

Aus der Klinik für Ophthalmologie  
(Direktor: Prof. Dr. Johann Roider)  
im Universitätsklinikum Schleswig-Holstein, Campus Kiel  
an der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel

**Etablierung von spezifischen AMD-relevanten  
Genexpressionspanels (oxidativer Stress, Inflammation,  
Angiogenese) für das porcine retinale Pigmentepithel und deren  
Beeinflussung durch Fucoidan**

Inauguraldissertation  
zur  
Erlangung der Doktorwürde der Medizin  
der Medizinischen Fakultät  
der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel

vorgelegt von  
**Hubeydullah Akkurt**  
aus Greven  
Kiel 2024

1. Berichterstatterin: Prof. Dr. Alexa Karina Klettner, Klinik für Ophthalmologie, Quincke Forschungszentrum
2. Berichterstatterin: Priv. Doz. Dr. rer. nat. Vicki Wätzig, Institut für Experimentelle u. Klinische Pharmakologie

Tag der mündlichen Prüfung: 26.03.2025

Zum Druck genehmigt, Kiel, den 13.11.2024

gez.: Prof. Dr. Franziska Theilig

(Vorsitzende der Prüfungskommission)

## Inhaltsverzeichnis

**Abkürzungsverzeichnis.....III**

**Abbildungsverzeichnis .....IV**

**Tabellenverzeichnis .....V**

**1 Einleitung .....1**

1.1 Das Auge .....	1
1.1.1 Der Sehsinn .....	1
1.1.2 Retina.....	2
1.1.3 Retinales Pigmentepithel.....	3
1.1.4 Makula.....	4
1.2 Altersbedingte Makuladegeneration .....	5
1.2.1 Definition und Epidemiologie.....	5
1.2.2 Klassifikation und Risikofaktoren.....	6
1.2.3 Pathophysiologie.....	7
1.2.4 Therapieansätze .....	10
1.3 Fucoidane als neuer Therapieansatz.....	12
1.3.1 Braunalgen.....	12
1.3.2 Fucoidane – Herkunft und Struktur .....	12
1.3.3 Fucoidane – biologische Aktivitäten und Anwendungsgebiete .....	13
1.4 Zielstellung.....	15

**2 Material und Methoden.....17**

2.1 Material .....	17
2.2 Methoden.....	24
2.2.1 Modellsystem – Primäres porcines retinale Pigmentepithel .....	24
2.2.2 Zellstimulation .....	25
2.2.3 Zellviabilitäts-Assay.....	25
2.2.4 Ribonukleinsäuren (RNA)-Isolation .....	26
2.2.5 Komplementäre Desoxyribonukleinsäure-Gewinnung.....	27
2.2.6 Real-Time quantitative Polymerase-Kettenreaktion .....	27

2.2.7 Taqman™ Array .....	28
2.3 Statistische Auswertung.....	29
<b>3 Ergebnisse .....</b>	<b>30</b>
3.1 Zellviabilität unter Stressparameter .....	30
3.2 Etablierung von Positivkontrollen für die Gene-Arrays.....	33
3.2.1 Etablierung von Positivkontrollen für den Inflammationsarray .....	33
3.2.2 Etablierung von Positivkontrollen für den oxidativen Stress- Genearray .....	37
3.2.3 Etablierung von Positivkontrollen für das Angiogenese- Genearray .....	43
3.3 Etablierung von Genexpressionspanels.....	46
3.3.1 Entzündungsarray und dessen Beeinflussung durch FV-Fucoidan..	46
3.3.2 Oxidativer Stressarray und dessen Beeinflussung durch FV- Fucoidan .....	49
3.3.3 Angiogenesearray und dessen Beeinflussung durch FV-Fucoidan..	54
<b>4 Diskussion .....</b>	<b>57</b>
4.1 Genaktivierung unter Stressparametern .....	58
4.1.1 Inflammationsarray .....	58
4.1.2 Oxidativer Stressarray .....	65
4.1.3 Angiogenesearray .....	68
4.2 Beeinflussung durch Fucoidan.....	70
4.3 Fazit.....	72
<b>5 Zusammenfassung.....</b>	<b>74</b>
<b>6 Literaturverzeichnis.....</b>	<b>75</b>
<b>7 Anhang .....</b>	<b>102</b>
7.1 Genearray Ergebnisse .....	102
7.2 Publikation dieser Dissertation.....	158
<b>8 Danksagung.....</b>	<b>171</b>
<b>9 Preise, Publikationen und Kongressbeiträge .....</b>	<b>172</b>
<b>10 Eidestattliche Erklärung.....</b>	<b>173</b>

## Abkürzungsverzeichnis

<b>AMD</b>	altersbedingte Makuladegeneration
<b>DMSO</b>	Dimethylsulfoxid
<b>EDTA</b>	Ethyldiamintetraessigsäure
<b>IL</b>	Interleukin
<b>LPS</b>	Lipopolsaccharide
<b>MTT</b>	3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazoliumbromid
<b>PBS</b>	Penicillin/Streptomycin
<b>FCS</b>	fetal calf serum
<b>FV</b>	<i>Fucus vesiculosus</i>
<b>Poly(I:C)</b>	Polyinosinsäure:Polycytidylsäure
<b>Pe/St</b>	Ethyldiamintetraessigsäure
<b>TBHP</b>	tert-Butylhydroperoxid
<b>RPE</b>	Retinales Pigmentepithel
<b>NaCl</b>	Natriumchlorid
<b>cDNA</b>	komplementäre Desoxyribonukleinsäure
<b>qRT-PCR</b>	Quantitative Real-time PCR
<b>UNG</b>	Uracil-DNA-Glycosidase

## Abbildungsverzeichnis

Seite

Abbildung 1: Histologische Darstellung der Retina, Chorioidea und Sklera .....	2
Abbildung 2: Zonen der Makula .....	5
Abbildung 3: Zellviabilität von RPE-Zellen unter Inflammation .....	31
Abbildung 4: Zellviabilität von RPE-Zellen unter oxidativen Stress. ....	32
Abbildung 5: Zellviabilität von RPE-Zellen unter Hypoxie .....	33
Abbildung 6: Inflammationsarray mit Genen beeinflusst durch LPS (a) und LPS+FV (b)....	49
Abbildung 7: Vulkandiagramm für das Inflammationsarray gegen die Kontrolle (K).....	49
Abbildung 8: Vulkandiagramm für das Inflammationsarray gegen LPS.....	49
Abbildung 9: Oxidativer Stressarray mit Genen beeinflusst durch (a) LPS und durch (b) LPS+FV.....	52
Abbildung 10: Vulkandiagramm für das oxidative Stressarray, stimuliert mit LPS, gegen die unbehandelte Kontrolle .....	52
Abbildung 11: Vulkandiagramm für das oxidative Stressarray, stimuliert mit LPS und FV- Fucoidan, gegen LPS alleine .....	53
Abbildung 12: Vulkandiagramm für das oxidative Stressarray, stimuliert mit 100 µM H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> , gegen die unbehandelte Kontrolle.....	53
Abbildung 13: Vulkandiagramm für das oxidative Stressarray, stimuliert mit H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> und FV- Fucoidan, gegen H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> als Kontrolle .....	54
Abbildung 14: Angiogenesearray mit Genen beeinflusst durch (a) CoCl <sub>2</sub> und durch (b) CoCl <sub>2</sub> + FV.....	55
Abbildung 15: Vulkandiagramm für das Angiogenesearray, stimuliert mit CoCl <sub>2</sub> , gegen die unbehandelte Kontrolle .....	56
Abbildung 16: Vulkandiagramm für das Angiogenesearray, stimuliert mit CoCl <sub>2</sub> und FV- Fucoidan, gegen CoCl <sub>2</sub> als Kontrolle.....	56

## Tabellenverzeichnis

	<u>Seite</u>
Tabelle 1: Chemikalien und Reagenzien.....	17
Tabelle 2: Verwendete Materialien .....	18
Tabelle 3: Verwendete Kits.....	19
Tabelle 4: Verwendete Primer.....	20
Tabelle 5: Verwendete Kulturmedien und Puffer .....	21
Tabelle 6: Verwendete Braunalgen (Fucoidane).....	22
Tabelle 7: Verwendete Geräte.....	22
Tabelle 8: Verwendete Software .....	24
Tabelle 9: Programmierung des Thermocyclers .....	27
Tabelle 10: Programmierung des QuantStudio® 3 Real-Time-PCR-Systems .....	27
Tabelle 11: Vorversuche mit Interleukin 8 ( <i>IL-8</i> ) als Markergen .....	34
Tabelle 12: Testung von Positivkontrolle für Interleukin 6 ( <i>IL-6</i> ) und NF-kappa-B-activating protein ( <i>NKAP</i> ).....	35
Tabelle 13: Vorversuche mit Fucoidan und etablierten Noxen für Gene, relevant für Inflammation .....	36
Tabelle 14: Vorversuche zur Etablierung von Noxen, die Gene, relevant für oxidativen Stress, stimulieren.....	38
Tabelle 15: Vorversuche mit etablierten Noxen, die oxidativen Stress relevante Gene stimulieren, sowie deren Beeinflussung durch Fucoidan.....	42
Tabelle 16: Vorversuche zur Etablierung von Noxen, die Gene, relevant für Angiogenese, stimulieren.....	43
Tabelle 17: Vorversuche mit etablierten Noxen, die Angiogenese relevante Gene stimulieren, sowie deren Beeinflussung durch Fucoidan.....	44
Tabelle 18: Entzündungsarray mit durch 10 µg/mL LPS hochregulierte Gene.....	46
Tabelle 19: Entzündungsarray mit durch 10 µg/mL LPS runterregulierte Gene .....	47
Tabelle 20: Oxidativer Stressarray mit durch 10 µg/mL LPS hochregulierte Gene .....	50
Tabelle 21: Oxidativer Stressarray mit durch 10 µg/mL LPS runterregulierte Gene.....	51
Tabelle 22: Angiogenesearray mit durch 150 µM CoCl <sub>2</sub> hochregulierte Gene .....	54

# 1 Einleitung

Das Sehvermögen ist für die Menschen von größter Bedeutung. So geben beispielsweise viele Menschen in den USA und im Vereinigten Königreich an, dass sie unter allen Sinnesmodalitäten den Sehsinn als wertvollsten empfinden (Scott et al. 2016; Enoch et al. 2019). Entsprechend ist es nicht verwunderlich, dass die Beeinträchtigung der Sehkraft zu einer starken Minderung der Lebensqualität führt (Davidov et al. 2009). Antworten auf die Frage, wieso uns Menschen das Augenlicht so wichtig ist, liefert Hutmacher (Hutmacher 2019). Er zählt die häufig genannten Gründe auf, wieso es mehr Forschung zum Sehsinn als zu anderen Sinnen gibt. So beschreibt er, dass häufig damit argumentiert wird, dass das Auge für den Menschen sehr wichtig und komplex ist, aber auch, weil der Sehsinn mit den heutigen Technologien besser als andere Sinne erforscht werden kann. Ein weiterer Grund ist, dass der Sehsinn kulturell eng mit der Entscheidungsfindung des Menschen zusammenhängt (Hutmacher 2019).

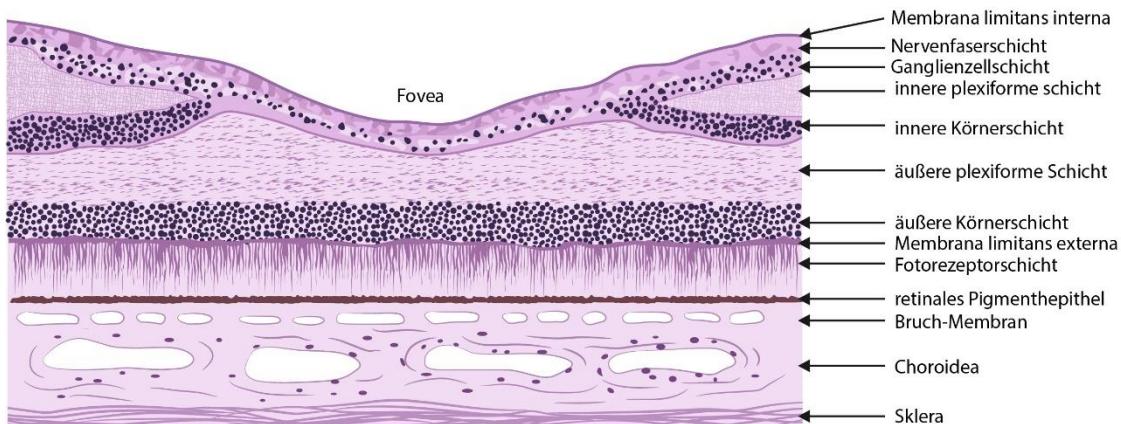
## 1.1 Das Auge

### 1.1.1 Der Sehsinn

Das Auge ist das Sinnesorgan, das wahrgenommenes Licht photochemisch in neuronale Reize umwandelt, um so das Sehen zu ermöglichen (Joachim & Strobel 2014). Es entwickelt sich in vielen einzelnen Entwicklungsschritten aus dem Mesoderm und aus dem Ektoderm, das wiederum in Neuro- und Oberflächenektoderm unterteilt ist (Sinn und Wittbrodt 2013; Snell und Lemp 2013). Die ausgereiften anatomischen Strukturen, die zum Auge gehören, sind der Augapfel (Bulbus oculi), der Sehnerv (Nervus opticus) und der Hilfsapparat, bestehend aus Augenmuskeln, Augenlidern und dem Tränenapparat (Aumüller et al. 2017). Aus histologischer Sicht betrachtet setzt sich der Augapfel aus drei differenzierten Schichten zusammen. Die erste Schicht besteht aus der Tunica fibrosa bulbi, zu der Konjunktiva, Sklera und Cornea gehören. Darauf folgt die zweite Schicht, die Tunica vasculosa bulbi (Uvea), die sich aus der Regenbogenhaut (Iris), dem Strahlenkörper (Corpus ciliare) und der Aderhaut (Choroidea) zusammensetzt. Die letzte und innerste Schicht ist die Tunica interna bulbi (Retina), zu der ein lichtempfindlicher (Pars optica, zur Aderhaut hin) und ein lichtunempfindlicher Teil (Pars caeca, zum Ziliarkörper hin) zählen (Kirsch et al. 2017).

### 1.1.2 Retina

Die Retina (Netzhaut) entsteht embryologisch aus dem Neuralrohr bzw. aus dem Neuroektoderm. Bei der Entwicklung der Retina werden während der Zellteilung und anschließender Zellmigration mehrere Schichten gebildet. Diese Entwicklung verläuft von innen nach außen, dabei bilden sich als Erstes die Ganglienzellen und zuletzt die Photorezeptorzellen (Kolb 2005). Die ausgereiften Schichten lassen sich histologisch gut differenzieren (Abbildung 1). Die innerste Schicht der Retina ist die Membrana limitans interna. Darauf folgt von innen nach außen die Nervenfaserschicht, die Ganglienzellschicht, die innere plexiforme Schicht, die innere Körnerschicht, die unter anderem die Bipolarzellen beinhaltet, die äußere plexiforme Schicht, die äußere Körnerschicht, die Membrana limitans externa, die Rezeptorzellschicht und als äußerste Schicht der Retina das retinale Pigmentepithel (RPE). Am RPE grenzt die Bruch-Membran und die Choriokapillaris, worauf im Anschluss die Chorioidea und als äußerste Schicht des Auges die Sklera folgt (Kellner & Wachtlin 2008).



**Abbildung 1: Histologische Darstellung der Retina, Chorioidea und Sklera.** Dargestellt ist der histologische Aufbau der Retina sowie Teile von umliegenden Strukturen (eigene Abbildung).

In der Retina befinden sich dicht aneinander angesiedelt etwa sechs Millionen Zapfen und ungefähr 120 Millionen Stäbchen (Sherwood 2010). Die Stäbchen, die sich hauptsächlich in der Peripherie befinden, sind zuständig für das Sehen bei geringem Licht (skotopisches Sehen). Die Zapfen besiedeln zum Großteil den zentralen Bereich der Retina. Diese können drei verschiedene Wellenlängenbereiche des Lichts zur Farbwahrnehmung erfassen und sind für das Sehen bei stärkerem Licht (photopisches Sehen) zuständig (Mahabadi & Al Khalili 2019). Einer der Gründe, warum sich die Lichtsensitivität der beiden Photorezeptorzellen unterscheidet, liegt darin, dass bei Stäbchen frühe Ereignisse in der Transduktionskaskade eine größere Verstärkung haben und Kanäle schneller schließen, als bei Zapfen (Kawamura & Tachibanaki 2008). Die Photorezeptorzellen erstrecken sich von ihren Synapsen in der äußeren plexiformen

Schicht bis zu ihren distalen Enden, die wiederum im RPE eingebettet sind. Um die Lichtbündelung zu maximieren, sind die langen und dünnen Zellen radial angeordnet, entsprechend ist eine effiziente Phototransduktion von der Organisation der Photorezeptoren im RPE abhängig (Levin et al. 2011; Ingram et al. 2016; Rehman 2022). Die Phototransduktion erfolgt nämlich nicht wie in den meisten sensorischen Systemen durch Aktionspotentiale, sondern durch Depolarisation von Photorezeptoren, was zur Freisetzung von Neurotransmittern und zur Weiterleitung von Signalen an die nachgeschalteten Nervenzellen führt (Purves et al. 2001).

### 1.1.3 Retinales Pigmentepithel

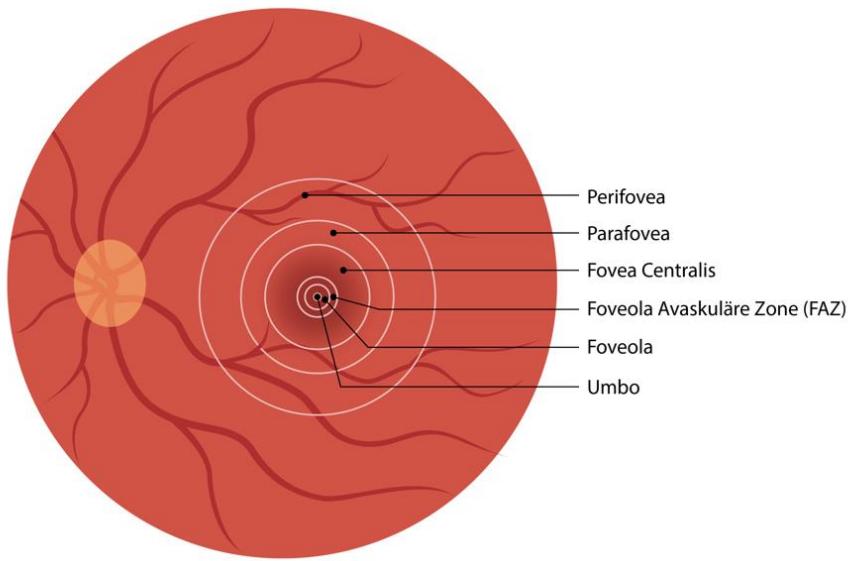
Das RPE entwickelt sich, wie die Neuroretina, aus dem Neuroektoderm (Fuhrmann et al. 2014). Es ist ein einschichtiges, kubisches Epithel, das sich zwischen den choriokapillaren Gefäßen und den lichtempfindlichen Außensegmenten der Photorezeptoren befindet (Peyman & Bok 1972). Auf der apikalen Oberfläche dieser Zellen befinden sich lange, dünne Mikrovilli, von denen angenommen wird, dass sie die verfügbare Fläche der apikalen Plasmamembran für den transepithelialen Transport maximieren. Ebenso finden sich im RPE spezialisierte Mikrovilli, die als Photorezeptorthüllen bezeichnet werden (Strauss 2005). Die basale Oberfläche des RPE, zusammengesetzt aus Laminin, Fibronectin und Typ-IV-Kollagen, enthält zahlreiche Einstülpungen, die wie ihre apikalen Gegenstücke die Gesamtoberfläche für die Aufnahme von Nährstoffen vergrößern (Zarbin 2004). Die seitlichen Membranen dieser Zellen sind durch einen kontinuierlichen Gürtel aus *Tight Junctions* verbunden, die den äußeren Teil der Blut-Retina-Schranke bilden. Den inneren Teil der Blut-Retina-Schranke bilden hingegen die Endothelzellen der retinalen Gefäße aus (Strauss 2005). In den RPE-Zellen selbst befinden sich basal zum Zellkern gelegen Mitochondrien und viele freie Ribosome sowie endoplasmatisches Retikulum. Zudem enthalten die RPE-Zellen Lysosome und Granula wie beispielsweise Melanin- und Lipofuszin-Granula (Peyman et al. 1971; Cunha-Vaz 1976; Strauss 2005; Kellner & Wachtlin 2008). Das RPE stellt eine Pigmentschicht dar, die nicht nur die von der Linse auf die Netzhaut fokussierte Lichtenergie absorbiert, sondern auch weitere Funktionen erfüllt, wie beispielsweise die Aufnahme, Verarbeitung und den Transport von Retinol (Vitamin A) sowie Retinoiden, die für das Sehvermögen eine wichtige Rolle spielen. Außerdem ist das RPE zur Phagozytose fähig, bei der es abgelöste distale Bestandteile der äußeren Segmente der lichtempfindlichen Rezeptorzellen aufnimmt und abbaut (Strauss 2005; Bok 1993; de Jong 2006). Verschlungenes zytoplasmatisches Material wird dann durch die Bruch-Membran in die Choriokapillaris transportiert (Burns und Feeney-Burns 1980). Das RPE erfüllt weiterhin

Aufgaben im Erhalt der visuellen Wahrnehmung, da es eng mit den Stäbchen und Zapfen assoziiert ist. Die Rezeptorzellen erhalten nämlich Nährstoffe über die Bruch-Membran, Pigmentschicht und die Choriokapillaris (Garron 1963). Durch die Nähe zu den Außensegmenten der Zapfen und Stäbchen kann das RPE all-trans-retinal zu 11-cis-retinal umwandeln, das dann erneut für die Phototransduktion verwendet werden kann (Strauss 2011). Immunregulation ist ebenso Teil der Aufgaben des RPE, indem es durch lösliche Komponenten und direkte T-Zellen-Interaktion die adaptive Immunantwort inhibiert (Klettner 2015; Zamiri et al. 2007). Das RPE kann zudem auch proinflammatorisch mithilfe von beispielsweise *Toll-like*-Rezeptoren (TLR) und der Produktion von Zytokinen wie Interleukin- $\alpha$ ; -1 $\beta$  -6; -8; -15 (IL- $\alpha$ ; -1 $\beta$ ; -6; -8; -15), Tumornekrosefaktor - $\alpha$ ; - $\beta$  (TNF- $\alpha$ ; - $\beta$ ), vaskulärer endothelialer Wachstumsfaktoren (engl. *vascular endothelial growth factor*, VEGF), Wachstumsfaktor aus Thrombozyten (engl. *platelet-derived growth factor*, PDGF) wirken (Holtkamp et al. 2001; Klettner & Roider 2021). Auch die Bruch-Membran, die als Grenzschicht für viele Substanzen gilt, kann unter anderem auch den Eintritt von Immunzellen verhindern (Klettner 2015a). Des Weiteren kann das RPE mithilfe eingelagertem Melanin, Autophagie und antioxidative Mechanismen, die insbesondere gegen reaktive Sauerstoffspezies (ROS) schützen, protektiv gegenüber oxidativem Stress wirken (Klettner 2012). Um oxidativen Stress weitgehend zu begrenzen, kann das RPE die Wellenlänge und die Lichtintensität, die das RPE erreicht, durch das Makulapigment dämpfen, indem es blaues Licht herausfiltert (Beatty et al. 1999). Das enthaltende Melanin, das als Neutraldichtefilter agiert, kann die in das RPE eintretenden Lichtmengen reduzieren (Boulton & Dayhaw-Barker 2001). Zudem enthält das RPE Antioxidantien, die entweder enzymatisch (bspw. Superoxiddismutase und Katalase) und nicht-enzymatisch (bspw. Glutathion, Ascorbat,  $\alpha$ -Tocopherol, Carotinoide, Melanin) sind, um reaktive Sauerstoffspezies zu neutralisieren, bevor diese Zellschädigungen verursachen können (Newsome et al. 1994; Beatty et al. 2000). Dennoch ist trotz dieser Schutzmechanismen oxidativer Stress unvermeidlich. Jedoch ist das RPE zusätzlich in der Lage, bereits beschädigte Lipide, Proteine und Nukleinsäuren zu erkennen und zu reparieren oder zu ersetzen (Arking 1998).

