [https://www.media.bayer.de/baynews/baynews.nsf/id/67BE9A5722B6750FC12582DC002ABEE4/\\$File/2018-0209.pdf](https://www.media.bayer.de/baynews/baynews.nsf/id/67BE9A5722B6750FC12582DC002ABEE4/$File/2018-0209.pdf) [Zuletzt abgerufen am 14.12.2021].
97. Fauser S, Muether PS. Clinical correlation to differences in ranibizumab and aflibercept vascular endothelial growth factor suppression times. *Br J Ophthalmol.* 2016;100(11):1494-8.
98. Enders P, Scholz P, Muether PS, Fauser S. Variability of disease activity in patients treated with ranibizumab for neovascular age-related macular degeneration. *Eye (Lond).* 2016;30(8):1072-6.

99. Mitchell P, Holz FG, Hykin P, Midea E, Souied E, Allmeier H, Lambrou G, Schmelter T, Wolf S. EFFICACY AND SAFETY OF INTRAVITREAL AFLIBERCEPT USING A TREAT-AND-EXTEND REGIMEN FOR NEOVASCULAR AGE-RELATED MACULAR DEGENERATION: The ARIES Study: A Randomized Clinical Trial. *Retina*. 2021;41(9):1911-20.

## **7. Vorabveröffentlichung von Ergebnissen**

Fauser S, Schwabecker V, Muether PS. Suppression of intraocular vascular endothelial growth factor during aflibercept treatment of age-related macular degeneration. *Am J Ophthalmol.* 2014;158(3):532-6.

## 8. Anhang

### 8.1 Abbildungsverzeichnis

**Abbildung 1:** Streudiagramme von zwei Patienten zeigen Zeitintervalle in Tagen seit der letzten intravitrealen Aflibercept-Injektion (days after aflibercept injection) und die entsprechenden VEGF-Konzentrationen im Vorderkammerwasser (VEGF pg/ml) .....31

**Abbildung 2:** Gestapeltes Histogramm mit allen Studienpatienten. Das Histogramm zeigt sowohl die Dauer der kompletten VEGF-Suppression als auch das Ende der VEGF-Suppression, wenn überhaupt definierbar .....32

### 8.2 Tabellenverzeichnis

**Tabelle 1:** Klinisches Klassifikationssystem der AMD nach dem AMD-Klassifikationskomitee der Beckman-Initiative für Makula-Forschung ..... 10

**Tabelle 2:** Molekulargewicht und Halbwertszeiten von unterschiedlichen Anti-VEGF-Medikamenten.....24

**Tabelle 3:** Liste der verwendeten Medikamente, Reagenzien, Geräte, Software und weiteren Verbrauchsmaterialien.....28

**Tabelle 4:** Klinische Merkmale der Studienpopulation während der Behandlung mit Aflibercept bei der neovaskulären altersbedingten Makuladegeneration.....30

## **9. Lebenslauf**

Mein Lebenslauf wird aus Gründen des Datenschutzes in der elektronischen Fassung meiner Arbeit nicht veröffentlicht.