#### **1.1.4 Makula**

Die Makula befindet sich im Zentrum der Netzhaut und wenn man sie in der funduskopischen Untersuchung betrachtet, so findet man sie temporal der Sehnervenscheibe (Papille). Sie ist ein spezieller Bereich, der nur bei tagaktiven Primatenarten wie z.B. Gorillas und Menschen vorkommt. Die für die gelbliche Pigmentierung verantwortlichen Carotinoide (Lutein und

Zeaxanthin) verhelfen der Makula zu ihrer protektiven Eigenschaft, wie beispielsweise Blaulicht zu filtern. Die Photorezeptorzellen der Makula bestehen hauptsächlich aus Zapfen und sind für das Farbsehen verantwortlich, während die Stäbchen, die für das Sehen bei skotopischem Licht zuständig sind, insbesondere in den übrigen Bereichen der Retina zu finden sind. Zudem ist die Makula der empfindlichste Bereich der Retina mit der höchsten Sehschärfe. In der Peripherie durchläuft das Licht mehrere Schichten der Netzhaut, bevor es auf die Fotorezeptoren trifft. Im Zentrum der Makula fehlen jedoch diese Schichten, weswegen dieser Bereich direkt von Lichteinstrahlungen ausgesetzt ist (Gerster 1991; Jia et al. 2017). Das Licht, das durch die Kornea und die Linse auf die Retina fokussiert wird, trifft die Makula, auf der sich im Zentrum der Sehachse die Fovea befindet. Es ist der Bereich der Makula, in dem die maximale Sehschärfe erreichbar ist (Kolb 2005). Die Fovea ist eine avaskuläre Vertiefung mit einer hohen Konzentration von Zapfen. Sie unterteilt sich in nacheinander kleiner werdende konzentrische Zonen (Abbildung 2) mit sinkender Stäbchendichte und abnehmenden Zellschichten, die die Photorezeptoren bedecken. Diese Zonen werden (von außen nach innen) Perifovea, Parafovea, Fovea, Foveale avaskuläre Zone (FAZ), Foveola und Umbo genannt (Nguyen et al. 2021).



**Abbildung 2: Zonen der Makula (eigene Abbildung).** Abgebildet ist die Netzhaut mit der Papille (gelb) und den retinalen Gefäßen (rot) sowie die Zonen der Makula (weiß eingekreist) (eigene Abbildung).

## 1.2 Altersbedingte Makuladegeneration

### 1.2.1 Definition und Epidemiologie

Die altersbedingte Makuladegeneration ist eine degenerative Erkrankung des zentralen Bereichs der Retina (Makula), meist bei über 65-Jährigen, die in der Regel mit einer

progredienten Sehverschlechterung einhergeht. Zu den Risikofaktoren zählen in erster Linie ein höheres Lebensalter und ungesunder Lebensstil (Bird et al. 1995). Zudem spielen bestimmte Gene eine sehr wichtige Rolle (Katta et al. 2009). Einige dieser Gene werden im Abschnitt 1.2.3 „Pathophysiologie“ näher erläutert.

Generell gehören zu den häufigsten Ursachen für altersbedingte Sehbeeinträchtigungen die Katarakt, die Makuladegeneration, das Glaukom und die diabetische Retinopathie (Congdon et al. 2003). Davon ist die altersbedingte Makuladegeneration (AMD) die häufigste Ursache für irreversiblen zentralen Sehverlust in den Industrieländern (Finger et al. 2012). Diese Beeinträchtigung des Sehvermögens führt in vielen Fällen zum prägnantesten Einfluss auf die Lebensqualität (Krey et al. 1986). Beispielsweise waren in den Vereinigten Staaten im Jahre 2019 schätzungsweise 19,8 Millionen (12,6%) Amerikaner ab 40 Jahren an AMD erkrankt (Rein et al. 2022). In Europa wird die Zahl der an AMD erkrankten Patienten auf etwa 67 Millionen mit einer Wachstumsprognose in Höhe von 15% bis 2050 geschätzt. Grund für den starken Prävalenzanstieg ist insbesondere die zunehmende Alterung der Gesellschaft (Li et al. 2020). Betrachtet man die Entwicklung weltweit, so wird im Jahre 2040 ein Wachstum der AMD-Patienten auf 288 Millionen prognostiziert (Wong 2014).

### **1.2.2 Klassifikation und Risikofaktoren**

Klinisch betrifft die AMD zunächst den zentralen Bereich der Retina (Makula) und wird in ein frühes und ein fortgeschrittenes Stadium unterteilt. Die fortgeschrittene Form der AMD wird zusätzlich in nicht-exsudative (atrophe, trockene AMD) und in exsudative (nevaskuläre, feuchte AMD) unterteilt. Die meisten schwerwiegenden Sehbeeinträchtigungen werden hauptsächlich bei der feuchten AMD gesehen (Deng 2021).

Betrachtet man die Risikofaktoren der AMD, so ist in erster Linie ein zunehmendes Alter am stärksten mit der Entwicklung der AMD assoziiert. Zigarettenrauchen, frühere Kataraktoperationen, eine familiäre Vorgeschichte, ein hoher Body-Mass-Index, Bluthochdruck, kardiovaskuläre Erkrankungen, höheres Fibrinogen im Plasma, hohes *High Density Lipoprotein* (HDL) und hohe Triglyceridwerte werden als potenzielle Risikofaktoren für die Entwicklung der AMD diskutiert (Chakravarthy et al. 2010). Zusätzlich sollen auch Geschlecht, Ethnie, eine Diabeteserkrankung (vornehmlich diabetische Retinopathie) und die Augenfarbe eine Rolle spielen (Chakravarthy et al. 2010; Srinivasan et al. 2017).

### 1.2.3 Pathophysiologie

AMD ist eine multifaktorielle Krankheit, die durch verschiedene pathologische Einflüsse bedingt ist. Zu den Hauptfaktoren verantwortlich für die Entwicklung der AMD zählt neben zunehmendem Alter und Umweltfaktoren die genetische Veranlagung. Die im Wesentlichen daran beteiligten pathophysiologischen Mechanismen sind Inflammation, oxidativer Stress, Angiogenese und Störungen des Lipidstoffwechsels (Tan et al. 2020; Skerka & Zipfel 2008; Handa et al. 1999; de Oliveira Dias et al. 2011; Barter et al. 2003).

Bezüglich der genetischen Veranlagung als Ursache für die Entwicklung der AMD gibt es zahlreiche Erklärungsansätze. So ist beispielsweise das Gen für den Komplementfaktor H (*CFH*), welcher an der Regulation des Komplementsystems beteiligt ist, in den Fokus gerückt (Fisher et al. 2005). Eine Mutation, die Tyrosin in Histidin im Genlocus 402 umwandelt, steigert das Risiko für die Entwicklung einer AMD (Hageman et al. 2005; Edwards et al. 2005). Zusätzlich werden die Toll-like-Rezeptoren 3, 4 und 7 (TLR3, TLR4, TLR7), die am angeborenen Immunsystem beteiligt sind, aufgrund von Hinweisen aus genetischen Assoziationsstudien mit einigen Fällen von AMD in Verbindung gebracht (Edwards et al. 2008). Es wurde ebenfalls nachgewiesen, dass eine Mutation von *complement factor B* (*CFB*), *complement factor C2* und *complement factor C3* zu einer Hyperaktivität bzw. zur Entwicklung von Membranangriffskomplexen beiträgt (Yu et al. 2012; Heesterbeek et al. 2020; Ratnapriya et. al. 2020). *Age-Related Maculopathy Susceptibility 2* (*ARMS2*), *HtrA Serine Peptidase 1* (*HTRA1*) und *Pleckstrin Homology Domain Containing A1* (*PLEKHA1*) sind weitere Gene lokalisiert im Chromosom 10q26, welche eine Region ist, die eng mit der Entwicklung der AMD in Verbindung steht (Wang 2014). Die durch diese Gene kodierten Proteine werden in den RPE Zellen exprimiert und das Vorhandensein dieser Proteine wird ebenfalls in den Drusen vermutet (Wang 2014). Gene wie *Lipase C* (*LIPC*), *ATP Binding Cassette Subfamily A Member 1* (A *ABCA1*) und *Cholesteryl Ester Transfer Protein* (*CETP*) sind am Fettstoffwechsel, *TIMP Metallopeptidase Inhibitor 3* (*TIMP3*), *Collagen Type X Alpha 1 Chain* (*COL10A1*) und *Collagen Type VIII Alpha 1 Chain* (*COL8A1*) an der Organisation der extrazellulären Matrix und *VEGFA* an der Angiogenese beteiligt. Auch diese Gene sind mit der Pathogenese der AMD assoziiert (Zareparsi et al. 2005; Zajac-Pytrus 2015; Anderson et al. 2010). Das für *Apolipoprotein E* (*APOE*) kodierende Gen wurde ebenso mehrfach in verschiedenen Studien mit der Entwicklung der AMD in Verbindung gebracht (Baird et al. 2004).

Abgesehen von den Genstudien konnte in diversen Forschungsarbeiten gezeigt werden, dass langanhaltender inflammatorischer Stress nachweislich die Viabilität, die

Barriereeigenschaften und die zelluläre Funktion des RPE reduziert und zusätzlich die Sekretion von proinflammatorischen Zytokinen fördert. Diese Änderungen können schließlich zu atrofischen Veränderungen bei der AMD führen (Klettner et al. 2020). Klettner et. al. (2020) zeigten beispielsweise, dass sowohl LPS als auch TNF- $\alpha$  die Zellviabilität nach kurzer Zeit beeinflussten, und, dass bei Polyinosinsäure:Polycytidylsäure (Poly(I:C)) dieser Effekt nach sieben Tagen und vier Wochen eintrat. Darüber hinaus führten LPS, Poly(I:C) und TNF- $\alpha$  zu signifikanten Freisetzung von IL-6 und IL-8, und bei LPS und Poly(I:C) wurde dies zusätzlich für IL-1 $\beta$  beobachtet. Die Freisetzung von TNF- $\alpha$  stieg nach einem Tag durch Poly(I:C) und LPS an, nahm jedoch später wieder ab. Außerdem reduzierte LPS nach sieben Tagen die Phagozytose der RPE Zellen und die Expression von RPE65 wurde nach vier Wochen stark durch TNF- $\alpha$  und LPS vermindert. Poly(I:C) minderte die Fähigkeit zur Wundheilung und TNF- $\alpha$  beeinträchtigte die Barrierefunktion (Klettner et al. 2020). Die Antwort des RPE auf inflammatorischen Stress ist die Freisetzung einer Vielzahl von Entzündungsmediatoren, die wiederum zu einer Entzündungskaskade führen könnte. Eine langanhaltende unbalancierte und unkontrollierte Freigabe von proinflammatorischen Zytokinen wie IL-1 $\beta$ ; -2; -6; -8; -12; -17, TNF- $\alpha$ , Colony Stimulating Factor 1 (CSF-1), Interferon- $\beta$ ; - $\gamma$  (IFN- $\beta$ ; - $\gamma$ ) sowie antiinflammatorischen Zytokinen wie IL-4; -10 und TGF- $\beta$  tragen durch die Bildung von choroidalen Neovaskularisationen (CNV) oder durch Beteiligung an der Fibrosierung des Gewebes zur Entwicklung der AMD bei (Tan et al. 2020; Skerka & Zipfel 2008). Außerdem ist beispielsweise Amyloid- $\beta$  einer der ersten Bestandteile von Drusen und fungiert als Biomarker der AMD. Es sammelt sich im subretinalen Raum und induziert so unter anderem eine proinflammatorische Reaktion (Sandgren 1995; Kurji et al. 2010).

Wie bereits erwähnt, spielt oxidativer Stress ebenso eine sehr wichtige Rolle in der Pathogenese der AMD. Unter aeroben Bedingungen werden reaktive Sauerstoffspezies (engl. *reactive oxygen species, ROS*) gebildet und täglich über 250 g Sauerstoff verbraucht, wovon 1–5% in *ROS* umgewandelt werden (Chance et al. 1979). Die meisten *ROS* sind also im Prinzip Nebenprodukte physiologischer Prozesse und werden in der Regel durch antioxidative Mechanismen eliminiert. Antioxidative Enzyme, wie Superoxidismutase (*SOD*), Glutathion-Peroxidase (*GPx*) und Katalase (*CAT*) bilden einen wesentlichen Anteil der primären Abwehr gegenüber *ROS*. Weitere antioxidative Moleküle wie Vitamin C, E, Ubiquinol und Carotinoide unterstützen die enzymatischen Prozesse, indem sie als Radikalfänger fungieren (Cai et al. 2000). Die im retinalen Pigmentepithel enthaltenen Antioxidantien nehmen jedoch mit der Zeit ab (Liang und Godley 2003). Es konnte beispielsweise gezeigt werden, dass die antioxidative

Kapazität des RPE durch die reduzierte Aktivität von Katalase im RPE mit zunehmendem Alter abnimmt (Liles et al. 1991). Eine unzureichende Eliminierung von *ROS* kann zu einer Beschädigung von retinale DNA und schließlich zur Apoptose führen (Winkler et al. 1999). Dieser Zelltod, verursacht durch die Akkumulation toxischer Substanzen, führt schließlich zur Verringerung der Zelldichte. Dieser Effekt wird beispielweise durch eine Abnahme von  $\alpha$ -Tocopherol, einem der wichtigsten Antioxidantien, verstärkt (Friedrichson et al. 1995). Der Transkriptionsfaktor *Nuclear factor erythroid 2-related factor-2 (Nrf2)* spielt ebenso eine wesentliche Rolle im antioxidativen System des RPEs. Wird dieses Protein jedoch beeinträchtigt, kann dies zu oxidativem Stress oder zur Aktivierung der angeborenen Immunantwort und entsprechend zur Apoptose führen (Zhao et al. 2011). Die Zunahme von ROS destabilisiert intrazelluläre Kompartimente, wie beispielsweise Lysosomen und Mitochondrien. Die daraus resultierende metabolische Abschwächung führt zur Bildung von mehr Lipofuszin und ROS (Ghavami et al. 2014). Weiterhin konnten in Patienten mit einer AMD Melanosome, die auf den Abbau von Melanin hinweisen sowie Melanofuszingranula, die Zeichen für die Akkumulation von Lipofuszin in Melanosomen sind, entdeckt werden (Augustin et al. 2023). *ROS* sind jedoch in der Regel kurzlebig, während oxidativ geschädigte Moleküle, die als oxidationsspezifische Epitope (OSE) bezeichnet werden, langlebig und eine Quelle für chronischen Stress sein können. Diese aktivieren die angeborene Immunantwort durch Mustererkennungsrezeptoren (engl. *Pattern Recognition Receptors, PRRs*). Dadurch sammelt sich eine Vielzahl von OSE, wie Carboxyethylpyrrol, Malondialdehyd, 4-Hydroxynonenal und fortgeschrittene Verzuckerungs-Endprodukte (engl. *Advanced glycation end-products*, kurz *AGES*). Eine übermäßige Akkumulation von OSE führt zu einer pathologischen Immunantwort (Feeney 1978; Handa et al. 1999; Handa 2012).

*AGEs* können auch eine wichtige Rolle in der Entwicklung von CNV spielen. Das neovaskuläre Gewebe enthält in der Regel große Mengen an *AGEs* und *AGE-Rezeptoren (RAGE)*, die von RPE-Zellen exprimiert werden (Hammes et al. 1999). Als Reaktion auf *AGEs* können RPE-Zellen beispielsweise VEGF, den wichtigsten proangiogenen Faktor, absondern (Lu et al. 1998). Eine Zellschädigung provoziert nicht nur die Sezernierung von VEGF A-E, sondern auch von *platelet-derived growth factor (PDGF)*, Hepatozyten-Wachstumsfaktor (engl. *hepatocyte growth factor*, kurz *HGF*), Transformierender Wachstumsfaktor (engl. *transforming growth factor  $\beta$* , kurz *TGF- $\beta$* ) und Fibroblasten-Wachstumsfaktoren (engl. *fibroblast growth factor-2*, kurz *FGF-2*). Sie spielen eine wesentliche Rolle in der Bildung von CNV bzw. von makulären Neovaskularisationen (MNV), die insbesondere für die Entwicklung

der feuchten AMD relevant sind. Dies sind Proliferationen von abnormalen Blutgefäßen im Bereich der Aderhaut, der Sub-RPE oder/und im subretinalen Raum (Lutty et al. 1999; Grossniklaus & Green 2004; de Oliveira Dias et al. 2011).

Die Akkumulation von Lipiden in der RPE-Basalmembran ist ebenfalls stark mit der Pathogenese der AMD assoziiert (Curcio 2018; van Leeuwen et al. 2018). So sind beispielsweise Drusen (Ablagerungen zwischen dem RPE und der Bruch-Membran) einer der Hauptbefunde der AMD. Es wird vermutet, dass die Entwicklung von Drusen mit dem Verlust von RPE-Zellen beginnt, indem die durch den Zellverlust entstandenen Lücken durch benachbarte RPE-Zellen mittels neuer extrazellulärer Matrix, bestehend aus Stoffwechselprodukten wie Lipoproteinen und anderen hydrophoben Substanzen, ersetzt werden (Hageman et al. 1999; Hageman et al. 2001). Zusätzlich wird Cholesterinester-Transferprotein (CETP) mit der Entwicklung der AMD in Verbindung gebracht. CETP spielt eine wesentliche Rolle beim Transport von Cholesterin aus peripherem Gewebe zur Leber, indem es Cholesterinester von Lipoproteinen niedriger Dichte (LDLs) und Lipoproteinen sehr niedriger Dichte (VLDLs) auf Lipoproteine hoher Dichte (HDLs) überträgt (Barter et al. 2003; Liutkeviciene et al. 2017).

#### **1.2.4 Therapieansätze**

Die gegenwärtige Behandlung der AMD besteht größtenteils aus Beobachtung, regelmäßigen Nachuntersuchungen sowie der Prävention und Dokumentation der Erkrankung. Dies dient dazu, Verschlechterungen der Sehkraft frühzeitig zu erkennen und die Entwicklung von CNV zu verhindern (de Guimaraes et al., 2022). Inzwischen gibt es für die trockene, avaskuläre Form der AMD, für die es lange Zeit keine zugelassenen Medikamente gab, einen von der FDA genehmigten C3-Inhibitor (Pegcetacoplan) von der Firma Appelis Pharma (Goldberg et al. 2022). Außerdem zeigen Carotinoide wie Lutein und Zeaxanthin, die in Blattgemüse und bestimmten anderen Gemüsesorten vorkommen und für die Makulapigmentierung verantwortlich sind, protektive Wirkungen gegen die Entwicklung von AMD (Jia et al., 2017). Zudem konnte Koning-Backus et al. 2019 aufzeigen, dass der tägliche Verzehr von 200 g Obst und Gemüse sowie der Konsum von Fisch zweimal wöchentlich das Risiko für AMD signifikant reduzieren kann (Koning-Backus et al., 2019).

Angesichts der starken Assoziation von oxidativem Stress mit der AMD-Pathogenese gibt es viel Forschung zu Therapieansätzen, die diesen Einflüssen entgegenwirken sollen. Untersuchungen zu verschiedenen antioxidativen Nahrungsergänzungsmitteln werden

durchgeführt, um die Akkumulation reaktiver Sauerstoffspezies (ROS) zu verringern (de Guimaraes et al., 2022). Zusätzlich konnte die „Age-Related Eye Disease Study Research Group“ (AREDS) in einer randomisierten, kontrollierten, multizentrischen klinischen Studie zeigen, dass eine spezifische Nahrungsergänzung das Risiko einer weiteren AMD-Fortschreitung am anderen Auge bei Patienten, die bereits eine intermediäre oder fortgeschrittene AMD haben, in den nächsten fünf Jahren um 25% reduzieren kann. Diese Nahrungsergänzung enthält eine Kombination aus 500 mg Vitamin C, 400 IE Vitamin E, 15 mg Beta-Carotin, 80 mg Zinkoxid und 2 mg Kupferoxid (Age-Related Eye Disease Study Research Group, 2001). Ebenso ergab sich, dass Patienten mit einer höheren Aufnahme von Omega-3-Fettsäuren eine um 30% geringere Wahrscheinlichkeit hatten, eine zentrale geografische Atrophie und eine feuchte AMD zu entwickeln (AREDS Research Group, 2009). Der Sehverlust bei der feuchten Form der AMD wird durch eine pathologisch angeregte Angiogenese verursacht, die zu einer Proliferation von choroidalen Neovaskularisationen führt (Green 1999). Diese abnormalen Gefäßneubildungen dringen durch die Bruch-Membran unter oder durch das RPE bis in den subretinalen Raum vor, wo sie schließlich Exsudationen und Blutungen verursachen und Photorezeptoren zerstören, was zu einer Sehbeeinträchtigung führt (Green 1999). Um die Sehschärfe der Patienten zu stabilisieren, basiert die derzeitige Therapie vor allem auf intravitreal applizierten antiangiogenen Medikamenten. Da ein gesicherter Zusammenhang zwischen VEGF und abnormaler Angiogenese besteht, ist das Ziel der Therapien, die Wirkung von VEGF zu senken (Ferrara 2000; Ferrara 2002). Beispiele für antiangiogene Medikamente sind Bevacizumab, Brolucizumab, Ranibizumab und Aflibercept (Kaiser et al. 2021). Die Behandlung mit intravitreal applizierten anti-VEGF Medikamenten kann einen schweren Sehverlust bremsen und in einem geringen Maße verlorene Sehstärke regenerieren. Allerdings profitiert nur ein geringer Teil der betroffenen Patienten von dieser Therapie, da es oft zu einer mangelnden Compliance und letztendlich zu Abbrüchen der Behandlung kommt. (Cho et al. 2021; Polat et al. 2017). Für die trockene AMD gibt es derzeit abgesehen eines C3-Inhibitors (Pegcetacoplan), keine zugelassene Therapie, da diese Form durch Apoptose des RPE, der Neuroretina und der Choriokapillaris zu permanentem zentralem Sehverlust führt (Goldberg et al. 2022, Aiello et al. 1994; Zajac-Pytrus et al. 2015; Thomas et al. 2022). Vor der Anwendung der Anti-VEGF-Therapie bei der feuchten AMD wurden viele andere Behandlungen wie beispielsweise fokale Laserbehandlungen, intravitrale Steroide, photodynamische Therapien mit Verteporfin (PDT) und sogar chirurgische Eingriffe versucht. Doch keine dieser Therapien konnte die Krankheit adäquat behandeln (Joussen & Bornfeld 2009). Entsprechend gibt es weiterhin viel Forschung auf diesem Gebiet. Bei weltweit ungefähr

200 Millionen an AMD erkrankten Menschen und einer steigenden Tendenz ergibt sich ein globales Problem für das Gesundheitswesen mit entsprechend wachsender Nachfrage nach neuen präventiven und kurativen Behandlungsmöglichkeiten (Gehrs et al. 2006, Deng et al. 2021, Vyawahare et al. 2022; Cho et al. 2021; Polat et al. 2017). Ein Beispiel für eine vielversprechende Substanz, die gegenwärtig als potenzielle Behandlung für viele Erkrankungen erforscht wird ist das aus Algen gewonnene Fucoidan (Dörschmann and Klettner, 2020; Klettner, 2016; Dithmer et al. 2017; Dörschmann et al. 2019a).

### **1.3 Fucoidane als neuer Therapieansatz**

#### **1.3.1 Braunalgen**

Algen sind vielzellige Eukaryoten, die sich von Pflanzen durch das Fehlen von Gewebearten wie Gefäßstrukturen unterscheiden (Graham et al. 1991). Sie sind nach ihrer Pigmentierung in Braun- (Phaeophyta), Rot- (Rhodophyta) und Grünalgen (Chlorophyta) eingeteilt. Insbesondere in den asiatischen Ländern hat der Verzehr von Algen eine lange Tradition, während Algen in westlichen Ländern hauptsächlich als Quelle für Verdickungsmittel, Geliermittel und für verschiedene industrielle Anwendungen, wie bei der Verarbeitung von Lebensmitteln, verwendet werden (Fujiwara-Arasaki et al. 1984; Mabeau & Fleurence 1993). Zusätzlich werden sie in Kosmetik und Düngemitteln sowie in der Herstellung von Agar verwendet. Außerdem sind sie von ökologischer Bedeutung, weil sie bei der Sauerstoffversorgung helfen und eine wichtige Rolle in der marinen Nahrungskette spielen. Einige Algen können Schwermetalle aus dem Wasser entfernen und beim Monitoring sowie der Sanierung von Schadstoffen verwendet werden. Darüber hinaus besitzen sie herausragende Überlebensstrategien, um den vielen Umweltbelastungen standzuhalten, denen sie ausgesetzt sind (Chan et al. 2006).

#### **1.3.2 Fucoidane – Herkunft und Struktur**

Fucoidan ist ein wichtiger Bestandteil von Braunalgenzellwänden und von einigen marinern Wirbellosen. Es ist ein Polysaccharid, das aus einem wesentlichen Anteil aus L-Fucose und Sulfatestergruppen besteht (Chizhov et al. 1999; Bilan et al. 2002) und erstmals von Kylin im Jahre 1913 als „Fucoidin“ bezeichnet wurde, nachdem er es mithilfe verdünnter Essigsäure und anschließender Reinigung aus Braunalgen isoliert hatte (Li et al. 2008; Kylin 1993). Noch heute werden Algen zunächst aus Küstengebieten entnommen und dann gewaschen, um Salz und Sand zu entfernen. Anschließend werden sie getrocknet und zerkleinert. Danach werden die Algenproben zu feinen Partikeln gemahlen und mithilfe von Ethanol von Pigmenten, Proteinen

und Lipiden getrennt. Zur Extraktion der Polysaccharide werden die Algen dann zentrifugiert. Der Rückstand wird anschließend gesammelt und dann mit destilliertem Wasser gemischt und anschließend erhitzt und geschüttelt. Durch Zentrifugation wird dann der Überstand gewonnen. Das ausgefällte Fucoidan wird dann wieder durch einen weiteren Zentrifugationsschritt gewonnen. In verschiedenen Analysemethoden werden dann Inhaltsstoffe, Kompositionen und Strukturen der Proben bestimmt und anschließend für weitere Experimente verwendet (Huang et al. 2016; AOAC 1990; Chen 2009; Anno et al. 1966; Yang 2008).

Die chemische Zusammensetzung einiger Fucoidane wie beispielsweise *Fucus vesiculosus* ist relativ einfach, doch die der meisten anderen sehr komplex (Ji 1997). Noch gegenwärtig werden weitere, neue Fucoidane von verschiedenen Arten von Braunalgen charakterisiert (Dörschmann et al. 2021). Zu den Bestandteilen von Fucoidan gehören L-Fucose- und Sulfatgruppen, dessen wesentliche Monosaccharidkomponente L-Fucose-4-sulfat ist. Sie beinhalten aber auch oft sehr unterschiedliche Mengen anderer Monosaccharide wie Glucose, Galactose, Xylose, Mannose und Rhamnose (Wang et al. 2008; Wang et al. 2010; Cosenza et al. 2017; Wang et al. 2019). Zudem bestehen Fucoidane aus zwei Kettenstrukturen, wobei verschiedene Grade an Sulfatgruppen an beiden Skeletten auftreten können (Zhao et al. 2018; Cumashi et al. 2007)

### **1.3.3 Fucoidane – biologische Aktivitäten und Anwendungsgebiete**

Fucoidane werden als vielfältig biologisch aktiv beschrieben, doch kann dies stark von der Struktur und Komposition des jeweiligen Fucoidans abhängen (Cong et al. 2016). So gibt es beispielsweise Hinweise darauf, dass die antikoagulative Eigenschaft von Fucoidan stark von Komponenten wie der Molekularmasse, dem Sulfatierungsgrad, und den glycosidischen Bindungen abhängt (Nishino & Nagumo 1987). Es konnte gezeigt werden, dass Fucoidan-Polymeren mit einer Molekularmasse zwischen 10 kDa bis 300 kDa die stärkste antikoagulative Aktivität aufweisen (Yang et al. 2008). Zudem zeigte sich, dass niedermolekulare Fucoidane bessere antithrombotische Eigenschaften besitzen, als mittelmolekulare (Zhao et al. 2016). Sie können aber durch Regulation der Expression von VEGF und Plasminogen-Aktivator-Inhibitoren (PAI) antiangiogen wirken (Soeda et al. 1997). Es wurde gezeigt, dass *Fucus vesiculosus*, *Fucus serratus*, *Fucus distichus subsp. evanescens*, *Saccharina latissima* und *Laminaria digitata* die Sekretion von VEGF in ARPE-19-Zellen nahezu über den gesamten Konzentrationsbereich von 1 bis 100 µg/mL reduzierten (Dörschmann et al. 2019; Bittkau et al. 2020). Des Weiteren wurde festgestellt, dass besonders *Laminaria hyperborea* mit hohem Molekulargewicht die VEGF-Sekretion bei ARPE-19-Zellen vermindern konnte und bei primären RPE-Zellen nur das Fucoidan aus *Saccharina latissima* eine Wirkung zeigte

(Dörschmann et al. 2019a; Dörschmann et al. 2019b). Auf der anderen Seite können Fucoidane auch proangiogen durch beispielsweise Modulation von Heparin bindenden Wachstumsfaktoren wie Fibroblasten-Wachstumsfaktor 2 (engl. *Fibroblast Growth Factor 2*, FGF-2) wirken (Matou et al. 2002). Auch hier beeinflussen strukturelle Faktoren wie die Molekularmasse die antiangiogene bzw. proangiogene Aktivitäten von Fucoidane (Cong et al. 2016). Zudem haben Fucoidane durch Induktion von Apoptose von Tumorzellen eine antitumorale Funktion (Cumashi et al. 2007; Alekseyenko et al. 2007; Lin et al. 2020), doch wirken auch hier nicht alle gleich. Die Antitumoraktivität von Fucoidanen wird durch ihre chemische Struktur definiert, einschließlich des Sulfatierungsgrads und der Molekularmasse (Cumashi et al. 2007). Weiterhin konnte gezeigt werden, dass Fucoidane, abhängig von strukturellen Eigenschaften unterschiedlich stark immunmodulatorisch, Kompliment-inhibierend und antientzündlich wirken können (Wang et al. 1994; Blondin et al. 1994; Maruyama et al. 2005; Citkowska et al. 2019). So kann beispielsweise Fucoidan aus *Saccharina latissima* kann die Expression von *IL-6* und *IL-8* und Fucoidan aus *Fucus vesiculosus* von *IL-6* und *CXCL6* signifikant verringern (Dörschmann et al. 2023; Dörschmann 2023). Fucoidane zeichnen sich insbesondere auch durch ihre antioxidativen Eigenschaften aus (Li et al. 2002). Ähnlich der antitumoralen und antikoagulierenden Wirkung von Fucoidan zeigen auch hier niedermolekulare Fucoidane stärkere antioxidative Eigenschaften im Vergleich zu höhermolekularen (Wang et al. 2010; Choi & Kim 2013). Es konnte gezeigt werden, dass *Fucus serratus*, *Fucus vesiculosus* und *Fucus distichus subsp. evanescens*, *Saccharina latissima* und *Laminaria digitata*, die Zelllinie des Aderhautmelanoms (OMM-1) und die RPE-Zelllinie ARPE-19 vor oxidativem Stress, der durch  $H_2O_2$  ausgelöst wurde, schützen können (Dörschmann et al. 2019). Insbesondere *Fucus vesiculosus* konnte mehrere Zelllinien des Aderhautmelanoms schützen (Dithmer et al. 2017) und *Saccharina latissima* zeigte Schutzwirkungen auf ARPE-19-Zellen, die durch TBHP stimuliert wurden (Dörschmann et al. 2019). Fucoidane können auch positiv auf Blutfette wirken. So konnte ein *L. japonica*-Extrakt die Werte von Cholesterin, Triglyceriden und LDL senken und gleichzeitig die Werte von HDL erhöhen (Li et al. 1999; Li et al. 2001). Aktuell wird weiterhin eine potenzielle Anwendbarkeit von Fucoidanen als Behandlungsmittel gegen diverse Krankheiten diskutiert. So gibt es Arten von Fucoidanen mit ähnlichen Eigenschaften wie Heparin, weswegen sie antikoagulativ und potenziell regenerativ gegenüber Gewebe sowie allgemein positiv auf die Wundheilung wirken können (Fukuta & Nakamura 2008; O'Leary et al. 2004). Fucoidane zeigen sich auch vielversprechend bei der Behandlung von Magenerkrankungen (Shibata et al. 2000; Kawamoto et al. 2006), Krankheiten der Leber (Saito et al. 2006) und der Niere (Veena

et al. 2006; Wang et al. 2019). Was die Wirkung von Fucoidanen auf das RPE betrifft, so konnte unter anderem bereits gezeigt werden, dass *Fucus vesiculosus* (von Sigma Aldrich) VEGF senken kann und sich somit hemmend auf die Angiogenese auswirkt (Dithmer et al. 2014). Darüber hinaus zeigte sich Fucoidan potenziell therapeutisch gegenüber der diabetischen Retinopathie (Klettner 2016).

## 1.4 Zielstellung

Ziel dieser Arbeit war es, Genexpressionsprofile zu etablieren, die zur Forschung bei der Entwicklung von prophylaktischen und therapeutischen Behandlungen sowie zum besseren Verständnis der Pathologie von Erkrankungen wie der AMD beitragen können. Mit diesen Expressionsprofilen können Wirkungsanalysen vielversprechender Substanzen auf zellulärer Ebene anhand eines Panels von vielen verschiedenen Genen gleichzeitig durchgeführt werden. Das RPE wurde als Zielobjekt und Modellsystem gewählt, da es eine zentrale Rolle bei der Aufrechterhaltung des Sehvermögens spielt und ein Schlüsselmolekül für die Entwicklung von AMD darstellt (Datta et al. 2017; Klettner 2020). Als Krankheitsbild wurde die AMD modelliert, bei der die zentralen pathophysiologischen Mechanismen Inflammation, oxidativer Stress, Angiogenese und Störungen des Lipidstoffwechsels sind (Tan et al. 2020; Skerka & Zipfel 2008; Handa et al. 1999; de Oliveira Dias et al. 2011; Barter et al. 2003).

### Zusammenfassung der Ziele:

1. Durch Viabilitätstests wurden Konzentrationen von Noxen bestimmt, die Gene aktivieren können, ohne das Zellüberleben signifikant zu gefährden. Auf diese Weise können bei Verwendung des porcinen retinalen Pigmentepithel-Modellsystems bestimmte Noxen bevorzugt oder ausgeschlossen werden.
2. Es wurden Positivkontrollen entwickelt, um mithilfe von Echtzeit-PCR (rt-PCR), Markergenen und Haushaltsgenen geeignete Konzentrationen und Stimulationszeiten für Noxen festzulegen.
3. Für die Testung war es wichtig, eine Vielzahl von Genen gleichzeitig zu betrachten. Deshalb wurde ein Panel von selbst entwickelten Genassays eingesetzt. Die Taqman-Versuche mit den etablierten Stressparametern und Genassays wurden typischerweise für folgende Bereiche durchgeführt:
  - a. Oxidativen Stress und Zytotoxizität
  - b. Inflammation und Komplementsystem
  - c. Angiogenese und RPE-Funktionen

In die Panels wurden auch Gene aufgenommen, die für den Lipidmetabolismus relevant sind.

4. Im Anschluss wurde ein kommerzielles Fucoidan getestet, das in früheren Untersuchungen bereits positive Wirkungen zeigte, um eine signifikante und relevante Regulation der Genexpression nach Genaktivierung durch Stressparameter festzustellen. Die etablierten Genarrays können zukünftig zur Testung weiterer potenzieller Substanzkandidaten genutzt werden.

## 2 Material und Methoden

### 2.1 Material

**Tabelle 1: Chemikalien und Reagenzien**

Bezeichnung	Firma	Herkunft
2-Mercaptoethanol	Sigma-Aldrich	St. Louis, USA
Ampuwa Spüllösung Plastipur® Aqua ad <i>iniecatilia</i> (Aqua Bidest)	Fresenius Kabi AG	Bad Homburg
Betaisodona®	Mundipharma GmbH	Frankfurt a. M.
<i>Dulbecco's Modified Eagle Medium</i> (DMEM) <i>High Glucose</i>	Hyclone Laboratories Inc, Cytiva Europe GmbH	Freiburg im Breisgau
Dimethylsulfoxid (DMSO) > 99,5 %	Carl Roth GmbH & Co. KG	Karlsruhe
Ethanol > 99,5%	Carl Roth GmbH & Co. KG	Karlsruhe
Fetales Kälberserum (FCS)	Linaris, Biochrom AG	Berlin
2-(4-(2-Hydroxyethyl)-1-piperazinyl)- ethansulfonsäure (HEPES) Puffer 1M	Biochrom AG	Berlin
Lipopolysaccharid (LPS) aus Escherichia coli 055:B5	Sigma-Aldrich	St. Louis, USA
3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5- diphenyltetrazoliumbromid (MTT)	Sigma-Aldrich	St. Louis, USA
NaCl 0,9 %	B. Braun Deutschland GmbH & Co. KG	Melsungen

<b>Bezeichnung</b>	<b>Firma</b>	<b>Herkunft</b>
Natriumpyruvat 100 mM	Biochrom AG	Berlin
Nicht-essentielle Aminosäuren 100 X	Biochrom AG	Berlin
Phosphatgepufferte Salzlösung (PBS)	PAN-Biotech GmbH	Aidenbach
Penicillin/Streptomycin (10.000 U/ml bzw. 10.000 µg/ml)	Biochrom AG	Berlin
Lipopolysaccharid (LPS)	Tocris Bioscience	Bristol, UK
<i>RNase AWAY®</i>	Thermo Fisher Scientific Inc.	Waltham, Massachusetts, USA
<i>RT-PCR Grade Water</i>	Thermo Fisher Scientific Inc.	Waltham, Massachusetts, USA
tert-Butylhydroperoxid (TBHP)	Sigma-Aldrich	St.Louis, USA
Taqman™ Fast Advanced Master Mix	Thermo Fisher Scientific Inc.	Waltham, Massachusetts, USA
Trypsin 0,25% in PBS	PAN-Biotech GmbH	Aidenbach
Trypsin-EDTA 0,25 %/EDTA 0,02% in PBS	PAN-Biotech GmbH	Aidenbach
Wasserstoffperoxidlösung 30 % (w/w) in H <sub>2</sub> O	Sigma-Aldrich	St.Louis, USA

DMSO = Dimethylsulfoxid; DMEM = Dulbecco's Modified Eagle's-Medium; FCS: fetal calf serum dt. fetales Kälberserum; HEPES = 2-(4-(2-Hydroxyethyl)-1-piperazinyl)-ethansulfonsäure; LPS = Lipopolysaccharid; MTT = 3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazoliumbromid; NaCl = Natriumchlorid; PBS = phosphate buffered saline, dt. phosphatgepufferte Salzlösung; Poly(I:C) = Polyinosinsäure:Polycytidylsäure RT-PCR = reverse transcription polymerase chain reaction, dt. Reverse-Transkriptase-Polymerase-Kettenreaktion; TBHP = tert-Butylhydroperoxid

**Tabelle 2: Verwendete Materialien**

<b>Bezeichnung</b>	<b>Firma</b>	<b>Herkunft</b>
Anatomische Pinzette	Bausch & Lomb GmbH	Berlin
Einkanalpipetten (10, 100, 1000 µl)	Eppendorf	Hamburg

<b>Bezeichnung</b>	<b>Firma</b>	<b>Herkunft</b>
Enukleationsschere	Bausch & Lomb GmbH	Berlin
Hornhautschere	Bausch & Lomb GmbH	Berlin
<i>MicroAmp® Fast Optical 96-Well Reaction Plate, 0,1 ml</i>	Thermo Fisher scientific Inc.	Waltham, MA, USA
<i>MicroAmp® Optical Adhesive Film</i>	Thermo Fisher Scientific Inc.	Waltham, MA, USA
Pipettenspitzen	Sarstedt AG & Co.	Nümbrecht
Rasierklinge T585	Plano GmbH	Wetzlar
Reagenzgefäße (0,2 ml/0,5 ml/1,5 ml/2ml)	Sarstedt AG & Co.	Nümbrecht
Taqman™ Array, Fast, 96-well	Thermo Fisher Scientific Inc.	Waltham, Massachusetts, USA
Zellkulturplatte 12 Well, Standard, F	Sarstedt AG & Co.	Nümbrecht
Zellkulturplatte Platte 24 Well, Standard	Sarstedt AG & Co.	Nümbrecht
Zentrifugenröhrchen, 10/15/50 ml	Sarstedt AG & Co.	Nümbrecht

**Tabelle 3: Verwendete Kits**

<b>Bezeichnung</b>	<b>Firma</b>	<b>Herkunft</b>
<i>High-Capacity cDNA Reverse Transcription Kit mit RNase Inhibitor</i>	Thermo Fisher Scientific Inc.	Waltham, Massachusetts, USA
PureLink™ DNase Set	Thermo Fisher Scientific Inc.	Waltham, Massachusetts, USA
PureLink™ RNA Mini Kit	Thermo Fisher Scientific Inc.	Waltham, Massachusetts, USA

**Tabelle 4: Verwendete Primer**

<b>Bezeichnung</b>	<b>Firma</b>	<b>Herkunft</b>
Taqman™ Gene Expression Assay (FAM) Gene Symbol: ANGPT2 (Ss03392362_m1)	Thermo Fisher Scientific Inc.	Waltham, Massachusetts, USA
Taqman™ Gene Expression Assay (FAM) Gene Symbol: CAT (Ss04323025_m1)	Thermo Fisher Scientific Inc.	Waltham, Massachusetts, USA
Taqman™ Gene Expression Assay (FAM) Gene Symbol: GAPDH (Ss03375629_u1)	Thermo Fisher Scientific Inc.	Waltham, Massachusetts, USA
Taqman™ Gene Expression Assay (FAM) Gene Symbol: GSS (Ss04328109_m1)	Thermo Fisher Scientific Inc.	Waltham, Massachusetts, USA
Taqman™ Gene Expression Assay (FAM) Gene Symbol: GUSB (Ss03387751_u1)	Thermo Fisher Scientific Inc.	Waltham, Massachusetts, USA
Taqman™ Gene Expression Assay (FAM) Gene Symbol: IL-6 (Ss03384604_u1)	Thermo Fisher Scientific Inc.	Waltham, Massachusetts, USA
Taqman™ Gene Expression Assay (FAM) Gene Symbol: NKAP (Ss04322419_m1)	Thermo Fisher Scientific Inc.	Waltham, Massachusetts, USA
Taqman™ Gene Expression Assay (FAM) Gene Symbol: TGFB1 (Ss04955543_m1)	Thermo Fisher Scientific Inc.	Waltham, Massachusetts, USA

<b>Bezeichnung</b>	<b>Firma</b>	<b>Herkunft</b>
Taqman™ Gene Expression Assay (FAM) Gene Symbol: IL-8 (Ss03392437_m1)	Thermo Fisher Scientific Inc.	Waltham, Massachusetts, USA
Taqman™ Gene Expression Assay (FAM) Gene Symbol: SOD1 (Ss03375614_u1)	Thermo Fisher Scientific Inc.	Waltham, Massachusetts, USA
Taqman™ Gene Expression Assay (FAM) Gene Symbol: VEGFA (Ss03393993_m1)	Thermo Fisher Scientific Inc.	Waltham, Massachusetts, USA

ANGPT2 = Angiopoietin 2; CAT = catalase, dt. Katalase; GAPDH = Glycerinaldehyd-3-phosphat-Dehydrogenase; GUSB =  $\beta$ -Glucuronidase; GSS = Glutathionsynthase; IL = Interleukin; NKAP = NF-Kappa-B-aktivierendes Protein; SOD1 = Superoxid Dismutase-1; TGFB1 = Transforming Growth Factor  $\beta$ ; VEGFA = vaskulärer endothelialer Wachstumsfaktor A

**Tabelle 5: Verwendete Kulturmedien und Puffer**

<b>Bezeichnung</b>	<b>Zusammensetzung</b>
Betaisodona® Lösung	10 ml Betaisodona® + 20 ml NaCl 0,9%
RPE-Medium	500 ml DMEM high Glucose + Phenolrot + 50ml FCS + 5ml Penicillin/Streptomycin + 5ml Natriumpyruvat + 2,5% 12,5ml HEPES 1M + 1% 5ml nicht essentielle Aminosäuren-NEA 100x
Phosphatgepufferte Salzlösung	900ml Aqua bidest + 100ml (10x) PBS + 10ml Pe/St

Abkürzungen siehe Tabelle 1; RPE = retinales Pigmentepithel; Pe/St = Penicillin- Streptomycin;

**Tabelle 6: Verwendete Braunalgen (Fucoidane)**

<b>Algenspezies</b>	<b>Bezeichnung in der Dissertation</b>	<b>Herkunft</b>
<i>Fucus vesiculosus</i>	FV	Sigma-Aldrich, St.Louis, USA
<i>Laminaria hyperborea</i> I, (1550 kDa)	Fuc1	Alginor ASA, Haugesund, Norwegen
<i>Laminaria hyperborea</i> 2, >2000 kDa	FucBB04	Alginor ASA, Haugesund, Norwegen
<i>Saccharina latissima</i>	SL	Technische Universität Dänemark

**Tabelle 7: Verwendete Geräte**

<b>Bezeichnung</b>	<b>Firma</b>	<b>Herkunft</b>
Absaugsystem (VACUSAFe)	INTEGRA Biosciences GmbH	Zizers, Schweiz
Abzüge	Köttermann	Uetze
Autoklav Varioklav® H+P	Thermo Fisher Scientific Inc.	Waltham, MA, USA
CO <sub>2</sub> -Inkubator (Heracell™ VIOS 160i)	Thermo Fisher Scientific Inc.	Waltham, USA
Dampfsterilisator HP VARIOKLAV®	HP-Labortechnik GmbH	Oberschleißheim
Eismaschine AF80	Scotsman	Milan, I
Feinwaage	Sartorius Analytic	Göttingen
Gefrierschrank (-80 °C)	Thermo Fisher scientific Inc.	Waltham, MA, USA

<b>Bezeichnung</b>	<b>Firma</b>	<b>Herkunft</b>
Gefrierschränke (-20 °C)	Liebherr	Kirchendorf an der Iller
Lichtmikroskop (Axiovert 100)	Carl Zeiss AG	Oberkochen
Mikroplattenleser (BioTek® Elx800)	BioTek® Instruments, Inc.	Winooski, VT, USA
Mini-Zentrifuge (Colour Sprout Plus)	Biozym Scientific GmbH	Hessisch Oldendorf
NanoDrop™ One	Thermo Fisher scientific Inc.	Waltham, MA, USA
Pipettierhilfe (Pipetboy)	INTEGRA Biosciences GmbH	Biebertal
QuantStudio® 3 Real-Time-PCR-System	Thermo Fisher scientific Inc.	Waltham, MA, USA
Schüttelinkubator	Infors AG	Bottmingen
Serologische Pipetten	Sarstedt AG & Co.	Nümbrecht
Sicherheitswerkbank Safe 2020	Thermo Fisher scientific Inc.	Waltham, MA, USA
SimpliAmp Thermal Cycler	Thermo Fisher scientific Inc.	Waltham, MA, USA
Vortexer Vortex Genie 2 Mixer	Thermo Fisher scientific Inc.	Waltham, MA, USA
Wasserbad 1086	GFL®	Brugwedel
Zentrifuge Heraeus Fresco 17	Thermo Fisher scientific Inc.	Waltham, MA, USA
Zentrifuge Sorvall ST 40	Thermo Fisher scientific Inc.	Waltham, MA, USA

**Tabelle 8: Verwendete Software**

<b>Software</b>	<b>Firma</b>	<b>Herkunft</b>
Excel 2010	Microsoft	Redmond, WA, USA
Gen 5	Biostep	Jahnsdorf
GraphPad PRISM 9	GraphPad Software, Inc.	San Diego, CA, USA
QuantStudio™ Design & Analysis Software	Thermo Fisher Scientific Inc.	Waltham, MA, USA
Thermo Fisher Connect™ Cloud Software	Thermo Fisher Scientific Inc.	Waltham, MA, USA

## 2.2 Methoden

### 2.2.1 Modellsystem – Primäres porcines retinales Pigmentepithel

Die zellbiologische Arbeit bezüglich der Kultivierung des Modellsystems für das primäre retinale Pigmentepithel wurde nach einem bereits etablierten Protokoll (Wiencke et al. 2003; Klettner und Roider 2008) an einer Sicherheitswerkbank mit autoklaviertem, sterilem oder desinfiziertem Arbeitsmaterial durchgeführt. Die Kultivierung der Zellen erfolgte in einer wasserdampfgesättigten Atmosphäre bei 37°C und einem 5% CO<sub>2</sub>-Gehalt. Insgesamt wurden für jede Mikrotiterplatte mindestens zwölf Augen präpariert.

Die Schweineaugen wurden wenige Stunden nach der Schlachtung unter gekühlten Bedingungen aus lokalen Schlachtereien geliefert. Bei der Auswahl der Schweineaugen wurde darauf geachtet, dass sie weder Lichtreflexe noch Trübungen aufwiesen, da solche Befunde die Augen für die Kultivierung oft ungeeignet machten.

Die ausgewählten Augen wurden von überschüssigem, am Augapfel anhaftendem Gewebe befreit und anschließend für fünf Minuten in eine kühle Betaisodonalösung gelegt. Daraufhin wurden die Augen zum Transport zur Sicherheitswerkbank in ein mit 300 ml kühler 0,9%iger Natriumchlorid-Lösung gefülltes Becherglas getaucht. Hornhaut, Iris, Ziliarkörper und Linse wurden durch Schnitte entlang der Ora Serrata mithilfe einer Rasierklinge und einer Enukleationsschere abgetrennt. Der Glaskörper wurde entfernt und die Augenbecher mit warmer phosphatgepufferter Salzlösung (PBS) gefüllt; die Netzhaut wurde mithilfe einer

anatomischen Pinzette und einer Hornhautschere entfernt. Anschließend wurden die Augen in Deckel gelegt und das PBS durch warmes Trypsin ersetzt. Die Augen wurden dann für zehn Minuten bei 37°C im Inkubator belassen. Das Trypsin wurde entfernt, die Augen mit warmer Trypsin/Ethylendiamintetraessigsäure (EDTA)-Lösung gefüllt und für 45 Minuten bei 37°C inkubiert. Die Zellen wurden zur Ablösung durch Pipettieren der in den Augenschalen befindlichen Trypsin/EDTA-Lösung abgespült und gleichmäßig in zwei mit 37°C warmem Medium gefüllte Zentrifugenröhren verteilt. Sie wurden dann in der Sorvall ST40-Zentrifuge für fünf Minuten bei 900 U/min und Raumtemperatur zentrifugiert. Das überschüssige Medium wurde abgesaugt, das Zellpellet in neuem Medium resuspendiert und erneut unter den gleichen Einstellungen zentrifugiert. Der Überstand wurde entfernt, das Pellet in 12 ml RPE-Medium gelöst, und dann wurden jeweils 0,5 ml oder 1 ml der suspendierten Zellen in eine 12- oder 24-Well-Mikrotiterplatte ausgesät. Das RPE-Medium wurde zweimal pro Woche gewechselt, und die Zellen wurden insgesamt für mindestens 14 Tage kultiviert. Während und nach der Kultivierung wurden mittels Mikroskop Kontrollen der Zellqualität durchgeführt.

### **2.2.2 Zellstimulation**

Die RPE Zellen wurden zusammen mit dem RPE-Medium und der jeweiligen Konzentration der Noxe auf 1 ml oder 0,5 ml auf eine 12- bzw. 24-Well-Mikrotiterplatte suspendiert und dann für die ausgewählten Zeiträume inkubiert. Für Lipopolysaccharid (LPS) wurde eine Konzentration von 1 oder 10 µg/mL verwendet, für Poly(I:C) 10 oder 100 µg/mL, für H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 100, 200, 300, 500, 750 oder 1000 µM, für tert-butyl hydroperoxide (TBHP) 100, 200 oder 300 µM, für Erastin 20 µM und für CoCl<sub>2</sub> 25, 75, 100, 150 oder 250 µM. Für das Inflammationsarray wurden die Zellen für drei Tage mit 10 µg/mL LPS stimuliert, für das oxidative Stressarray für einen Tag mit 10 µg/mL LPS bzw. mit 100 µM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> und für drei Tage mit 150 µM CoCl<sub>2</sub>. Ein Mediumwechsel mit erneuter Stimulation erfolgte jeweils nach zwei Tagen. Die Behandlung mit Fucoidan erfolgte mit einer Konzentration von 50 µg/ml Fucoidan, entweder alleine als Kontrolle oder zusammen mit der jeweiligen Noxe. Insgesamt ergab das Volumen mit den RPE Zellen und RPE-Medium 1 ml pro Well auf einer 12-Well-Mikrotiterplatte.

### **2.2.3 Zellviabilitäts-Assay**

Zur Bestimmung von geeigneten Konzentrationen und Inkubationszeiten von Noxen, die die Genexpression stimulieren, wurde der Methylthiazolyltetrazolium (MTT) - Zellviabilitäts-Assay verwendet (modifiziert nach Mosmann 1983). Die ausgewählten Stimulanzien wurden

anschließend zur Etablierung von Positivkontrollen eingesetzt. Die Zellviabilität wurde mithilfe des Farbstoffs MTT untersucht, da lebende Zellen das enthaltene gelbe Tetrazolium in violettes Formazan reduzieren. Durch die Messung der Farbintensität bei 550 nm konnten Rückschlüsse auf die toxische Wirkung der Noxen gezogen werden.

Zunächst wurde eine MTT-Gebrauchslösung hergestellt, indem das MTT zu 0,5 mg/ml in warmes DMEM ohne Phenolrot gelöst wurde. Anschließend wurde in jedes Well einer 12- bzw. 24-Well-Mikrotiterplatte, aus dem zuvor das Medium entfernt wurde, 350 µl bzw. 250 µl Gebrauchslösung gegeben und für zwei Stunden inkubiert. Danach wurde die MTT-Gebrauchslösung entfernt, die gleiche Menge DMSO dazugegeben und zur gleichmäßigen Verteilung für fünf Minuten auf den Schüttler gestellt. Dann wurden auf einer 96er-Well-Platte in jedes Well 150 µl DMSO als Nullwert gegeben und in jedes weitere Well (Doppelwerte) 100 µl DMSO und 50 µl der Probe gegeben. Die Farbintensität wurde bei 550 nm gemessen. Als ausreichend viabel galt eine Viabilität von mindestens 85%.

#### **2.2.4 Ribonukleinsäuren (RNA)-Isolation**

Für die RNA-Isolation wurden die Qualität der Zellen vorab unter einem Lichtmikroskop untersucht und nach ihrer Dichte, Pigmentierung und Morphologie beurteilt. Die für die RNA-Isolation und cDNA-Gewinnung genutzten Materialien wurden mit UV-Licht bestrahlt und die Flächen und Geräte mit RNase AWAY® gereinigt.

Zunächst wurden die durch verschiedene Noxen stimulierten Zellen mit 1 ml warmem PBS gewaschen und dann nach Zugabe von 500 µl Trypsin/EDTA für sieben Minuten in den Brutschrank gestellt. Anschließend wurde 500 µl Medium hinzugegeben und die Zellen durch Pipettieren abgespült, welche dann in nukleasefreie 1,5-ml-Reaktionsgefäße gegeben wurden.

Nachdem die Zellen dann für fünf Minuten bei 300 x g zentrifugiert wurden, konnte die Isolation der RNA aus dem Zellpellet mit dem PureLink™ RNA Mini Kit invitrogen von Thermo Fisher Scientific Inc. nach Herstelleranweisung durchgeführt werden. Die gewonnene RNA wurde dann mit 20 µl RNase-freiem Wasser gelöst und die Reinheit der RNA durch Bestimmung von den Absorptionsquotienten A<sub>260</sub>/A<sub>280</sub> und A<sub>260</sub>/A<sub>230</sub> sowie die Konzentration photometrisch mithilfe des NanoDrop™ Ones gemessen. Für diese Messung wurde 1,5 µl der Probe genutzt. Für eine ausreichende Reinheit sollten die Werte von A<sub>260</sub>/A<sub>280</sub> und A<sub>260</sub>/A<sub>230</sub> über 1,8 liegen.

## 2.2.5 Komplementäre Desoxyribonukleinsäure-Gewinnung

Für die Gewinnung der komplementären Desoxyribonukleinsäure (cDNA) wurde das *High-Capacity cDNA Reverse Transcription Kit* von Thermo Fisher Scientific Inc. verwendet und nach Herstellerangaben durchgeführt.

Das RNA-Gemisch wurde dann in 0,2 µl hitzestabile Reagenzgefäße gegeben und nach zehnsekündiger Zentrifugierung mithilfe des SimpliAmp Thermal Cyclers in cDNA umgeschrieben.

Die Programmierung des Thermocyclers lautete wie folgt:

**Tabelle 9: Programmierung des Thermocyclers**

	Schritt 1	Schritt 2	Schritt 3	Schritt 4
<b>Temperatur</b>	25 °C	37 °C	85 °C	4 °C
<b>Zeit</b>	10 min	120 min	5 min	∞

Die Lagerung der cDNA erfolgte kurzfristig bei 4°C bzw. langfristig bei -20°C.

## 2.2.6 Real-Time quantitative Polymerase-Kettenreaktion

Zunächst wurde die cDNA mit PCR-H<sub>2</sub>O auf 15 ng/10 µl verdünnt. Dann wurde für jedes technische Triplikat 8 µl von der verdünnten cDNA, 2 µl Primer, 20 µl TaqMan® Fast Advanced Master Mix und 10 µl PCR-grade water in einen 1,5-ml-Reaktionsgefäß gefüllt. Nach mehrfachem Invertieren und kurzem Zentrifugieren wurde 10 µl Reaktionsansatz in jedes Well einer MicroAmp® Fast Optical 96-Well Reaction Plate (0,1 ml) pipettiert. Die Platte wurde dann mit dem MicroAmp® Optical Adhesive Film versiegelt und nach kurzem Zentrifugieren mithilfe des QuantStudio® 3 Real-Time-PCR-Systems gemessen.

Die Programmierung des Geräts lautete wie folgt:

**Tabelle 10: Programmierung des QuantStudio® 3 Real-Time-PCR-Systems**

Schritt	Temperatur	Zeit	Zyklen
UNG Inkubation	50 °C	2 min	1
Enzymaktivierung	95 °C	2 min	1
Denaturierung	95 °C	1 s	40
Glühen/Extension	60 °C	20 s	

UNG = Uracil-DNA-Glycosidase

Die Auswertung der Ergebnisse erfolgte durch die Thermo Fisher Connect™ Cloud Software.

### 2.2.7 Taqman™ Array

Zum Ansetzen der TaqMan-Platten und zur Durchführung der RT-PCR wurde die cDNA zunächst invertiert, kurz vortexiert und anschließend zentrifugiert. Anschließend wurden 22 µl der insgesamt 25 µl cDNA Lösung mit 578 µl PCR-H<sub>2</sub>O und 600 µl Taqman™ *Fast Advanced Master Mix* gemischt. Die Mischung wurde dann vortexiert und zentrifugiert. Die Taqman™ Array Fast 96-well Platte wurde auf Raumtemperatur gebracht und bei 500 x g für zwei Minuten zentrifugiert. Auf jedes Well dieser Platte wurden 10 µl der Mischung gegeben. Die Platten wurden anschließend mit MicroAmp® *Optical Adhesive Film* versiegelt, kurz gevortext, zentrifugiert und im QuantStudio® 3 Real-Time-PCR-System gemessen. Die Programmierung des QuantStudio® 3 Real-Time-PCR-Systems sowie die Auswertung der Ergebnisse erfolgten gemäß dem standardisierten RT-qPCR-Protokoll.

## 2.3 Statistische Auswertung

Jedes Experiment wurde mindestens drei Mal durchgeführt und die statistische Signifikanz (*t-Test* nach Student) mithilfe von Excel, GraphPad PRISM 7 oder der Thermo Fisher Connect<sup>TM</sup> Cloud Software berechnet. Mittelwerte wurden als Balken und Standardabweichungen als Linien dargestellt. Dabei galt ein p-Wert < 0,05 als signifikant, zwischen 0,1 und 0,5 als tendenziell und die relative Quantifizierung (RQ) < 0,5 oder RQ > 2,0 als relevant und zwischen 0,5 und 2,0 als nicht relevant. Zur Überprüfung der Normalverteilung der ermittelten Daten wurde der Shapiro-Wilk-Test angewendet. Für die MTT-Assays wurde der *one-sample t-test* durchgeführt und die PCR-Daten wurden mithilfe der Thermo Fisher Connect<sup>TM</sup> Cloud Software ausgewertet.

### 3 Ergebnisse

#### 3.1 Zellviabilität unter Stressparameter

Für die Etablierung von Positivkontrollen wurden geeignete Konzentrationen und Wirkungszeiten von stress-induzierenden Noxen mithilfe von Zellviabilitäts-Assays bestimmt. Die Wahl der Noxen LPS, Poly(I:C), H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, TBHP, Erastin und CoCl<sub>2</sub> sowie Stimulationszeiten und Konzentrationen beruhten auf Ergebnissen aus vergangenen Studien (Klettner et al. 2020; Dörschmann et al. 2019a; Dörschmann et al. 2021b; Rana et al. 2019). Es wurden maximalen Konzentrationen gesucht, bei denen es zu keiner Reduktion der Zellviabilität kam.

Die porcinen RPE Zellen wurden zunächst mit LPS (1 bzw. 10 µg/ml) für ein, drei und sieben Tage stimuliert. Es zeigte sich, dass die Viabilität der Zellen bei allen Konzentrationen und Inkubationszeiten im Vergleich zur Kontrolle, außer bei siebentägiger Stimulation mit 10 µg/ml LPS (89%), bei über 90% lag (Abb. 3a).

Unter Einfluss von Poly(I:C) (10, 100 µg/ml) betrug die Viabilität im Vergleich zur Kontrolle mindestens 90% (Abb. 3b). Daher wurden hier alle Konzentrationen und Inkubationszeiten für die weiteren Versuche genutzt.

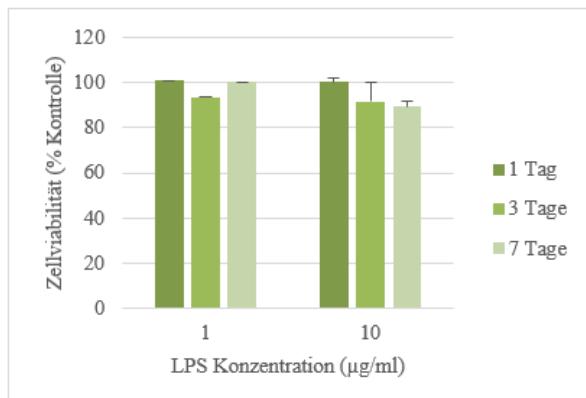
Die Stimulation mit H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> erfolgte mit den Konzentrationen 100, 200 und 300 µM für ein, drei und sieben Tage, sowie mit 500, 750 und 1000 µM für vier Stunden bzw. einen Tag und zusätzlich 200 µM für vier Stunden. Bei allen verwendeten Konzentrationen und Inkubationszeiten waren die RPE-Zellen gegenüber der Kontrolle ausreichend viabel ( $\geq 85\%$ ), jedoch kam es im Vergleich zur Kontrolle zu einer signifikanten ( $p < 0,05$ ) Reduktion der Zellviabilität der RPE-Zellen auf  $63 \pm 10\%$  nach vierstündiger Stimulation mit 1000 µM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> und nach eintägiger Stimulation bei gleicher Konzentration auf  $69 \pm 11\%$  (Abb. 4a-c).

Bei den weiteren Untersuchungen konnte eine ausreichende Viabilität der RPE-Zellen unter Einfluss von TBHP mit einer Konzentration von 100 µM für ein Tag, sowie 100 und 200 µM für drei Tage und zusätzlich 300 µM für vier Stunden beobachtet werden. Eine für die weiteren Versuche unzureichende Viabilität der RPE-Zellen zeigte sich unter Einfluss von TBPH für einen Tag mit einer Konzentration von 200 µM ( $67 \pm 45\%$ ) und 300 µM ( $69 \pm 46\%$ ) sowie für drei Tage mit einer Konzentration von 300 µM ( $59 \pm 30\%$ ) und zusätzlich unter Einfluss über sieben Tage mit den Konzentrationen 100 µM ( $71 \pm 25\%$ ), 200 µM ( $37 \pm 48\%$ ) und 300 µM ( $38 \pm 48\%$ ). Bei der Stimulation mit TBHP fiel zusätzlich eine hohe Standardabweichung auf (Abb. 4c-d).

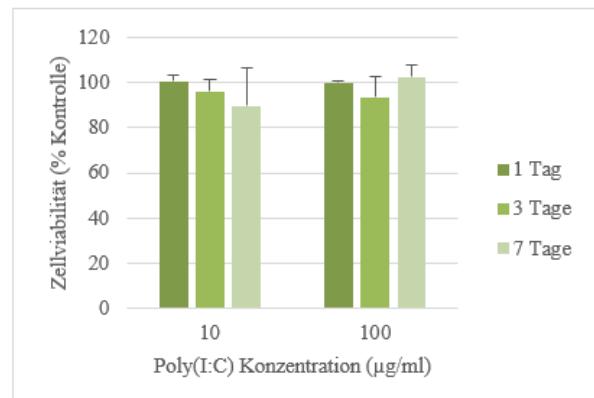
Die Wirkung von Erastin auf die RPE-Zellen wurde mit einer Konzentration von 20 µM für vier Stunden getestet, wobei die Viabilität der Zellen signifikant ( $p < 0,05$ ) auf  $88 \pm 2\%$

reduziert wurde (Abb. 4c). Aufgrund der ausreichenden Zellviabilität wurde Erastin dennoch mit der genannten Konzentration und Inkubationszeit für die weiteren Versuche verwendet.

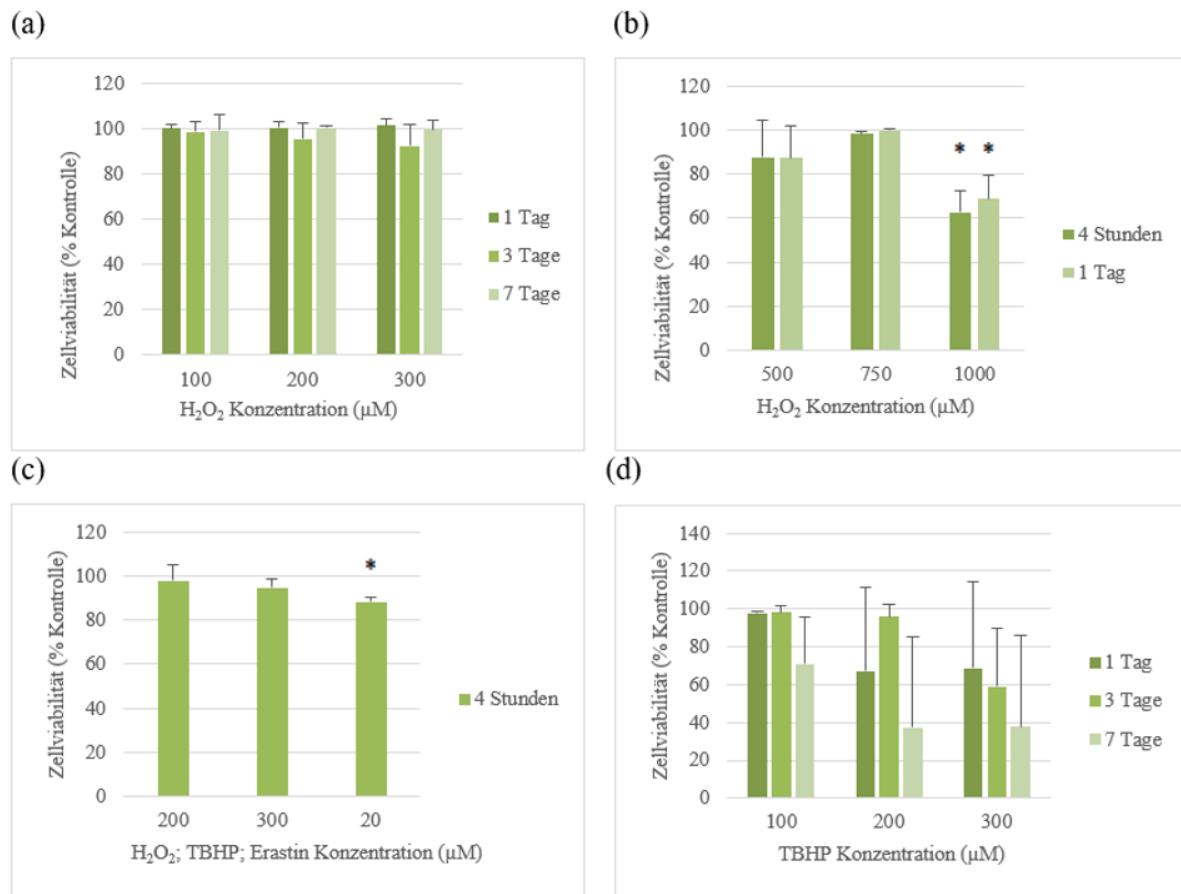
(a)



(b)

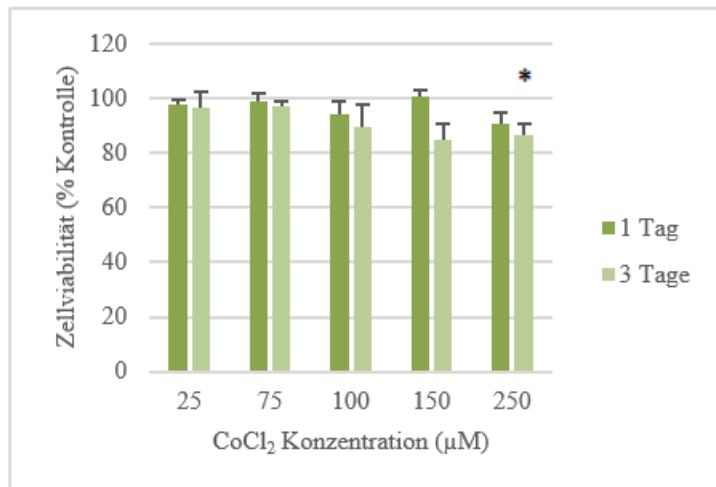


**Abbildung 3: Zellviabilität von RPE-Zellen unter Inflammation.** Gezeigt wird das Zellüberleben von primärem porcinen retinalem Pigmentepithel (RPE), ermittelt durch den Methylthiazolyltetrazolium-(MTT)-Zellviabilitätsassays und dargestellt als Mittelwert und Standardabweichung mit einer auf 100% festgelegten Kontrolle. Die Zellen wurden zunächst aus porcinen Augen isoliert und für mindestens zwei Wochen kultiviert. Anschließend wurden sie über Zeiträume von einem, drei und sieben Tagen mit 1  $\mu\text{g}/\text{mL}$  und 10  $\mu\text{g}/\text{mL}$  Lipopolysaccharid (LPS, a) sowie 10  $\mu\text{g}/\text{mL}$  und 100  $\mu\text{g}/\text{mL}$  Polyinosinsäure:Polycytidylsäure (Poly(I:C), b) stimuliert. Die Ergebnisse zeigten eine Normalverteilung (ermittelt durch den Shapiro-Wilk-Test) und wurden in Relation zu den Ergebnissen der unbehandelten Kontrolle gesetzt. Die Signifikanzprüfung erfolgte mit dem One-Sample t-Test, es zeigten sich jedoch keine signifikanten Ergebnisse. Die Anzahl der unabhängigen Experimente betrug n=3.



**Abbildung 4: Zellviabilität von RPE-Zellen unter oxidativen Stress.** Gezeigt wird das Zellüberleben von primären porcinen retinalem Pigmentepithel (RPE), ermittelt durch Methylthiazolytetrazolium-(MTT)-Zellviabilitätsassays und dargestellt als Mittelwert und Standardabweichung mit einer auf 100% festgelegten Kontrolle. Die Zellen wurden zunächst aus porcinen Augen gewonnen und für mindestens zwei Wochen kultiviert. Danach wurden sie mit 100, 200 und 300 μM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> für ein, drei und sieben Tage (a), 500, 750 und 1000 μM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> für vier und 24 Stunden (b), 200 μM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, 300 μM Tert-butyl Hydroperoxid (TBHP) und 20 μM Erastin für 4 Stunden (c) und mit 100, 200 und 300 μM TBHP für ein, drei und sieben Tage stimuliert (d). Die Ergebnisse waren normalverteilt (ermittelt durch den Shapiro-Wilk test) und wurden in Relation zu den Ergebnissen der unbehandelten Kontrolle gesetzt. Die Signifikanzprüfung erfolgte mit dem One-Sample t-Test. Signifikante Ergebnisse ( $p < 0.05$ ) sind mit \* gekennzeichnet. Die Anzahl der unabhängigen Experimente betrug n=3.

Zuletzt wurde die Zellviabilität der RPE-Zellen unter dem Einfluss von CoCl<sub>2</sub> gemessen. Die untersuchten Konzentrationen lagen bei 25, 75, 100, 150 und 250 μM, wobei die Inkubationszeiten ein und drei Tage betrugen. Bei allen Versuchen waren die RPE-Zellen noch ausreichend viabel und bei einer Konzentration von 250 μM CoCl<sub>2</sub> und einer Inkubationszeit von drei Tagen reduzierte sich die Zellviabilität der RPE-Zellen signifikant ( $p < 0,05$ ) auf  $87 \pm 4\%$  reduziert (Abb. 5). Für die weiteren Experimente wurde 150 μM CoCl<sub>2</sub> mit einer Inkubationszeit von drei Tagen verwendet.



**Abbildung 5: Zellviabilität von RPE-Zellen unter Hypoxie.** Gezeigt wird das Zellüberleben von primären porcinen retinalem Pigmentepithel (RPE), ermittelt durch Methylthiazolytetrazolium-(MTT)-Zellviabilitätsassays und dargestellt als Mittelwert und Standardabweichung mit einer auf 100% festgelegten Kontrolle. Die Zellen wurden zunächst aus porcinen Augen gewonnen und für mindestens zwei Wochen kultiviert. Danach wurden sie mit 25, 75, 100, 150 und 250  $\mu\text{M}$  CoCl<sub>2</sub> für ein und drei Tage stimuliert. Die Ergebnisse waren normalverteilt (ermittelt durch den Shapiro-Wilk-Test) und in Relation zu den Ergebnissen der unbehandelten Kontrolle gesetzt. Die Signifikanzprüfung erfolgte mit dem One-Sample t-Test. Signifikante Ergebnisse ( $p < 0.05$ ) sind mit \* gekennzeichnet. Die Anzahl der unabhängigen Experimente betrug n=3.

### 3.2 Etablierung von Positivkontrollen für die Gene-Arrays

Zur Etablierung von Positivkontrollen wurden in Taqman-Vorversuchen die Expression von ausgewählten Markergenen spezifisch für Inflammation, oxidativen Stress oder Angiogenese unter Einfluss der zuvor bestimmten Noxen untersucht. Als Inflammationsmarker wurden *Interleukin 6 (IL-6)*, *Interleukin 8 (IL-8)*, *NF-kappa-B-activating protein (NFKB)*, als Marker für oxidativen Stress *Superoxid Dismutase-1 (SOD1)*, *Glutathionsynthase (GSS)* und als Angiogenesemarker *Katalase (CAT)*, *Angiopoetin 2 (ANGPT2)*, *vaskulärer endothelialer Wachstumsfaktor A (VEGFA)* und *transforming growth factor-β (TGFB1)* ausgewählt (Leung et al. 2009; Liu et al. 2020; Mlakar et al. 2012; Kim et al. 2021; Sreekumar et al. 2021; Osera et al. 2015; Lazzara et al. 2020; Qin et al. 2020). Stimulationszeiten betrugen ein, drei und sieben Tage. Die Versuche erfolgten mittels rt-PCR mit Mehrfachbestimmungen und endogene Kontrollen. Alle Versuche wurden mindestens dreimal wiederholt. Ziel war die Etablierung eines Stimulationsschemas für RPE-Zellen, das zu einer möglichst hohen Aktivierung der Genexpression führt. Als signifikant galt  $p < 0.05$  und biologisch relevant  $RQ < 0.5$  oder  $> 2.0$ .

#### 3.2.1 Etablierung von Positivkontrollen für den Inflammationsarray

Die Taqman-Vorversuche für das Entzündungspanel erfolgten mit RPE-Zellen unter Einfluss von LPS (1 und 10  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) und Poly(I:C) (10 und 100  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ). Als endogene Kontrollen wurden

*Glycerinaldehyd-3-phosphat-dehydrogenase (GAPDH)*, *Glucuronidase Beta (GUSB)* und *Actin Beta (ACTB)* verwendet.

Zunächst wurde die Expression des Markergens *IL-8* nach ein-, drei- und sieben Tagen Stimulation untersucht. Alle dazugehörigen relativen Quotienten (RQ) zu den unbehandelten Kontrollgenen und p-Werte sind in Tabelle 11 aufgeführt. Die Expression von *IL-8* stieg nach Stimulation mit 1 und 10 µg/ml LPS und 100 µg/ml Poly(I:C) sowie nach dreitägiger mit den gleichen LPS Konzentrationen sowie mit 10 µg/ml Poly(I:C). Der stärkste Einfluss auf die Genexpression zeigte sich nach dreitägiger Stimulation mit 10 µg/ml LPS (RQ > 194; p < 0,000), gefolgt von 1 µg/ml LPS (RQ > 62; p < 0,005). Nach sieben Tagen zeigte sich nur noch eine tendenziell verminderte Expression von *IL-8*, was darauf hinweist, dass die Wirkung der verwendeten Noxen, bzw. die inflammatorische Antwort der RPE-Zellen nach sieben Tagen, deutlich abnimmt. Aus diesem Grund wurde der Fokus auf ein und drei Tage als Stimulationszeiten gelegt. Das Kontrollgen *ACTB* erwies sich aufgrund leichter proinflammatorischer Aktivierung (Daten nicht gezeigt) als ungeeignet. Es wurden anschließend nur noch *GUSB* sowie *GAPDH* für die weiteren Experimente genutzt.

**Tabelle 11: Vorversuche mit Interleukin 8 (*IL-8*) als Markergen.** Die Tabelle zeigt die Ergebnisse der Genexpressionsassays. Die Daten wurden mittels Thermo Fisher Connect gemäß der  $\Delta\Delta CT$  Methode evaluiert und in Relation zur unbehandelten Kontroll-Stimulation gesetzt. Die Tabelle umfasst die abgekürzte Nomenklatur der genutzten Gene, RQ die relative Höhe der Genexpressionslevel und der p-Wert ist für die Testung der Signifikanz angegeben. Signifikante und relevante Werte wurden fett markiert. LPS1 = 1 µg/mL Lipopolysaccharid (LPS), LPS10 = 10 µg/mL LPS, Poly(I:C)10 = 10 µg/mL Polyinosinsäure:Polycytidylsäure (Poly(I:C)), Poly(I:C)100 = 100 µg/mL Poly(I:C), *IL-8* = Interleukin 8, n = 3 Anzahl unabhängiger Versuche.

		1 Tag		3 Tage		7 Tage	
Stimulation		RQ	p-Wert	RQ	p-Wert	RQ	p-Wert
Kontrolle	<i>IL-8</i>	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000
LPS1	<i>IL-8</i>	29.566	0.113	<b>62.585</b>	<b>0.001</b>	8.728	0.089
LPS10	<i>IL-8</i>	<b>46.763</b>	<b>0.000</b>	<b>194.156</b>	<b>0.000</b>	18.111	0.077
Poly(I:C)10	<i>IL-8</i>	5.488	0.109	<b>12.212</b>	<b>0.012</b>	3.669	0.089
Poly(I:C)100	<i>IL-8</i>	<b>23.016</b>	<b>0.025</b>	1.191	0.931	9.320	0.082

Des Weiteren wurden die RPE-Zellen mit 1 und 10 µg/ml LPS sowie 10 und 100 µg/ml Poly(I:C) für ein und drei Tage stimuliert und *IL-6* und *NKAP* als Markergene genutzt. Alle

dazugehörigen relativen Quotienten (RQ) zu den unbehandelten Kontrollgenen und p-Werte sind in Tabelle 12 aufgelistet. Die Expression von *IL-6* wurde nach einem Tag durch 1 µg/ml LPS und 100 µg/ml PolyI:C sowie nach drei Tagen durch 1 und 10 µg/ml LPS gesteigert. Die Expression von *NKAP* wurde nach einem Tag durch 1 µg/ml LPS gesenkt und nach drei Tagen durch 10 µg/ml LPS gesteigert. In diesen Versuchen zeigte sich der stärkste signifikante Einfluss bei *IL-6* nach drei tägiger Stimulation mit 10 µg/ml LPS (RQ > 35; p < 0,000), gefolgt von der Stimulation mit 1 µg/ml LPS (RQ > 17; p < 0.05).

**Tabelle 12: Vorversuche mit *Interleukin 6 (IL-6)* und *NF-kappa-B-activating protein (NKAP)* als Markergene.** Die Tabelle zeigt die Ergebnisse der Genexpressionsassays. Die Daten wurden mittels Thermo Fisher Connect gemäß der ΔΔCT Methode evaluiert und in Relation zur unbehandelten Kontroll-Stimulation gesetzt. Dabei umfasst die abgekürzte Ausschrift der genutzten Gene, RQ die relative Höhe der Genexpressionslevel und der p-Wert ist für die Testung der Signifikanz angegeben. Signifikante und relevante Werte wurden fett markiert. LPS1 = 1 µg/mL Lipopolysaccharid (LPS), LPS10 = 10 µg/mL LPS, Poly(I:C)10 = 10 µg/mL Poly(I:C), Poly(I:C)100 = 100 µg/mL Poly(I:C), n = 3 Anzahl unabhängiger Versuche.

		<b>1 Tag</b>		<b>3 Tage</b>	
Stimulation		RQ	p-Wert	RQ	p-Wert
Kontrolle	<i>IL-6</i>	1.000	1.000	1.000	1.000
Kontrolle	<i>NKAP</i>	1.000	1.000	1.000	1.000
LPS1	<i>IL-6</i>	<b>3.870</b>	<b>0.017</b>	<b>17.131</b>	<b>0.026</b>
LPS1	<i>NKAP</i>	<b>0.402</b>	<b>0.040</b>	1.498	0.582
LPS10	<i>IL-6</i>	3.952	0.183	<b>35.007</b>	<b>0.000</b>
LPS10	<i>NKAP</i>	0.658	0.553	<b>3.022</b>	<b>0.010</b>
Poly(I:C)10	<i>IL-6</i>	2.136	0.170	4.171	0.107
Poly(I:C)10	<i>NKAP</i>	0.714	0.655	2.007	0.149
Poly(I:C)100	<i>IL-6</i>	<b>6.684</b>	<b>0.002</b>	3.409	0.066
Poly(I:C)100	<i>NKAP</i>	0.795	0.585	1.100	0.782

Für die weiteren Vorversuche wurden drei verschiedene Fucoidane (FV, Fuc1 und SL-F2), einzeln sowie in Kombination mit 10 µg/ml LPS für drei Tage genutzt, wobei *IL-6* und *IL-8* als Markergene dienten. Die relativen Quotienten wurden zum einen in Bezug auf die unbehandelte Kontrolle und zum anderen gegen LPS berechnet. Alle dazugehörigen RQ- und

p-Werte sind in Tabelle 13 aufgelistet. Nach Stimulation mit 10 µg/ml LPS für drei Tage zeigte sich im Vergleich zur unbehandelten Kontrolle eine signifikante und biologisch relevante Steigerung der Expression von *IL-6* (RQ > 3,8; p < 0.05) und von *IL-8* (RQ > 48; p < 0,000), jedoch zeigte sich keine signifikante Steigerung der Expression von *NKAP*. Abgesehen vom FV-Fucoidan führte die alleinige Stimulation mit den genannten Fucoidanen zu einer relevanten Erhöhung der Expression der Markergene. Verglichen mit der alleinigen Stimulation durch 10 µg/ml LPS zeigte die Kombination zwischen FV + 10 µg/ml LPS und Fuc1 + 10 µg/ml LPS eine signifikante Reduktion der Genexpression von *IL-8*. Entsprechend wurde die durch 10 µg/ml LPS erhöhte Expression von *IL-8* auf RQ > 48 durch Fuc1 und FV reduziert. Fuc1 zusammen mit 10 µg/ml LPS senkte die Expression von *IL-6* im Vergleich zur Stimulation mit LPS alleine (RQ = 0.268, p = 0.007).

Für die Taqman-Versuche wurde der Fokus auf FV-Fucoidan gelegt.

**Tabelle 13: Vorversuche mit Fucoidan und etablierten Noxen für Gene, relevant für Inflammation.** Die Tabelle zeigt die Ergebnisse der Genexpressionsassays. Die Daten wurden mittels Thermo Fisher Connect gemäß der  $\Delta\Delta CT$  Methode evaluiert und zum einen in Relation zur unbehandelten Kontroll-Stimulation und zum anderen zu LPS gesetzt. Dabei umfasst die abgekürzte Ausschrift der genutzten Gene, RQ die relative Höhe der Genexpressionslevel und der p-Wert ist für die Testung der Signifikanz angegeben. Signifikante und relevante Werte wurden fett markiert. LPS10 = 10 µg/mL LPS, Fuc1 = fucoidan from *Laminaria hyperborea*, SL-F2 = fucoidan from *Saccharina latissima*, FV = fucoidan from *Fucus vesiculosus* (Sigma-Aldrich), n = 3 Anzahl unabhängiger Versuche.

		gegen Ko		gegen LPS	
Stimulation		RQ	p-Wert	RQ	p-Wert
Kontrolle	<i>IL-6</i>	1.000	1.000	<b>0.26</b>	<b>0.040</b>
Kontrolle	<i>IL-8</i>	1.000	1.000	<b>0.021</b>	<b>0.000</b>
Kontrolle	<i>NKAP</i>	1.000	1.000	0.668	0.132
LPS10	<i>IL-6</i>	<b>3.842</b>	<b>0.040</b>	1.000	1.000
LPS10	<i>IL-8</i>	<b>48.108</b>	<b>0.000</b>	1.000	1.000
LPS10	<i>NKAP</i>	1.497	0.132	1.000	1.000
FV	<i>IL-6</i>	0.854	0.671	<b>0.222</b>	<b>0.025</b>
FV	<i>IL-8</i>	0.572	0.205	<b>0.012</b>	<b>0.000</b>

		gegen Ko		gegen LPS	
FV	<i>NKAP</i>	0.939	0.909	0.627	0.387
FV+LPS10	<i>IL-6</i>	1.737	0.093	0.452	0.142
FV+LPS10	<i>IL-8</i>	<b>26.104</b>	<b>0.000</b>	0.543	<b>0.027</b>
FV+LPS10	<i>NKAP</i>	1.261	0.400	0.842	0.369
Fuc1	<i>IL-6</i>	<b>2.140</b>	<b>0.046</b>	0.557	0.253
Fuc1	<i>IL-8</i>	<b>13.962</b>	<b>0.001</b>	<b>0.443</b>	<b>0.032</b>
Fuc1	<i>NKAP</i>	1.417	0.276	0.946	0.820
Fuc1+LPS10	<i>IL-6</i>	<b>2.421</b>	<b>0.010</b>	0.63	0.33
Fuc1+LPS10	<i>IL-8</i>	<b>12.883</b>	<b>0.001</b>	<b>0.268</b>	<b>0.007</b>
Fuc1+LPS10	<i>NKAP</i>	1.158	0.645	0.774	0.335
SL-F2	<i>IL-6</i>	0.434	0.136	<b>0.113</b>	<b>0.008</b>
SL-F2	<i>IL-8</i>	<b>7.432</b>	<b>0.001</b>	<b>0.154</b>	<b>0.000</b>
SL-F2	<i>NKAP</i>	<b>2.575</b>	<b>0.011</b>	1,720	0.048
SL-F2+LPS10	<i>IL-6</i>	1.774	0.144	0.462	0.160
SL-F2+LPS10	<i>IL-8</i>	<b>32.214</b>	<b>0.000</b>	0.513	0.118
SL-F2+LPS10	<i>NKAP</i>	1.85	0.164	1,236	0.564

### 3.2.2 Etablierung von Positivkontrollen für den oxidativen Stress-Genearray

Für die Positivkontrollen im Hinblick auf oxidativen Stress wurden *Katalase* (*CAT*), *Glutathionsynthase* (*GSS*) und *Superoxid-Dismutase* (*SOD1*) als Markergene und *ACTB*, *GAPDH* und *GUSB* als Kontrollgene verwendet. Zunächst wurden die RPE-Zellen mit 100 und 300 µM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> über Zeiträume von vier Stunden, einem Tag sowie drei Tagen stimuliert (Tabelle 14). Es zeigte sich nach eintägiger Stimulation mit 100 µM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> eine signifikante Steigerung der Expression von *SOD1* (RQ = 2,475; p = 0,029) und eine tendenzielle (p ≥ 0,05 ≤ 0,01) Steigerung von *GSS* (RQ = 1,546; p = 0,080). Aufgrund der niedrigen Beeinflussung der Genexpression, wurde die Konzentration von H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> auf 500 und 750 µM erhöht, jedoch zeigten sich bei diesen Versuchen nach eintägiger Stimulation keine signifikanten Ergebnisse. Die

RPE-Zellen erwiesen sich als recht resistent, was auf ihre Fähigkeit zurückzuführen sein dürfte, oxidativen Stress abzuwehren, zurückzuführen sein wird (Klettner 2012). Selbst bei verkürzter Stimulationszeit (vier Stunden) mit 500 µM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> zeigte sich keine signifikante Veränderung der Genexpression.

In nachfolgenden Experimenten wurden die Auswirkungen von TBHP und Erastin auf RPE-Zellen untersucht (Tabelle 14). Dabei zeigte sich eine leichte signifikante Steigerung von *GSS* nach eintägiger Stimulation mit 30 µM Erastin (RQ = 1,577; p = 0,011) sowie nach vierstündiger Stimulation mit 300 µM TBHP (RQ = 2,054; p = 0,035). Es zeigte sich tendenziell eine Steigerung von *SOD1* nach eintägiger Stimulation mit 30 µM Erastin (RQ = 1,569; p = 0,076) und von *CAT* (RQ = 3,046; p = 0,055). Angesichts der niedrigen RQ-Werten wurde in weiteren Experimenten die Stimulation mit LPS versucht, da bereits in anderen Studien gezeigt werden konnte, dass LPS eine stimulierende Funktion bzgl. oxidativen Stress hat (Noworyta-Sokołowska et. al. 2013). Ebenso wurden die Zellen in weiteren Experimenten mit CoCl<sub>2</sub> stimuliert, da CoCl<sub>2</sub> eine Rolle in oxidativen Stress, beispielsweise durch Formation von reaktiven Sauerstoffspezies, spielt (A. Ayswarya et. al. 2016). Bei diesen Versuchen wurden die RPE-Zellen für einen Tag mit 1 und 10 µg/ml LPS sowie 100 und 150 µM CoCl<sub>2</sub> stimuliert (Tabelle 14). Dabei wurde durch die Stimulation mit 10 µg/ml LPS die Expression von *CAT* auf RQ = 5,455 (p = 0,004) und *SOD1* auf RQ = 8,221 (p = 0,001) gesteigert. Tendenzielle, jedoch nur geringe Veränderungen, zeigten sich bei *CAT* nach Stimulation mit 100 CoCl<sub>2</sub> (RQ = 1,825; p = 0,056) und bei *GSS* nach Stimulation mit 1 µg/ml LPS (RQ = 2,351; p = 0,096).

**Tabelle 14: Vorversuche zur Etablierung von Noxen, die Gene, relevant für oxidativen Stress, stimulieren.** Die Tabelle zeigt die Ergebnisse der Genexpressionsassays. Die Daten wurden mittels Thermo Fisher Connect gemäß der ΔΔCT Methode evaluiert und in Relation zur unbehandelten Kontroll-Stimulation gesetzt. Die Tabelle beinhaltet die Abkürzungen der untersuchten Gene, die relativen Genexpressionslevel (RQ) und die zur Signifikanzprüfung verwendeten p-Werte. Signifikante und relevante Werte wurden fett markiert. *CAT* = Gen für Katalase, *GSS* = Gen für Glutathionsynthetase, *SOD1* = Gen für Superoxiddismutase 1, 100H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> = 100 µM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, 300H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> = 300 µM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, 500H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> = 500 µM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, 750H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> = 750 µM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, 200TBHP = 20,0 -Butylhydroperoxid (TBHP), 300TBHP = 300 µM TBHP, 20Erastin = 20 µM Erastin, 30Erastin = 30 µM Erastin, LPS1 = 1 µg/ml Lipopolysaccharid (LPS), LPS10 = 10 µg/ml LPS, 100CoCl<sub>2</sub> = 100 µM CoCl<sub>2</sub>, 150CoCl<sub>2</sub> = 150 µM CoCl<sub>2</sub>, n = 3 Anzahl unabhängiger Experimente.

Zeit	Stimulation		RQ	p-Wert
4 Stunden	Kontrolle	<i>CAT</i>	1,000	1,000
4 Stunden	Kontrolle	<i>GSS</i>	1,000	1,000

Zeit	Stimulation		RQ	p-Wert
4 Stunden	Kontrolle	<i>SOD1</i>	1,000	1,000
4 Stunden	100H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	<i>CAT</i>	1,099	0,862
4 Stunden	100H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	<i>GSS</i>	1,546	0,080
4 Stunden	100H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	<i>SOD1</i>	1,413	0,643
4 Stunden	300H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	<i>CAT</i>	1,403	0,566
4 Stunden	300H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	<i>GSS</i>	0,655	0,208
4 Stunden	300H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	<i>SOD1</i>	1,016	0,980
4 Stunden	300TBHP	<i>CAT</i>	3,046	0,055
4 Stunden	300TBHP	<i>GSS</i>	<b>2,054</b>	<b>0,035</b>
4 Stunden	300TBHP	<i>SOD1</i>	1,543	0,263
4 Stunden	20Erastin	<i>CAT</i>	1,819	0,201
4 Stunden	20Erastin	<i>GSS</i>	0,859	0,775
4 Stunden	20Erastin	<i>SOD1</i>	0,802	0,574
1 Tag	Kontrolle	<i>CAT</i>	1,000	1,000
1 Tag	Kontrolle	<i>GSS</i>	1,000	1,000
1 Tag	Kontrolle	<i>SOD1</i>	1,000	1,000
1 Tag	100H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	<i>CAT</i>	1,842	0,489
1 Tag	100H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	<i>GSS</i>	1,742	0,456
1 Tag	100H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	<i>SOD1</i>	<b>2,475</b>	<b>0,029</b>
1 Tag	300H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	<i>CAT</i>	0,648	0,626
1 Tag	300H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	<i>GSS</i>	1,945	0,298
1 Tag	300H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	<i>SOD1</i>	0,889	0,865
1 Tag	500H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	<i>CAT</i>	1,428	0,125
1 Tag	500H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	<i>GSS</i>	1,247	0,562

Zeit	Stimulation		RQ	p-Wert
1 Tag	500H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	<i>SOD1</i>	1,251	0,430
1 Tag	750H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	<i>CAT</i>	1,550	0,082
1 Tag	750H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	<i>GSS</i>	1,268	0,548
1 Tag	750H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	<i>SOD1</i>	1,422	0,254
1 Tag	200TBHP	<i>CAT</i>	0,833	0,368
1 Tag	200TBHP	<i>GSS</i>	1,169	0,650
1 Tag	200TBHP	<i>SOD1</i>	1,206	0,196
1 Tag	30Elastin	<i>CAT</i>	1,391	0,102
1 Tag	30Elastin	<i>GSS</i>	1,577	<b>0,011</b>
1 Tag	30Elastin	<i>SOD1</i>	1,569	0,076
1 Tag	100CoCl <sub>2</sub>	<i>CAT</i>	1,825	0,056
1 Tag	100CoCl <sub>2</sub>	<i>GSS</i>	2,107	0,129
1 Tag	100CoCl <sub>2</sub>	<i>SOD1</i>	1,08	0,876
1 Tag	150CoCl <sub>2</sub>	<i>CAT</i>	1,287	0,505
1 Tag	150CoCl <sub>2</sub>	<i>GSS</i>	1,635	0,293
1 Tag	150CoCl <sub>2</sub>	<i>SOD1</i>	1,688	0,245
1 Tag	1LPS	<i>CAT</i>	1,113	0,833
1 Tag	1LPS	<i>GSS</i>	2,351	0,096
1 Tag	1LPS	<i>SOD1</i>	1,481	0,425
1 Tag	10LPS	<i>CAT</i>	<b>5,455</b>	<b>0,004</b>
1 Tag	10LPS	<i>GSS</i>	1,500	0,364
1 Tag	10LPS	<i>SOD1</i>	<b>8,221</b>	<b>0,001</b>
3 Tage	Kontrolle	<i>CAT</i>	1,000	1,000
3 Tage	Kontrolle	<i>GSS</i>	1,000	1,000

Zeit	Stimulation		RQ	p-Wert
3 Tage	Kontrolle	<i>SOD1</i>	1,000	1,000
3 Tage	100H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	<i>CAT</i>	0,264	0,185
3 Tage	100H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	<i>GSS</i>	0,678	0,608
3 Tage	100H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	<i>SOD1</i>	0,239	0,169
3 Tage	300H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	<i>CAT</i>	0,393	0,167
3 Tage	300H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	<i>GSS</i>	0,822	0,749
3 Tage	300H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	<i>SOD1</i>	0,259	0,193

Für die weiteren Experimente wurden die Zellen zum einen über einen Zeitraum von einem Tag mit 100 µM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> und zum anderen mit 10 µg/ml LPS stimuliert. Darauf folgten die Versuche mit zusätzlicher Stimulation durch drei ausgewählte Fucoidane (50 µg/ml FV, Fuc1 und FucBB04). Die Auswahl der Fucoidane erfolgte auf Grundlage vergangener Experimente (Dietrich et al., 2020; Dörschmann et al., 2019a; Dörschmann et al., 2019b; Klettner et al., 2020). Zur Auswahl eines geeigneten Fucoidans für die Genearray-Versuche, bei denen zahlreiche Gene getestet werden sollten, wurde die Wirkung der genannten Fucoidane einzeln, sowie zusammen mit dem zuvor ausgewählten Stimulationsschema (10 µg/ml LPS für einen Tag) getestet. Tabelle 15 listet alle RQ-Werte im Vergleich zur unbehandelten Kontrolle sowie gegen LPS als Kontrollwert auf, einschließlich der zugehörigen p-Werte. Bei den Genanalysen zeigte sich, wie auch bereits in den Vorversuchen, eine Steigerung der Expression von *CAT* (RQ = 3,763; p = 0,016) und *SOD1* (RQ = 5,831; 0,004). Die alleinige Stimulation mit den Fucoidanen beeinflusste keine der Markergene. Bei den Ergebnissen mit 10 µg/ml LPS (10LPS) als Kontrolle, zeigte sich, dass Fuc1 alleine die Expression von *CAT*, *SOD1* signifikant und von *GSS* tendenziell reduzierte. FucBB04 und FV senkten ebenfalls bei alleiniger Anwendung die Expression von *SOD1* und *CAT*. Zellen, die simultan mit 10 µg/ml LPS und den Fucoidanen stimuliert wurden, senkten allesamt die Expression von *CAT* und *SOD1*. Die Expression dieser zwei Gene, die zuvor durch 10 µg/ml LPS gesteigert wurde, senkte sich zusammen mit FV auf RQ = 0,289 (p = 0,017) bzw. RQ = 0,222 (p = 0,009), mit Fuc1 auf RQ = 0,196 (p = 0,010) bzw. RQ = 0,242 (p = 0,042) und mit FucBB04 auf RQ = 0,279 (p = 0,004) bzw. und RQ = 0,286 (p = 0,023). Insgesamt wurde beobachtet, dass Fucoidane einen positiven Einfluss auf die durch oxidativen Stress verursachte Genexpression haben.

**Tabelle 15: Vorversuche mit etablierten Noxen, die oxidativen Stress relevante Gene stimulieren, sowie deren Beeinflussung durch Fucoidan.** Die Tabelle zeigt die Ergebnisse der Genexpressionsassays. Die Daten wurden mittels Thermo Fisher Connect gemäß der  $\Delta\Delta CT$  Methode evaluiert und zum einen in Relation zur unbehandelten Kontroll-Stimulation und zum anderen zu LPS gesetzt. Darin sind die Abkürzungen der verwendeten Gene enthalten, RQ die relative Höhe der Genexpressionslevel und der p-Wert ist für die Testung der Signifikanz angegeben. Signifikante und relevante Werte wurden fett markiert. *CAT* = Gen für Katalase, *GSS* = Gen für Glutathionsynthetase, *SOD1* = Gen für Superoxiddismutase 1, LPS10 = 10  $\mu\text{g}/\text{ml}$  LPS, Fuc1 = 1548,6 kDa Fucoidan aus *Laminaria hyperborea*, FucBB04 = >2000 kDa Fucoidan aus *Laminaria hyperborea*, FV = Fucoidan aus *Fucus vesiculosus* (Sigma-Aldrich), n = 3 Anzahl unabhängiger Experimente.

		gegen Ko		gegen LPS	
Stimulation		RQ	p-Wert	RQ	p-Wert
Kontrolle	<i>CAT</i>	1.000	1.000	<b>0.266</b>	<b>0.016</b>
Kontrolle	<i>GSS</i>	1.000	1.000	0.659	0.261
Kontrolle	<i>SOD1</i>	1.000	1.000	<b>0.171</b>	<b>0.004</b>
10LPS	<i>CAT</i>	<b>3.763</b>	<b>0.016</b>	1.000	1.000
10LPS	<i>GSS</i>	1.517	0.261	1.000	1.000
10LPS	<i>SOD1</i>	<b>5.831</b>	<b>0.004</b>	1.000	1.000
FV	<i>CAT</i>	1.177	0.751	0.313	0.051
FV	<i>GSS</i>	1.549	0.270	1.021	0.930
FV	<i>SOD1</i>	1.251	0.476	0.214	0.010
FV+10LPS	<i>CAT</i>	1.086	0.850	<b>0.289</b>	<b>0.017</b>
FV+10LPS	<i>GSS</i>	0.751	0.498	0.495	0.161
FV+10LPS	<i>SOD1</i>	1.292	0.462	<b>0.222</b>	<b>0.009</b>
Fuc1	<i>CAT</i>	1.382	0.492	<b>0.367</b>	<b>0.044</b>
Fuc1	<i>GSS</i>	0.908	0.787	0.599	0.053
Fuc1	<i>SOD1</i>	1.171	0.585	<b>0.201</b>	<b>0.014</b>
Fuc1+10LPS	<i>CAT</i>	0.739	0.448	<b>0.196</b>	<b>0.010</b>
Fuc1+10LPS	<i>GSS</i>	1.036	0.954	0.683	0.506

		gegen Ko		gegen LPS	
Fuc1+10LPS	<i>SOD1</i>	1.414	0.487	<b>0.242</b>	<b>0.042</b>
FucBB04	<i>CAT</i>	0.891	0.790	<b>0.237</b>	<b>0.011</b>
FucBB04	<i>GSS</i>	1.347	0.437	0.888	0.615
FucBB04	<i>SOD1</i>	1.179	0.646	<b>0.202</b>	<b>0.008</b>
FucBB04+10LPS	<i>CAT</i>	1.051	0.902	<b>0.279</b>	<b>0.004</b>
FucBB04+10LPS	<i>GSS</i>	1.247	0.582	0.822	0.477
FucBB04+10LPS	<i>SOD1</i>	1.666	0.243	<b>0.286</b>	<b>0.023</b>

### 3.2.3 Etablierung von Positivkontrollen für das Angiogenese-Genearray

Die Markergene *ANGPT2*, *TGFB1* und *VEGFA* wurden zusammen mit den endogenen Kontrollen *GAPDH*, *ACTB* und *GUSB* verwendet. Die RPE-Zellen wurden über einen Zeitraum von ein oder drei Tagen mit 1 und 10 µg/ml LPS sowie 100 und 150 µM CoCl<sub>2</sub> behandelt. CoCl<sub>2</sub> wurde aufgrund seiner angiogenese-fördernden Wirkung getestet (Rana et al., 2019). Alle dazugehörigen RQ- und p-Werte sind in Tabelle 16 aufgelistet. Bei einer dreitägigen Stimulation mit 100 µM CoCl<sub>2</sub> wurde die Expression von *ANGPT2* auf RQ = 2,572 (p = 0,005) erhöht. Bei Verwendung von 150 µM CoCl<sub>2</sub> war die Steigerung sogar deutlicher mit einem RQ = 4,54 (p = 0,004). Abgesehen davon zeigten sich keine weiteren signifikanten Veränderungen.

**Tabelle 16: Vorversuche zur Etablierung von Noxen, die Gene, relevant für Angiogenese, stimulieren.** Die Tabelle zeigt die Ergebnisse der Genexpressionsassays. Die Daten wurden mittels Thermo Fisher Connect gemäß der ΔΔCT Methode evaluiert und in Relation zur unbehandelten Kontroll-Stimulation gesetzt. Die Tabelle enthält Abkürzungen der untersuchten Gene, gibt die relativen Genexpressionslevel (RQ) an und listet p-Werte zur Testung der Signifikanz auf. Signifikante und relevante Werte wurden fett markiert. LPS1 = 1 µg/mL Lipopolysaccharide (LPS), LPS10 = 10 µg/mL LPS, 100CoCl<sub>2</sub> = 100 µM Cobalt(II)-chlorid (CoCl<sub>2</sub>), 150CoCl<sub>2</sub> = 150 µM CoCl<sub>2</sub>, *ANGPT2* = Angiopoietin 2, *TGFB1* = Transforming Growth Factor beta, *VEGFA* = Vascular Endothelial Growth Factor A, n = 3 Anzahl unabhängiger Experimente.

		1 Tag		3 Tage	
Stimulation		RQ	p-Wert	RQ	p-Wert
Kontrolle	<i>ANGPT2</i>	1.000	1.000	1.000	1.000
Kontrolle	<i>TGFB1</i>	1.000	1.000	1.000	1.000

		1 Tag		3 Tage	
Kontrolle	<i>VEGFA</i>	1.000	1.000	1.000	1.000
100CoCl <sub>2</sub>	<i>ANGPT2</i>	2.231	0.180	<b>2.572</b>	<b>0.005</b>
100CoCl <sub>2</sub>	<i>TGFB1</i>	0.971	0.921	0.623	0.181
100CoCl <sub>2</sub>	<i>VEGFA</i>	1.397	0.135	0.987	0.946
150CoCl <sub>2</sub>	<i>ANGPT2</i>	2.479	0.116	<b>4.540</b>	<b>0.004</b>
150CoCl <sub>2</sub>	<i>TGFB1</i>	0.699	0.368	0.769	0.480
150CoCl <sub>2</sub>	<i>VEGFA</i>	1.050	0.861	1.578	0.236
1LPS	<i>ANGPT2</i>	0.782	0.549	0.907	0.578
1LPS	<i>TGFB1</i>	1.203	0.406	0.913	0.748
1LPS	<i>VEGFA</i>	0.954	0.856	0.800	0.171
10LPS	<i>ANGPT2</i>	0.580	0.417	0.889	0.342
10LPS	<i>TGFB1</i>	0.837	0.668	1.201	0.646
10LPS	<i>VEGFA</i>	1.362	0.262	0.992	0.961

Bei den weiteren Experimenten bzgl. Angiogenese wurden die RPE-Zellen entsprechend für drei Tage mit 150 CoCl<sub>2</sub> stimuliert. *ACTB* wurde als Kontrollgen nicht weiterverwendet, da es eine stark variierende Expression zeigte, dafür wurden *GAPDH* und *GUSB* verwendet. Die getesteten Fucoidane sowie RQ- und p-Werte sind in Tabelle 17 aufgelistet. Die Auswertung erfolgte zum einen gegen die unbehandelte Kontrolle und zum anderen gegen CoCl<sub>2</sub> gerechnet.

Wie im Vortest, zeigte sich auch in diesem Experiment eine Steigerung von *ANGPT2* durch 150 µM CoCl<sub>2</sub> (RQ = 8,079; p = 0,001). Die Expression von *TGFB1* wurde durch Fuc1 zwar signifikant und durch FV tendenziell gesteigert, war jedoch biologisch nicht relevant (RQ < 0.5 oder > 2.0). Verglichen mit der alleinigen Stimulation durch CoCl<sub>2</sub> wurde die Genexpression von *ANGPT2* durch die Kombination mit FucBB04 auf RQ = 0,272 (p = 0,01), mit FV auf RQ = 0,443 (p = 0,035) und mit Fuc1 auf 0,167 (p = 0,022) gesenkt. Zusammen mit dem etablierten Stimulationsschema wurde FV-Fucoidan für die weiteren Untersuchungen verwendet.

**Tabelle 17: Vorversuche mit etablierten Noxen, die Angiogenese relevante Gene stimulieren, sowie deren Beeinflussung durch Fucoidan.** Die Tabelle zeigt die Ergebnisse der Genexpressionsassays. Die Daten wurden mittels Thermo Fisher Connect gemäß der ΔΔCT Methode evaluiert und zum einen in Relation zur unbehandelten Kontroll-Stimulation und zum

anderen zu CoCl<sub>2</sub> gesetzt. Die Tabelle beinhaltet die Abkürzungen der untersuchten Gene, die relativen Genexpressionslevel (RQ) und die zur Signifikanzprüfung verwendeten p-Werte. Signifikante und relevante Werte wurden fett markiert. 150CoCl<sub>2</sub> = 150 µM Cobalt(II)-chlorid (CoCl<sub>2</sub>), Fuc1 = 1548 kDa Fucoidan aus *Laminaria hyperborea*, FucBB04 = >2000 kDa Fucoidan aus *Laminaria hyperborea*, FV = Fucoidan aus *Fucus vesiculosus* (Sigma-Aldrich), ANGPT2 = Angiopoietin 2, TGFB1 = Transforming growth factor beta 1, VEGFA = Vascular Endothelial Growth Factor A, n = 3 Anzahl unabhängiger Experimente.

		gegen Ko		gegen CoCl <sub>2</sub>	
Stimulation		RQ	p-Wert	RQ	p-Wert
Kontrolle	<i>ANGPT2</i>	1.000	1.000	<b>0.124</b>	<b>0.001</b>
Kontrolle	<i>TGFB1</i>	1.000	1.000	0.594	0.422
Kontrolle	<i>VEGFA</i>	1.000	1.000	1.173	0.747
150CoCl <sub>2</sub>	<i>ANGPT2</i>	<b>8.079</b>	<b>0.001</b>	1.000	1.000
150CoCl <sub>2</sub>	<i>TGFB1</i>	1.683	0.422	1.000	1.000
150CoCl <sub>2</sub>	<i>VEGFA</i>	0.852	0.747	1.000	1.000
FV	<i>ANGPT2</i>	0.972	0.949	<b>0.120</b>	<b>0.001</b>
FV	<i>TGFB1</i>	1.484	0.082	0.882	0.832
FV	<i>VEGFA</i>	0.574	0.110	0.673	0.402
150CoCl <sub>2</sub> + FV	<i>ANGPT2</i>	<b>3.581</b>	<b>0.013</b>	<b>0.443</b>	<b>0.035</b>
150CoCl <sub>2</sub> + FV	<i>TGFB1</i>	0.470	0.324	0.279	0.178
150CoCl <sub>2</sub> + FV	<i>VEGFA</i>	0.976	0.952	1.145	0.784
Fuc1	<i>ANGPT2</i>	0.706	0.512	<b>0.087</b>	<b>0.003</b>
Fuc1	<i>TGFB1</i>	1.686	0.027	1.002	0.998
Fuc1	<i>VEGFA</i>	0.579	0.180	0.679	0.440
150CoCl <sub>2</sub> +Fuc1	<i>ANGPT2</i>	1.350	0.573	<b>0.167</b>	<b>0.022</b>
150CoCl <sub>2</sub> +Fuc1	<i>TGFB1</i>	1.267	0.362	0.753	0.644
150CoCl <sub>2</sub> +Fuc1	<i>VEGFA</i>	0.668	0.359	0.784	0.636
FucBB04	<i>ANGPT2</i>	1.187	0.654	<b>0.147</b>	<b>0.002</b>

		gegen Ko		gegen CoCl <sub>2</sub>	
FucBB04	<i>TGFB1</i>	1.143	0.451	0.679	0.532
FucBB04	<i>VEGFA</i>	1.017	0.964	1.193	0.711
150CoCl <sub>2</sub> +FucBB04	<i>ANGPT2</i>	2.199	0.072	<b>0.272</b>	<b>0.010</b>
150CoCl <sub>2</sub> +FucBB04	<i>TGFB1</i>	<b>0.283</b>	<b>0.005</b>	0.168	0.060
150CoCl <sub>2</sub> +FucBB04	<i>VEGFA</i>	0.711	0.297	0.835	0.682

### 3.3 Etablierung von Genexpressionspanels

Die Experimente nutzten speziell zusammengestellte Genpanels. Als Grundlage für die Versuchsreihen dienten drei verschiedene 96-Well-Platten, die jeweils 96 verschiedene Genexpressionsassays, ausgewählt aus dem Online-Katalog von Thermo Fisher Scientific, beinhalteten. Als Orientierung dienten bestehende, auf den Menschen bezogene Genpanels für AMD, die auf den drei Well-Platten nach Inflammation, oxidativem Stress und Angiogenese differenziert waren. Nicht äquivalente Gene für das porcine RPE wurden durch entsprechende porcine Alternativen ersetzt. Je Well-Platte wurden drei endogene Kontrollen verwendet. Das Design der Platten, die Gennamen und die Assay-IDs sind im Anhang in Tabelle A1-3 und alle dazugehörigen Ergebnisse im Anhang Tabelle A4-6 aufgelistet.

#### 3.3.1 Entzündungsarray und dessen Beeinflussung durch FV-Fucoidan

Für die Genexpressionsassays bzgl. Entzündung wurden die RPE-Zellen für drei Tage mit 10 µg/ml LPS, 50 µg/ml FV Fucoidan bzw. LPS zusammen mit FV stimuliert. Zudem wurde eine der Versuchsreihen mit einer unbehandelten Kontrolle durchgeführt. Die Ergebnisse des Entzündungsarrays finden sich in Tabelle A4 im Anhang und sind zudem in Abb. 7-8 graphisch dargestellt. Als endogene Kontrollen wurden *GAPDH*, *GUSB* und *HPRT1* verwendet. Als signifikant galt p-Wert ≤ 0,05 und als biologisch relevant RQ < 0.5 oder > 2.0.

Die Stimulation der RPE-Zellen durch LPS führte zu einer signifikanten Steigerung der Expression von 19 Genen, davon 16 biologisch relevant (Tabelle 18), und eine signifikante Senkung von fünf Genen, davon zwei biologisch relevant (Tabelle 19). Die deutlichste Steigerung durch LPS wurde bei *Interleukin-1β (IL1B)* mit einem RQ von 43,644 (p = 0,000) festgestellt, dicht gefolgt von *IL-8* mit einem RQ von 33,54 (p = 0,010).

**Tabelle 18: Entzündungsarray: Durch 10 µg/mL LPS hochregulierte Gene.** Diese Tabelle präsentiert die Ergebnisse der Genexpressionsassays. Für die Datenanalyse wurde Thermo

Fisher Connect unter Anwendung der  $\Delta\Delta CT$  Methode eingesetzt, wobei die Daten im Verhältnis zur unbehandelten Kontroll-Stimulation betrachtet wurden. Innerhalb der Tabelle finden sich die Abkürzungen der analysierten Gene, die relativen Genexpressionswerte (RQ) und die p-Werte für die Überprüfung der Signifikanz. Besonders relevante und signifikante Werte sind hervorgehoben. LPS10 steht für eine Konzentration von 10  $\mu\text{g}/\text{mL}$  LPS.

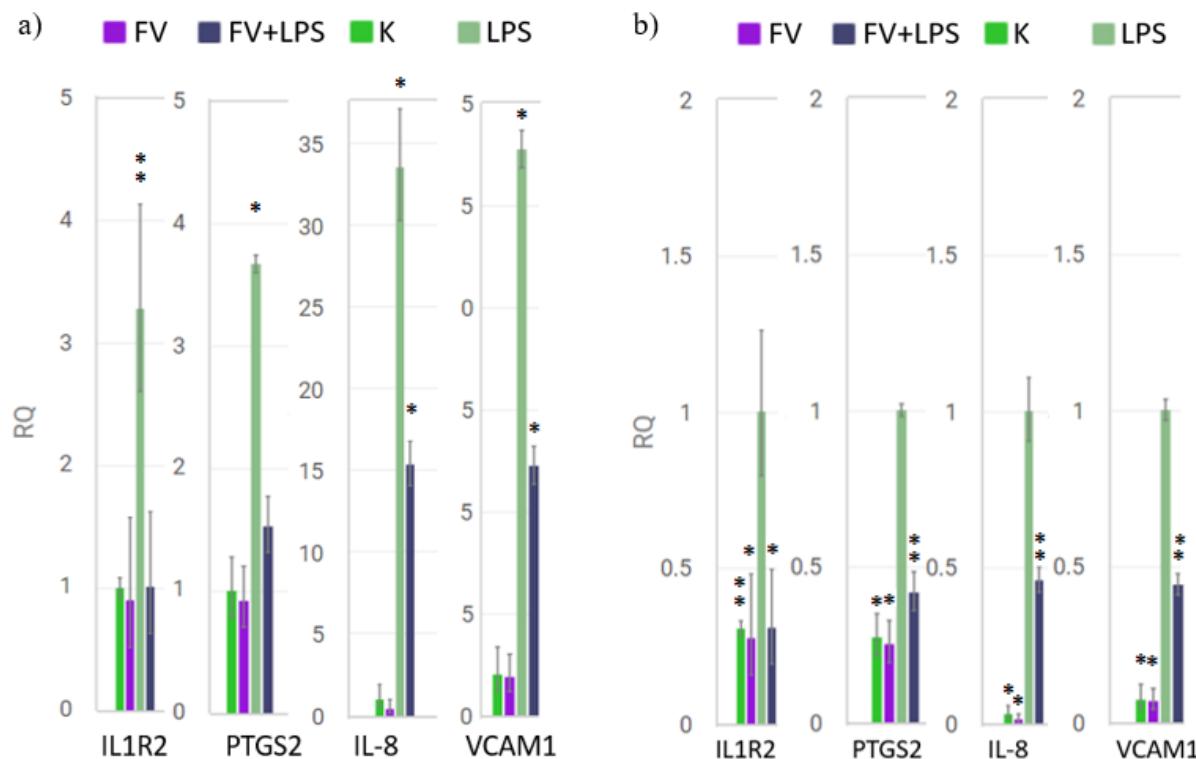
Stimulation		RQ	p-Wert
LPS10	<i>NR3C1</i>	1,08	<b>0,049</b>
LPS10	<i>PTGFR</i>	1,818	<b>0,037</b>
LPS10	<i>TNFRSF1B</i>	1,901	<b>0,000</b>
LPS10	<i>TLR4</i>	<b>2,226</b>	<b>0,014</b>
LPS10	<i>CFB</i>	<b>2,583</b>	<b>0,031</b>
LPS10	<i>PTGS1</i>	<b>2,589</b>	<b>0,002</b>
LPS10	<i>C2</i>	<b>2,686</b>	<b>0,043</b>
LPS10	<i>IL1R2</i>	<b>3,286</b>	<b>0,007</b>
LPS10	<i>IL-6</i>	<b>3,38</b>	<b>0,008</b>
LPS10	<i>CCL19</i>	<b>3,631</b>	<b>0,034</b>
LPS10	<i>PTGS2</i>	<b>3,675</b>	<b>0,011</b>
LPS10	<i>ICAM</i>	<b>3,961</b>	<b>0,000</b>
LPS10	<i>PLA2G2D</i>	<b>4,057</b>	<b>0,003</b>
LPS10	<i>CASPI</i>	<b>7,157</b>	<b>0,032</b>
LPS10	<i>VCAM1</i>	<b>13,864</b>	<b>0,012</b>
LPS10	<i>CCL2</i>	<b>15,888</b>	<b>0,000</b>
LPS10	<i>C3</i>	<b>27,491</b>	<b>0,000</b>
LPS10	<i>IL-8</i>	<b>33,54</b>	<b>0,010</b>
LPS10	<i>IL1B</i>	<b>43,644</b>	<b>0,000</b>

**Tabelle 19: Entzündungsarray: Durch 10  $\mu\text{g}/\text{mL}$  LPS herunterregulierte Gene.** Diese Tabelle präsentiert die Ergebnisse der Genexpressionsassays. Für die Datenanalyse wurde Thermo Fisher Connect unter Anwendung der  $\Delta\Delta CT$  Methode eingesetzt, wobei die Daten im Verhältnis zur unbehandelten Kontroll-Stimulation betrachtet wurden. Innerhalb der Tabelle

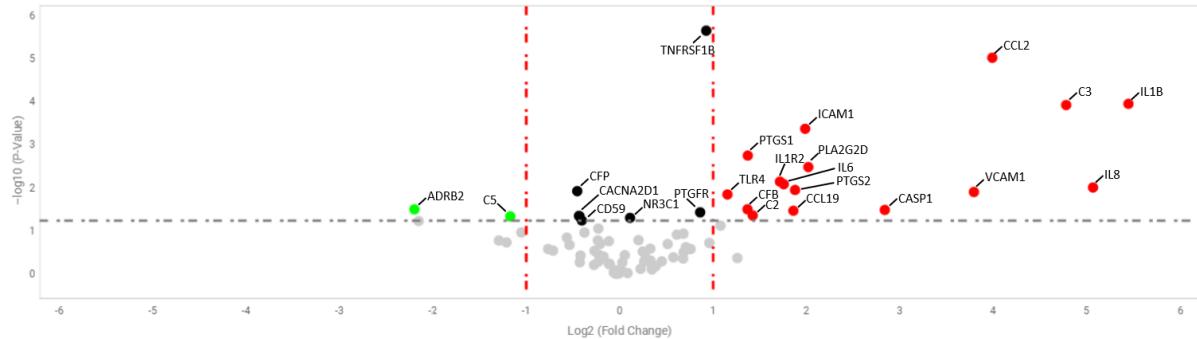
finden sich die Abkürzungen der analysierten Gene, die relativen Genexpressionswerte (RQ) und die p-Werte für die Überprüfung der Signifikanz. Besonders relevante und signifikante Werte sind hervorgehoben. LPS10 steht für eine Konzentration von 10 µg/mL LPS.

Stimulation		RQ	p-Wert
LPS10	<i>ADRB2</i>	<b>0,218</b>	<b>0,031</b>
LPS10	<i>C5</i>	<b>0,444</b>	<b>0,045</b>
LPS10	<i>CFP</i>	0,73	<b>0,012</b>
LPS10	<i>CACNA2D1</i>	0,739	<b>0,044</b>
LPS10	<i>CD59</i>	0,743	<b>0,045</b>

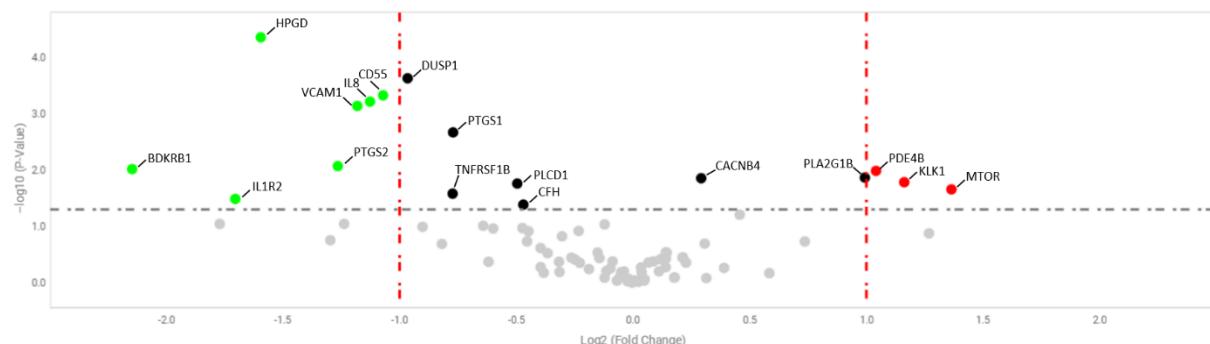
Die Stimulation lediglich mit FV-Fucoidan veranlasste keine Erhöhung der Genexpression. Es wurden jedoch signifikante, wenn auch biologisch nicht bedeutsame, Senkungen bei den Genen *CD46*, *IL-6R*, *MAPK14*, *NKAP* und *NR3C1* festgestellt. Wenn die Zellen sowohl mit LPS als auch mit FV stimuliert wurden, ergab sich im Vergleich zur alleinigen LPS-Stimulation bei den Genen *BDKRB1*, *CD55*, *HPGD*, *IL1R2*, *IL-8*, *PTGS2* und *VCAM1* ein verringelter Expressionswert. Im Gegensatz dazu zeigten die Gene *KLK1*, *MTOR* und *PDE4B* erhöhte Expressionswerte. Gene, deren Expression durch LPS zunächst erhöht wurde und anschließend in Kombination mit FV wieder sank, sind in Abb. 6a-b grafisch visualisiert.



**Abbildung 6: Inflammationsarray mit Genen beeinflusst durch LPS (a) und LPS+FV (b).** In Abb. 6a wird die durch  $10 \mu\text{g}/\text{mL}$  LPS gesteigerte Genexpression von *IL1R2*, *IL-8*, *PTGS2* und *VCAM1* dargestellt. In Abb. 6b wird die durch FV gesenkte Genexpression der genannten Gene, die zuvor durch alleinige Stimulation mit LPS gesteigert wurden, gezeigt. Die Balken sind farblich kodiert und stellen den Mittelwert und die Standardabweichung mit einer auf 100% festgelegten Kontrolle (K) dar. Die Daten wurden mit Thermo Fisher Connect gemäß der  $\Delta\Delta CT$  Methode evaluiert. Die Anzahl der unabhängigen Experimente betrug  $n=3$ . Signifikanzen sind mit \* gekennzeichnet.



**Abbildung 7: Vulkandiagramm für das Inflammationsarray gegen die Kontrolle (K).** Das Vulkandiagramm, erstellt durch Thermo Fisher Connect, zeigt das logarithmisch relevante Genexpressionsniveau und die p-Werte aller Gene, die mit  $10 \mu\text{g}/\text{ml}$  Lipopolysaccharid (LPS10) stimuliert wurden. Die Daten sind gegen die unbehandelte Kontrolle (gesetzt auf 1,0) gerechnet und dargestellt worden. Als signifikant galt  $p < 0,05$  und als biologisch relevant  $RQ < 0,5$  oder  $> 2,0$ . Gene, die nicht signifikant beeinflusst wurden, sind unterhalb des Grenzwertes in grau gekennzeichnet. Gene oberhalb der Grenze sind in schwarz dargestellt und wurden signifikant, aber nicht biologisch relevant beeinflusst. Signifikant und biologisch relevant gesenkte Gene sind in grün und gesteigerte Gene in Rot dargestellt.  $n = 3$  (Anzahl unabhängiger Experimente). (Dörschmann, Akkurt et al. Experimental Eye Research, 2023; 231:109469).



**Abbildung 8: Vulkandiagramm für das Inflammationsarray gegen LPS.** Das Vulkandiagramm, erstellt durch Thermo Fisher Connect, zeigt das logarithmisch relevante Genexpressionsniveau und die p-Werte aller Gene, die mit  $10 \mu\text{g}/\text{mL}$  LPS und  $50 \mu\text{g}/\text{mL}$  *Fucus vesiculosus* Fucoidan stimuliert wurden. Die Daten sind gegen LPS allein als Kontrolle (gesetzt auf 1,0) gerechnet und dargestellt worden. Gene, die nicht signifikant beeinflusst wurden, sind unterhalb des Grenzwertes in grau gekennzeichnet. Oberhalb der Grenze, in schwarz dargestellt, sind Gene, die signifikant, jedoch nicht biologisch relevant beeinflusst wurden. Signifikant und biologisch relevant gesenkte Gene sind in grün dargestellt.  $n = 3$  (Anzahl unabhängiger Experimente). (Dörschmann, Akkurt et al. Experimental Eye Research, 2023; 231:109469).

### 3.3.2 Oxidativer Stressarray und dessen Beeinflussung durch FV-Fucoidan

Als Grundlage für die Genarray-Versuche dienten die Ergebnisse aus den Vorversuchen. Entsprechend wurden über einen Tag inkubierte Proben verwendet, die unbehandelt waren oder mit  $10 \mu\text{g}/\text{ml}$  LPS,  $100 \mu\text{M}$   $\text{H}_2\text{O}_2$ , LPS plus FV,  $\text{H}_2\text{O}_2$  plus FV oder ausschließlich mit FV

stimuliert wurden. Eine Auflistung aller Ergebnisse des Entzündungsarrays findet sich in Anhang Tabelle A5 und ist graphisch in den Abbildungen 10-13 dargestellt. Genexpressionsveränderungen mit einem p-Wert  $\leq 0,05$  wurden als signifikant betrachtet und solche mit einem RQ  $< 0,5$  oder  $> 2,0$  als relevant. Als endogene Kontrollen dienten *ACTB*, *GUSB* und *PGK1*.

Es stellte sich heraus, dass die Stimulation mit 100  $\mu\text{M}$   $\text{H}_2\text{O}_2$  die Genexpression von *CAT* (RQ = 42,553, p = 0,000), *SOD1* (RQ = 5,054; p = 0,043) und der *flavinenthaltenden Dimethylaniline Monoxygenase 1 (FMO1)* (RQ = 5,543; p = 0,048) steigerte. Sie senkte zudem die Expression von *Prostaglandinsynthase-2 (PTGS2)* (RQ = 0,258; p = 0,006) und dem *mouse double minute 2 homolog (MDM2)* (RQ = 0,435; p = 0,042). Die Kombination von  $\text{H}_2\text{O}_2$  und FV zeigte, abgesehen von einer signifikanten, aber biologisch nicht relevanten Senkung von *SERPINE1 mRNA Binding Protein 1 (SERBP1)* und *Glutaredoxin 2 (GLRX2)*, keine Beeinflussung der Genexpressionen.

Die Stimulation der RPE-Zellen mit LPS führte zu einer signifikanten Steigerung der Expression von 13 Genen, von denen 10 auch als relevant eingestuft wurden, und zu einer signifikanten Senkung von zwei Genen, wobei keines davon als relevant betrachtet wurde (siehe Tabelle 20-21). Die stärkste steigernde Wirkung durch LPS zeigte sich bei *C-X-C motif chemokine 10 (CXCL10)* (RQ = 4702; p = 0,003), gefolgt von *Chemokine (C-C motif) ligand 5 (CCL5)* (RQ = 13,07; p = 0,047). Die kombinierte Stimulation von LPS und FV führte zu einer Reduktion der Expression von *CXCL10*, *CCL5*, *PTGS1* und *SOD1*, während gleichzeitig keine Expressionssteigerung eines Gens festgestellt wurde. Gene, deren Expression durch LPS zunächst erhöht und später in Kombination mit FV gesenkt wurde, sind in den Abbildungen 9a-b dargestellt. Die alleinige Stimulation mit FV-Fucoidan erhöhte die Expression von *Polynukleotidkinase 3-Phosphatase (PNKP)*, senkte aber die von *CXCL10*, *CCL5*, *Annexin A5 (ANXA5)*, *Growth/differentiation factor 15 (GDF15)*, *Dual Oxidase 1 (DUOX1)* und *Caspase 10 (CASP10)*.

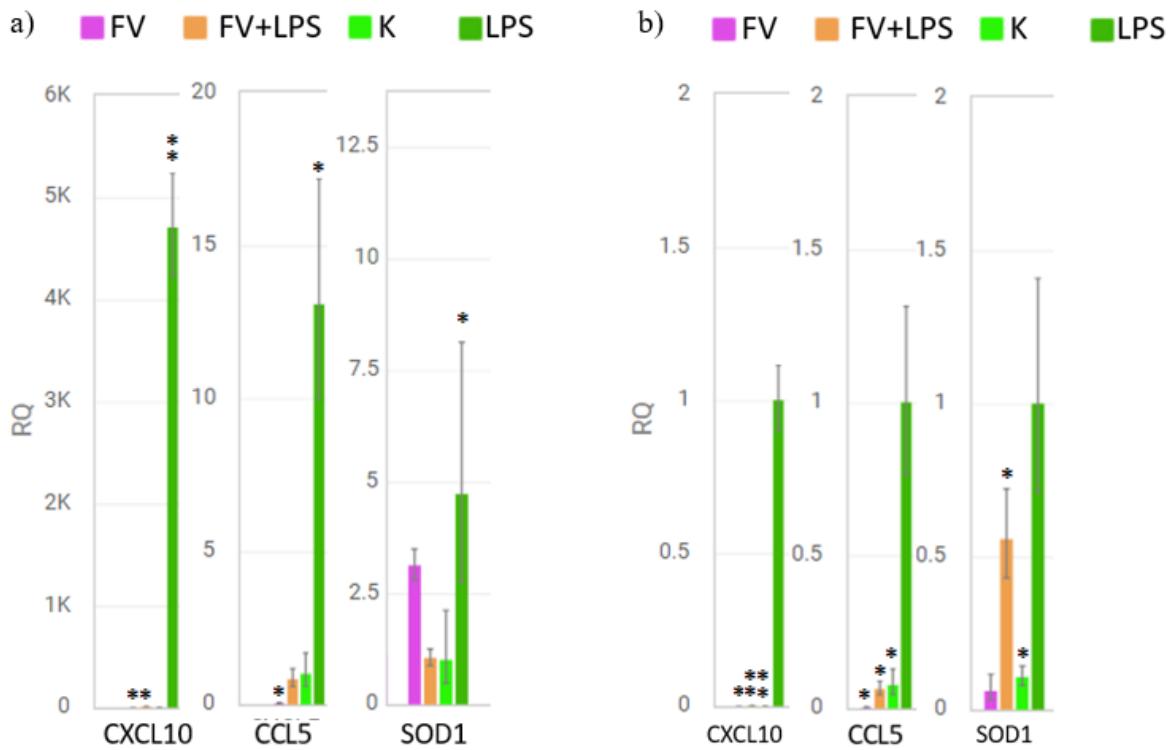
**Tabelle 20: Oxidativer Stressarray: Durch 10  $\mu\text{g}/\text{mL}$  LPS hochregulierte Gene.** Die Tabelle zeigt die Ergebnisse der Genexpressionsassays. Die Daten wurden mittels Thermo Fisher Connect gemäß der  $\Delta\Delta\text{CT}$  Methode evaluiert und in Relation zur unbehandelten Kontroll-Stimulation gesetzt. Die Tabelle beinhaltet die Abkürzungen der untersuchten Gene,

die relativen Genexpressionslevel (RQ) und die zur Signifikanzprüfung verwendeten p-Werte. Signifikante und relevante Werte wurden fett markiert. LPS10 = 10 µg/mL LPS.

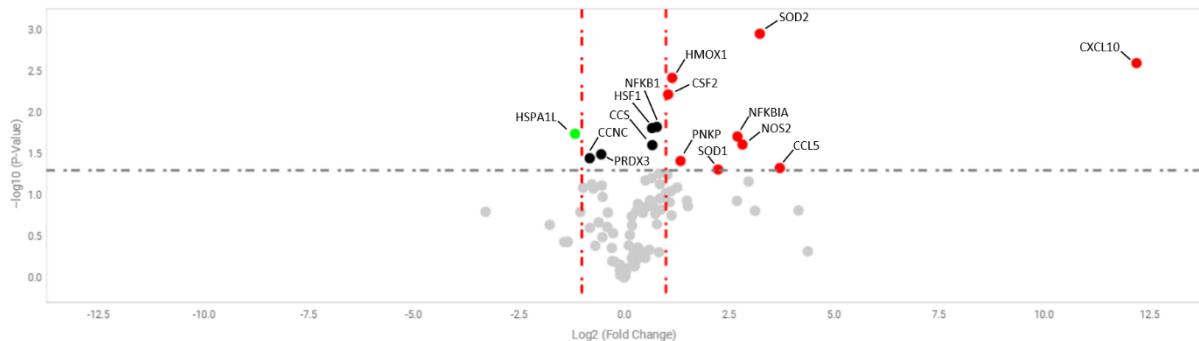
Stimulation		RQ	p-Wert
LPS10	<i>HSF1</i>	1,589	<b>0,015</b>
LPS10	<i>CCS</i>	1,596	<b>0,025</b>
LPS10	<i>NFKB1</i>	1,718	<b>0,015</b>
LPS10	<i>CSF2</i>	<b>2,074</b>	<b>0,006</b>
LPS10	<i>HMOX1</i>	<b>2,215</b>	<b>0,004</b>
LPS10	<i>PNKP</i>	<b>2,544</b>	<b>0,039</b>
LPS10	<i>SOD1</i>	<b>4,724</b>	<b>0,049</b>
LPS10	<i>NFKBIA</i>	<b>6,503</b>	<b>0,019</b>
LPS10	<i>NOS2</i>	<b>7,066</b>	<b>0,024</b>
LPS10	<i>SOD2</i>	<b>9,408</b>	<b>0,001</b>
LPS10	<i>CCL5</i>	<b>13,07</b>	<b>0,047</b>
LPS10	<i>CXCL10</i>	<b>4702</b>	<b>0,003</b>

**Tabelle 21: Oxidativer Stressarray: Durch 10 µg/mL LPS herunterregulierte Gene.** Die Tabelle zeigt die Ergebnisse der Genexpressionsassays. Die Daten wurden mittels Thermo Fisher Connect gemäß der  $\Delta\Delta CT$  Methode evaluiert und in Relation zur unbehandelten Kontroll-Stimulation gesetzt. Die Tabelle beinhaltet die Abkürzungen der untersuchten Gene, die relativen Genexpressionslevel (RQ) und die zur Signifikanzprüfung verwendeten p-Werte. Signifikante und relevante Werte wurden fett markiert. LPS10 = 10 µg/mL LPS.

Stimulation		RQ	p-Wert
LPS10	<i>HSPA1L</i>	<b>0,446</b>	<b>0,018</b>
LPS10	<i>CCNC</i>	0,568	<b>0,036</b>
LPS10	<i>PRDX3</i>	0,687	<b>0,032</b>

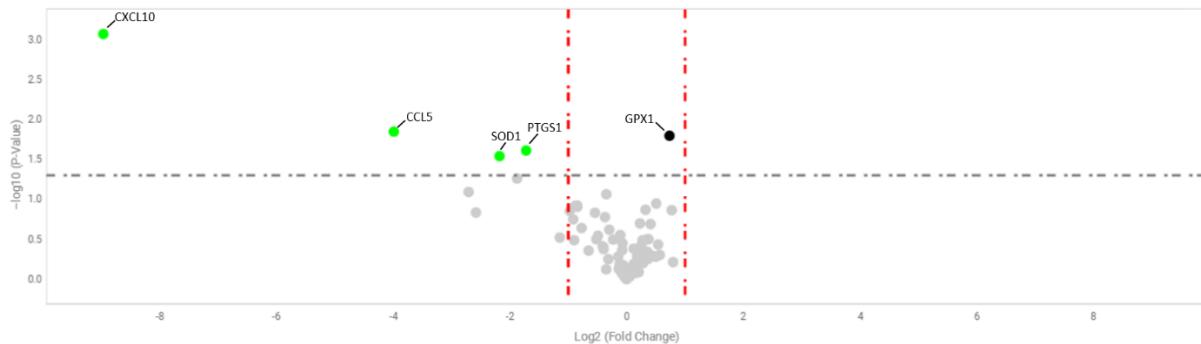


**Abbildung 9: Oxidativer Stressarray mit Genen beeinflusst durch (a) LPS und durch (b) LPS+FV.** In Abb. 9a wird die durch 10 µg/mL LPS gesteigerte Genexpression von *CXCL10*, *CCL5* und *SOD1* und in Abb. 9b., die durch FV gesenkte Genexpressionen der genannten Gene, die zuvor durch LPS gesteigert wurden, gezeigt. Die Balken sind farblich kodiert und dargestellt als Mittelwert und Standardabweichung mit einer auf 100% festgelegten Kontrolle (K). Die Daten wurden mittels Thermo Fisher Connect gemäß der  $\Delta\Delta CT$  Methode evaluiert. Die Anzahl der unabhängigen Experimente betrug n=3. Signifikanzen sind mit \* gekennzeichnet.

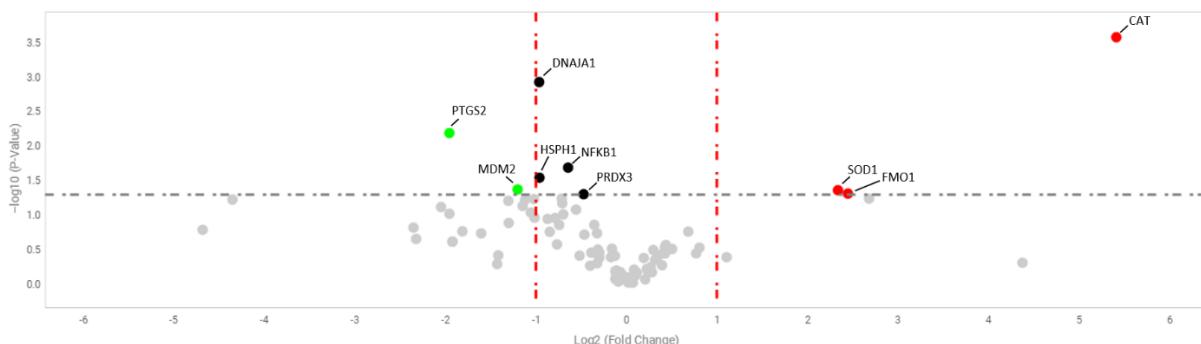


**Abbildung 10: Vulkandiagramm für das oxidative Stressarray, stimuliert mit LPS, gegen die unbehandelte Kontrolle.** Das Vulkandiagramm, erstellt durch Thermo Fisher Connect, zeigt das logarithmisch relevante Genexpressionsniveau und die p-Werte aller Gene, die mit 10 µg/mL LPS stimuliert wurden. Die Daten sind gegen die unbehandelte Kontrolle (gesetzt auf 1,0) gerechnet und dargestellt worden. Der Grenzwert für Signifikanz (p-Wert) wurde auf 0,05 und für biologische Relevanz auf RQ < 0,5 oder > 2,0 gesetzt. Gene, die nicht signifikant beeinflusst wurden, sind unterhalb des Grenzwertes in grau gekennzeichnet. Oberhalb der Grenze, in schwarz dargestellt, sind Gene, die signifikant, jedoch nicht biologisch relevant beeinflusst wurden. Signifikant und

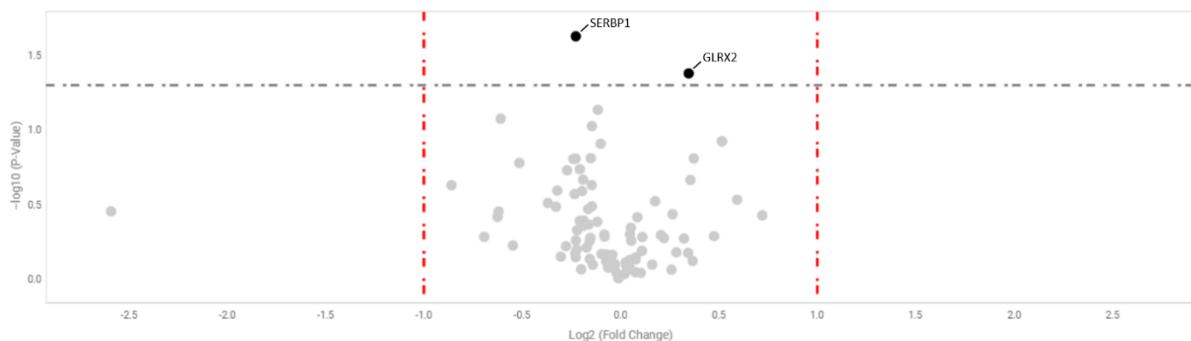
biologisch relevant gesenkte Gene sind in grün und gesteigerte Gene in Rot dargestellt. n = 3 (Anzahl unabhängiger Experimente). (Dörschmann, Akkurt et al. Experimental Eye Research, 2023; 231:109469).



**Abbildung 11: Vulkandiagramm für das oxidative Stressarray, stimuliert mit LPS und FV-Fucoidan, gegen LPS alleine.** Das Vulkandiagramm, erstellt durch Thermo Fisher Connect, zeigt das logarithmisch relevante Genexpressionsniveau und die p-Werte aller Gene, die mit 10 µg/mL LPS und 50 µg/mL *Fucus vesiculosus* Fucoidan stimuliert wurden. Die Daten sind gegen LPS alleine als Kontrolle (gesetzt auf 1,0) gerechnet und dargestellt worden. Der Grenzwert für Signifikanz (p-Wert) wurde auf 0,05 und für biologische Relevanz auf RQ < 0,5 oder > 2,0 gesetzt. Gene, die nicht signifikant beeinflusst wurden, sind unterhalb des Grenzwertes in grau gekennzeichnet. Oberhalb der Grenze, in schwarz dargestellt, sind Gene, die signifikant, jedoch nicht biologisch relevant beeinflusst wurden. Signifikant und biologisch relevant gesenkte Gene sind in grün dargestellt. n = 3 (Anzahl unabhängiger Experimente). (Dörschmann, Akkurt et al. Experimental Eye Research, 2023; 231:109469).



**Abbildung 12: Vulkandiagramm für das oxidative Stressarray, stimuliert mit 100 µM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, gegen die unbehandelte Kontrolle.** Das Vulkandiagramm, erstellt durch Thermo Fisher Connect, zeigt das logarithmisch relevante Genexpressionsniveau und die p-Werte aller Gene, die mit 100 µM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> stimuliert wurden. Die Daten sind gegen die unbehandelte Kontrolle (gesetzt auf 1,0) gerechnet und dargestellt worden. Der Grenzwert für Signifikanz (p-Wert) wurde auf 0,05 und für biologische Relevanz auf RQ < 0,5 oder > 2,0 gesetzt. Gene, die nicht signifikant beeinflusst wurden, sind unterhalb des Grenzwertes in grau gekennzeichnet. Oberhalb der Grenze, in schwarz dargestellt, sind Gene, die signifikant, jedoch nicht biologisch relevant beeinflusst wurden. Signifikant und biologisch relevant gesenkte Gene sind in grün und gesteigerte Gene in Rot dargestellt. n = 3 (Anzahl unabhängiger Experimente). (Dörschmann, Akkurt et al. Experimental Eye Research, 2023; 231:109469).



**Abbildung 13: Vulkandiagramm für das oxidative Stressarray, stimuliert mit H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> und FV-Fucoidan, gegen H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> als Kontrolle.** Das Vulkandiagramm, erstellt durch Thermo Fisher Connect, zeigt das logarithmisch relevante Genexpressionsniveau und die p-Werte aller Gene, die mit 100 µM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> und 50 µg/mL *Fucus vesiculosus* Fucoidan von Sigma-Aldrich (FV) stimuliert wurden. Die Daten wurden gegen H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> als Vergleichskontrolle gerechnet. Der Grenzwert für Signifikanz (p-Wert) wurde auf 0,05 und für biologische Relevanz auf RQ < 0,5 oder > 2,0 gesetzt. Gene, die nicht signifikant beeinflusst wurden, sind unterhalb des Grenzwertes in grau gekennzeichnet. Oberhalb der Grenze, in schwarz dargestellt, sind Gene, die signifikant, jedoch nicht biologisch relevant beeinflusst wurden. n = 3 (Anzahl unabhängiger Experimente). (Dörschmann, Akkurt et al. Experimental Eye Research, 2023; 231:109469).

### 3.3.3 Angiogenesearray und dessen Beeinflussung durch FV-Fucoidan

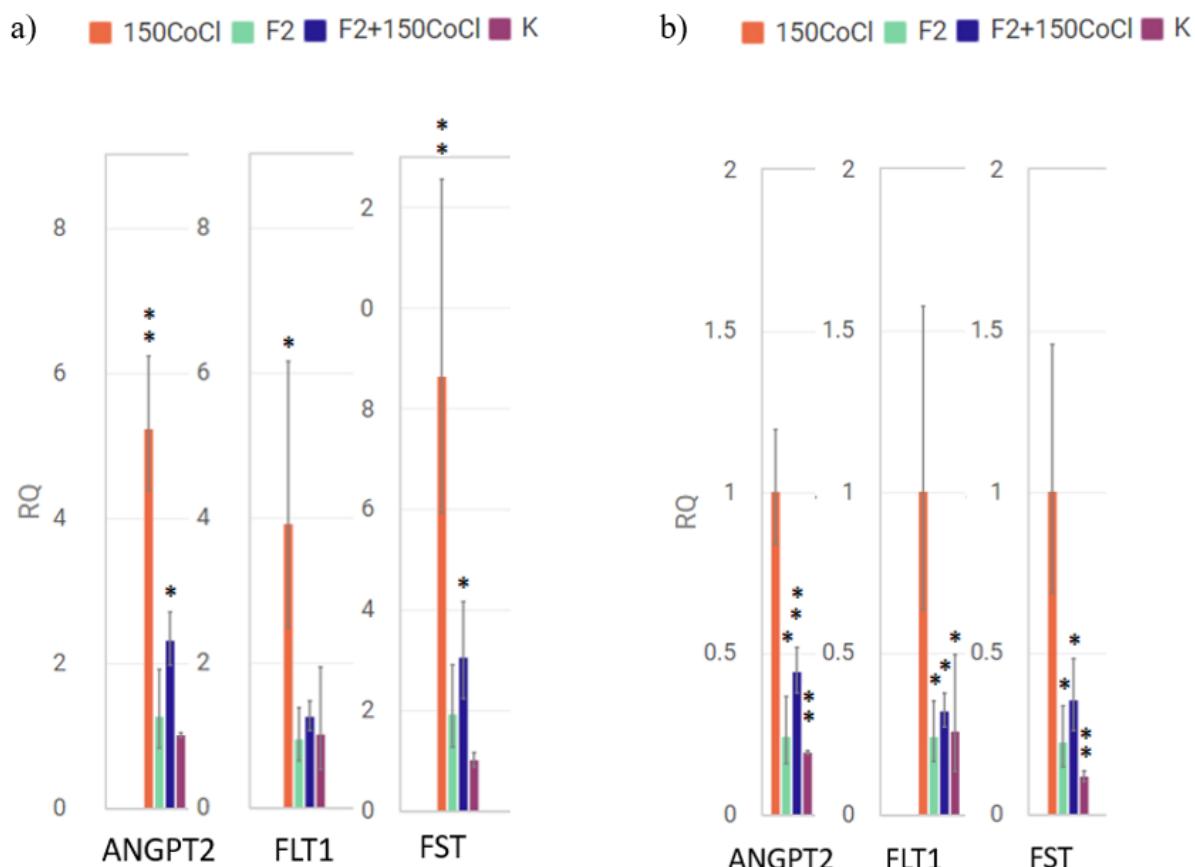
Als Grundlage für die Genearray-Versuche dienten die Ergebnisse aus den Vorversuchen. Es wurden über drei Tage inkubierte Proben verwendet, die unbehandelt waren, mit 150 µM CoCl<sub>2</sub>, 150 µM CoCl<sub>2</sub> plus FV oder nur mit FV stimuliert wurden. Eine Übersicht aller Ergebnisse des Entzündungsarrays ist in der Anhang Tabelle A6 aufgelistet und in den Abbildungen 15-16 graphisch dargestellt. Genexpressionsveränderungen mit einem p-Wert ≤ 0,05 wurden als signifikant betrachtet und solche mit einem RQ < 0,5 oder > 2,0 als relevant. Als endogene Kontrollen dienten *GAPDH*, *GUSB* und *HPRT1*.

Es wurde festgestellt, dass 150 µM CoCl<sub>2</sub> die Genexpression von sechs Genen erhöhte, allerdings keine Genexpression senkte. Die stärkste steigernde Wirkung durch CoCl<sub>2</sub> zeigte sich bei *Follistatin* (*FST*) (RQ = 8,638; p = 0,004), gefolgt von *Tyrosinase* (*TYR*) (RQ = 6,071; p = 0,028). Bei einer kombinierten Stimulation mit CoCl<sub>2</sub> und FV wurde eine Senkung der Genexpression von *ANGPT2*, *Fms Related Receptor Tyrosine Kinase 1* (*FLT1*) und *FST* beobachtet, während keine Steigerung der Genexpression festgestellt wurde. Gene, deren Expression durch CoCl<sub>2</sub> zunächst gesteigert und dann in Kombination mit FV reduziert wurde, sind in den Abbildungen 14a-b dargestellt. Eine alleinige Stimulation mit FV-Fucoidan führte zu einer Senkung der Expression von *Fatty Acid Desaturase 1* (*FADS1*) (RQ = 0,370; p = 0,050).

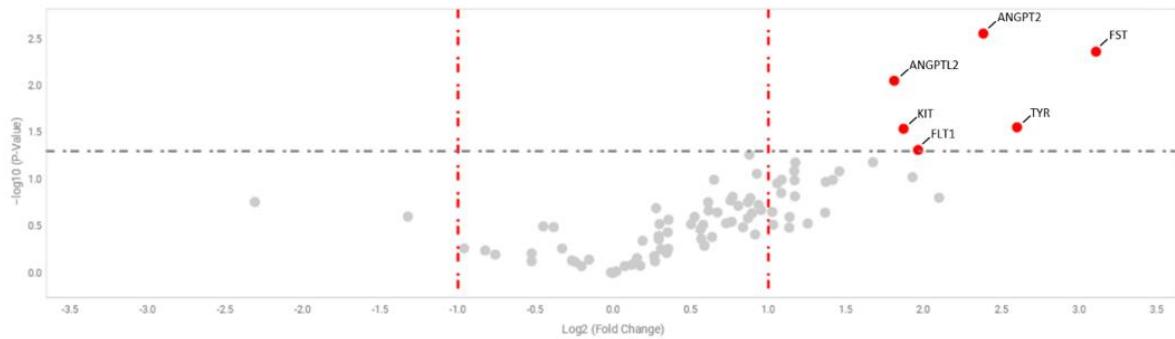
**Tabelle 22: Angiogenesearray: Durch 150 µM CoCl<sub>2</sub> hochregulierte Gene.** Die Tabelle zeigt die Ergebnisse der Genexpressionsassays. Die Daten wurden mittels Thermo Fisher Connect gemäß der ΔΔCT Methode evaluiert und in Relation zur unbehandelten Kontroll-

Stimulation gesetzt. Die Tabelle beinhaltet die Abkürzungen der untersuchten Gene, die relativen Genexpressionslevel (RQ) und die zur Signifikanzprüfung verwendeten p-Werte. Signifikante und relevante Werte wurden fett markiert.  $150 \mu\text{M CoCl}_2 = 150\text{CoCl}_2$ .

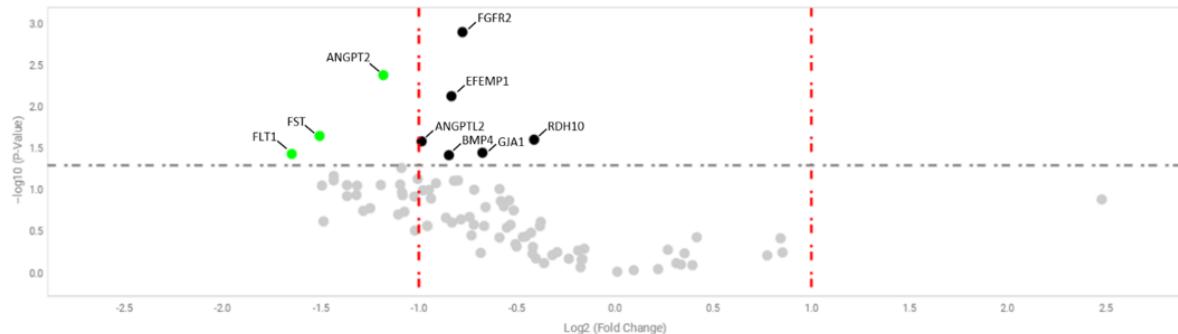
Stimulation		RQ	p-Wert
150 CoCl <sub>2</sub>	<i>ANGPTL2</i>	<b>3,508</b>	<b>0,009</b>
150 CoCl <sub>2</sub>	<i>KIT</i>	<b>3,657</b>	<b>0,029</b>
150 CoCl <sub>2</sub>	<i>FLT1</i>	<b>3,903</b>	<b>0,049</b>
150 CoCl <sub>2</sub>	<i>ANGPT2</i>	<b>5,222</b>	<b>0,003</b>
150 CoCl <sub>2</sub>	<i>TYR</i>	<b>6,071</b>	<b>0,028</b>
150 CoCl <sub>2</sub>	<i>FST</i>	<b>8,638</b>	<b>0,004</b>



**Abbildung 14: Angiogenesarray mit Genen beeinflusst durch (a) CoCl<sub>2</sub> und durch (b) CoCl<sub>2</sub> + FV.** Gezeigt wird in Abb. 14a die durch  $150 \mu\text{M CoCl}_2$  gesteigerte Genexpression von *ANGPT2*, *FLT1*, *FST* und in Abb. 14b, die durch FV gesenkte Genexpression der genannten Gene, die zuvor durch alleinige Stimulation mit  $150 \mu\text{M CoCl}_2$  gesteigert wurden. Die Balken sind farblich kodiert und dargestellt als Mittelwert und Standardabweichung mit einer auf 100% festgelegten Kontrolle (K). Die Daten wurden mittels Thermo Fisher Connect gemäß der  $\Delta\Delta\text{CT}$  Methode evaluiert. Die Anzahl der unabhängigen Experimente betrug n=3. Signifikanzen sind mit \* gekennzeichnet.



**Abbildung 15: Vulkandiagramm für das Angiogenesearray, stimuliert mit  $\text{CoCl}_2$ , gegen die unbehandelte Kontrolle.** Das Vulkandiagramm, erstellt durch Thermo Fisher Connect, zeigt das logarithmisch relevante Genexpressionsniveau und die p-Werte aller Gene, die mit  $150 \mu\text{M} \text{CoCl}_2$  ( $150\text{CoCl}_2$ ) stimuliert wurden. Die Daten sind gegen die unbehandelte Kontrolle (gesetzt auf 1,0) gerechnet und dargestellt worden. Der Grenzwert für Signifikanz (p-Wert) wurde auf 0,05 und für biologische Relevanz auf  $\text{RQ} < 0,5$  oder  $> 2,0$  gesetzt. Gene, die nicht signifikant beeinflusst wurden, sind unterhalb des Grenzwertes in grau gekennzeichnet. Signifikant und biologisch relevant gesteigerte Gene in Rot dargestellt. n = 3 (Anzahl unabhängiger Experimente). (Dörschmann, Akkurt et al. Experimental Eye Research, 2023; 231:109469).



**Abbildung 16: Vulkandiagramm für das Angiogenesearray, stimuliert mit  $\text{CoCl}_2$  und FV-Fucoidan, gegen  $\text{CoCl}_2$  als Kontrolle.** Das Vulkandiagramm, erstellt durch Thermo Fisher Connect, zeigt das logarithmisch relevante Genexpressionsniveau und die p-Werte aller Gene, die mit  $150 \mu\text{M} \text{CoCl}_2$  stimuliert wurden. Die Daten sind gegen  $150 \mu\text{M} \text{CoCl}_2$  (gesetzt auf 1,0) gerechnet und dargestellt worden. Der Grenzwert für Signifikanz (p-Wert) wurde auf 0,05 und für biologische Relevanz auf  $\text{RQ} < 0,5$  oder  $> 2,0$  gesetzt. Gene, die nicht signifikant beeinflusst wurden, sind unterhalb des Grenzwertes in grau gekennzeichnet. Oberhalb der Grenze, in schwarz dargestellt, sind Gene, die signifikant, jedoch nicht biologisch relevant beeinflusst wurden. Signifikant und biologisch relevant gesenkte Gene sind in grün dargestellt. n = 3 (Anzahl unabhängiger Experimente). (Dörschmann, Akkurt et al. Experimental Eye Research, 2023; 231:109469).

## 4 Diskussion

Die Forschung zur altersbedingten Makuladegeneration (AMD) gewinnt immer mehr an Bedeutung aufgrund ihrer starken Prävalenz als Hauptursache für irreversiblen zentralen Sehverlust in den Industrieländern. Hinzu kommt, dass der demografische Wandel zu einem steigenden Anstieg der Inzidenz dieser Erkrankung führt. Dies erhöht den Druck auf das Gesundheitssystem beträchtlich (Vyawahare 2022; Deng et al. 2021; Li et al. 2020). Daher ist es von essenzieller Bedeutung, die Forschung in diesem Bereich zu intensivieren, um wirksame Behandlungs- und Präventionsstrategien zu erarbeiten und so die Belastung für die Betroffenen und das Gesundheitssystem zu mindern.

In dieser Studie wurde, basierend auf einem porcinen Modellsystem (Wiencke et al. 2003; Klettner und Roider 2008), das erste Expressionsprofil unter Stressparametern für primäres porcines RPE erstellt. Es existieren diverse Modellsysteme, bei denen unterschiedliche Arten wie Hühner (Docherty et al. 1984), Mäuse, Rinder oder Affen für die Kultur von RPE-Zellen herangezogen werden (Bharti et al. 2022). Jedes Modellsystem hat spezifische Vor- und Nachteile, weshalb die Wahl des passenden Systems essentiell ist (Klettner 2020). Zum Beispiel ist die Gewinnung des RPE von Mäusen aufgrund ihrer Größe eine Herausforderung, vor allem wenn es um die Trennung von der Aderhaut geht (Marmorstein, A.D. & Marmorstein L.Y. 2007). Dies beeinflusst auch die Reinheit der murinen RPE-Zellen (Chowers et al. 2003). Zudem ergibt sich wegen der geringen Größe nur wenig Gewebe pro Maus (Huber et al. 2010). Auch verfügt die Maus über keine Area centralis, besitzt andere Photorezeptoren und ist nachtaktiv (Peirson et al. 2018). Im Gegensatz dazu eignen sich Schweineaugen optimal für solche Untersuchungen, da sie in ihrer Struktur den menschlichen Augen sehr ähnlich sind (Schnichels et al. 2019; Peynschaert et al. 2017; Pitkänen et al. 2004). Obwohl Schweine keine Makula besitzen, weisen sie in der Retina einen Bereich auf, den sogenannten Sehstreifen (Area centralis), der eine hohe Zapfendichte hat (Guduric-Fuchs et al. 2009). Ein bedeutender Vorteil dieses Modellsystems ist auch die ethische Komponente: Es werden Augen von Tieren genutzt, die bereits für die Fleischproduktion geschlachtet wurden. Dies steht im Gegensatz zu Modellen, bei denen Tiere nur für Forschungszwecke getötet werden. Durch die Verwendung von Schweineaugen werden zudem Kosten gespart, die sonst für die Tierhaltung anfallen würden. Aufgrund ihrer Größe sind Schweineaugen auch besonders effizient in der Nutzung des Versuchsmaterials (Bernau et al. 2015).

## 4.1 Genaktivierung unter Stressparametern

Der Einsatz eines Panels, welches die simultane Untersuchung zahlreicher Gene ermöglicht, erlaubt die Analyse koordinierter Genexpressionen. Hierdurch ist es machbar, nicht nur die Aktivität einzelner Gene zu erfassen, sondern auch ihre wechselseitigen Beeinflussungen. Diese Methode gewährt tiefere Einblicke in komplexe Vorgänge, etwa die Pathogenese von Krankheiten, bei denen häufig mehrere Gene interagieren. Durch die umfassende Analyse des Expressionsmusters einer Genkombination können potenzielle Signaltransduktionswege und zelluläre Netzwerke identifiziert werden, die für das Krankheitsgeschehen von Bedeutung sind.

### 4.1.1 Inflammationsarray

Das in den Experimenten eingesetzte LPS ist bekannt für seine proinflammatorischen Eigenschaften, da es zur Ausschüttung von Interleukinen und Chemokinen anregt (Sweet & Hume, 1996). Dieser Mechanismus ist durch die Anregung des TLR-Signalpfads bedingt. Bei Aktivierung dieses Signalpfads kommt es zur Induktion der Genexpression, was durch die Aktivierung der Signalwege NF- $\kappa$ B und AP-1 ausgelöst wird (Akira, 2003). LPS induziert eine Entzündungsreaktion, indem es den *Toll-like Rezeptor 4 (TLR4)* aktiviert, was wiederum die Produktion von Zytokinen anregt (Lu et al., 2008). Daher dient LPS häufig als Modellsubstanz zur Untersuchung von Entzündungsprozessen (Wright, 1999; Poltorak et al., 1998; Qureshi et al., 1999). Poly(I:C) wurde im Inflammationsarray verwendet, weil es als Agonist des *TLR3* entzündungsfördernde Effekte aufweist, unter anderem eine Erhöhung von Neutrophilen und die Expression von Genen wie *IL-6*, *IL-8*, *CXCL10*, *CCL5*, *TNF- $\alpha$*  und *TNF- $\beta$*  (Stowell et al., 2009; Farina, 2010; Ohta et al., 2014). In vorläufigen Tests wurde festgestellt, dass die Stimulation mit LPS (1 oder 10  $\mu$ g/ml) und Poly(I:C) (10 oder 100  $\mu$ g/ml) über einen Zeitraum von einem, drei oder sieben Tagen im Vergleich zur unstimulierten Kontrolle eine akzeptable Zelllebensfähigkeit ( $\geq 85\%$ ) aufwies. Interessanterweise zeigten nach einer siebentägigen Stimulation durchgeführte Genexpressionsanalysen keine signifikanten Abweichungen. Zudem war die Genaktivierung im Vergleich zu den Messungen nach ein oder drei Tagen deutlich reduziert. Dies könnte auf die mögliche schädigende Wirkung eines langanhaltenden proinflammatorischen Reizes auf RPE-Zellen hinweisen (Klettner et al. 2020), weshalb der Schwerpunkt auf kürzere Stimulationen von einem oder drei Tagen gelegt wurde.

Bei den untersuchten Genmarkern handelte es sich um *NKAP*, *IL-6* und *IL-8*. Während *NKAP* in Entzündungsprozessen eine Rolle spielt (Strickland und Ghosh 2006), konnte in dieser Studie keine signifikante Induktion im Vergleich zu den anderen Genen festgestellt werden. Bei der Stimulation mit Poly(I:C) war *IL-8* das am stärksten induzierte Gen mit einem Rq-Wert von 46,763 ( $p < 0,000$ ). Dennoch wies die Stimulation mit LPS (10 µg/ml) den höchsten Anstieg bei *IL-8* auf (Rq = 194,156,  $p < 0,000$ ), weshalb diese Bedingungen in weiteren Experimenten verwendet wurden. Ein vergleichbares Muster der *IL-8*-Induktion durch LPS wurde auch in einer anderen Untersuchung beobachtet (Dietrich et al. 2020).

In den folgenden Analysen wurde wiederholt festgestellt, dass die Stimulation mit 10 µg/ml LPS die Expression von *IL-6* und *IL-8* erhöhte. Diese Befunde stehen im Einklang mit früheren Arbeiten, die eine Induktion dieser Zytokine durch LPS belegten (Leung et al. 2009; Dietrich et al. 2020; Klettner et al. 2020). *IL-6* ist ein Mediator, der in Entzündungsreaktionen und Immunantworten eine zentrale Rolle spielt (Kishimoto 1985), während *IL-8* verschiedene Zelltypen an Entzündungsorte anlockt und ebenfalls proinflammatorische Wirkungen hat (Matsushima et al. 2022).

Andere untersuchte Gene wie *IL13*, *IL1RL1*, *IL2RA*, *IL2RG* und *IL-6R* zeigten keine signifikanten Veränderungen in ihrer Expression nach LPS-Stimulation. Dies deutet darauf hin, dass sie im Vergleich zu *IL-6* und *IL-8* möglicherweise eine weniger prominente Rolle in der LPS-induzierten Entzündungsantwort bei RPE-Zellen spielen.

*Toll-like-Rezeptor 4 (TLR4)* erkennt diverse Liganden wie LPS und spielt eine zentrale Rolle bei der Auslösung entzündlicher Reaktionen. In dieser Studie zeigte die Hochregulierung von *TLR4* durch LPS nur moderate Werte (Rq = 2,226), was auf eine mäßige, aber dennoch wichtige Funktion von *TLR4* in Entzündungsreaktionen hinweist. In anderen Studien wurde gezeigt, dass LPS mit *TLR4* interagiert und zu Signalwegen führt, die Entzündungsreaktionen fördern (Lu et al. 2008; Ciesielska et al. 2021).

*C2*, *C3*, *C5* und *CFB* sind Bestandteile des Komplementsystems, das eine entscheidende Rolle bei der Regulation sowohl der adaptiven als auch der angeborenen Immunantwort spielt (Ricklin et al., 2018). Allerdings wurde gezeigt, dass das Komplementsystem auch ein wichtiger Verstärker von Krankheitsursachen sein kann, insbesondere bei entzündlichen und Autoimmunerkrankungen (Merle et al. 2015). Es gibt drei unterschiedliche Aktivierungspfade des Komplementsystems: den klassischen Weg, den Lektinweg und den alternativen Weg, wobei jeder Pfad seine eigene Methode zur Aktivierung des Systems hat.

Das wichtigste Protein im Komplementsystem ist C3, das durch die Aktivierung der drei Pfade produziert wird. C3 ist der Punkt, an dem alle Pfade zusammenlaufen. Unabhängig vom aktivierten Pfad wird C3 in C3a und C3b geschnitten, was die Verstärkung des Signals auslöst. Die Produktion dieser Teilmoleküle führt zu einer entzündungsvermittelten Reaktion durch C3a und zur Beschichtung von Pathogenen durch C3b, um sie für die Phagozytose bereit zu machen (Boyer et al., 2017; Harboe & Mollnes, 2008). Die Kaskade von Ereignissen, die zur Spaltung des Komplementproteins C5 führt, führt zur Produktion von C5a und C5b. C5b interagiert mit C6, C7, C8 und C9, um den Membranangriffskomplex (MAC) zu bilden, der die Oberfläche von Krankheitserregern durchdringen und somit eine Zellyse auslösen kann (Boyer et al., 2017). Die zweite Komponente des menschlichen Komplementsystems (C2) ist an der Aktivierung des klassischen und Lektin-Wegs beteiligt, indem es den C3/C5-Konvertasen eine katalytische Untereinheit bereitstellt. Es wurde gezeigt, dass einige Studien eine Beteiligung des Komplementsystems an der Pathogenese der AMD aufzeigen, einschließlich der Komplementkomponenten 2 (C2), des Komplementfaktors B (CFB) (Gold et al., 2006; McKay et al., 2009) und der Komplementkomponente 3 (C3) (Yates et al., 2007; Maller et al., 2007; Park et al., 2009). C2/CFB und C3 wurden unabhängig voneinander mit dem Fortschreiten von früher/mittlerer zu fortgeschritten AMD verbunden (Francis et al. 2009). Es wurde bereits in anderen Studien gezeigt, dass die Expression von CFB, C2, C3 und C5 in RPE-Zellen durch LPS signifikant hochreguliert werden kann (Luo et al. 2013, Luo et al. 2012; Gao et al. 2021). In dieser Studie konnte LPS die Expression von *CFB* ( $Rq = 2,583$ ) und *C2* ( $Rq = 2,686$ ) steigern, während die Expression von *C3* ( $Rq = 27,491$ ) stark erhöht wurde und die Expression von *C5* ( $Rq = 0,444$ ) verringert wurde. CFB und C2 sind an der Bildung der C3- und C5-Konvertasen beteiligt, die C5 in C5a und C5b spalten. Zudem spielen sie eine wichtige Rolle in der Pathogenese der AMD (Bradkey et al. 2011). C6, C7, C8A und C8B, die auch getestet wurden, zeigten keine erhöhte Expression, was darauf hinweisen könnte, dass sie im Vergleich zu CFB und C2 eine untergeordnete Rolle im Entzündungsgeschehen spielen.

*C3* zeigt die höchste Steigerung der Expression. Es ist die wichtigste Komplementkomponente und spielt eine zentrale Rolle in der Komplementkaskade. Untersuchungen haben gezeigt, dass C3 das am häufigsten vorkommende Komplementprotein im Blut ist und dass das Targeting von C3 und anderen Komplementkomponenten ein vielversprechender Ansatz für die Entwicklung von Therapeutika für verschiedene Krankheiten sein kann (Sullivan & Grumach 2014; Ricklin & Lambris 2007). In der Tat hat ein C3-Inhibitor (Pegcetacoplan) von Appelis

Pharma bereits die FDA-Zulassung für die Behandlung von geographischer AMD erhalten, basierend auf den Ergebnissen der Phase-3-Studien OAKS und DERBY (Goldberg et al. 2022).

Das Komplementsystem ist hochkomplex, und es gibt viele Faktoren, die seine Regulation und Aktivierung beeinflussen können. Daher ist die Beziehung zwischen diesen Faktoren und der C5-Expression wahrscheinlich komplex und multifaktoriell (Ricklin et al. 2016; Murphy & Weaver 2017).

Prostaglandin-Endoperoxid-Synthase 1 (PTGS1) und PTGS2, auch bekannt als Cyclooxygenase 1 (COX1) und COX2, katalysieren die oxidative Umwandlung von Arachidonsäure zu Prostaglandin (PG) H<sub>2</sub>. Dieses Molekül wird anschließend zu verschiedenen biologisch aktiven Metaboliten metabolisiert. PTGS1 und PTGS2 sind hauptsächlich für die PG-Synthese in Zellen verantwortlich, die sowohl an lokalen als auch an systemischen Entzündungsreaktionen beteiligt sind (Smith et al. 1996). Es konnte jedoch in anderen Studien auch gezeigt werden, dass hauptsächlich PTGS2 und nicht PTGS1 durch LPS induziert wird (Winall et al. 2007; Lee et al. 1992). In dieser Studie konnte eine LPS-induzierte Erhöhung der Expression von PTGS1 auf Rq = 2,589 und von PTGS2 auf Rq = 3,675 beobachtet werden. Dies spricht dafür, dass PTGS2 eine wesentlich wichtigere Rolle im Entzündungsgeschehen spielt als PTGS1. Studien zur Untersuchung der PTGS-Expression bei altersbedingter Makuladegeneration (AMD) haben jedoch widersprüchliche Ergebnisse erbracht. Einige Studien deuten auf eine erhöhte PTGS-Expression bei AMD-Patienten hin, während andere keinen signifikanten Unterschied im Vergleich zu gesunden Kontrollpersonen gefunden haben. Daher ist die Beziehung zwischen PTGS-Expression und AMD noch nicht vollständig verstanden und erfordert weitere Untersuchungen (Jha et al. 2016).

IL1R2 kodiert für das Protein Interleukin-1-Rezeptor Typ 2, das als Rezeptor für das entzündungsfördernde Zytokin IL-1 dient und dessen Signalisierung regulieren kann. Auf diese Weise kann es die Immunantwort beeinflussen. IL1B kodiert für das entzündungsfördernde Zytokin IL-1β, dass die Aktivierung des Komplementsystems stimulieren kann (Grigoryev et al. 2008; Boraschi & Tagliabue 2013; Vasanthakumar & Kallies 2019; Dinarello 2019). Frühere Studien haben gezeigt, dass LPS die Expression von IL1R2 und IL1β induzieren kann (Skinner et al. 2009; Skipor et al. 2017; Skipor et al. 2021). Soweit bekannt, ist dies die erste Studie, in der IL1β und IL1R2 speziell in RPE Zellen induziert werden konnte. In dieser Studie wurde nämlich eine signifikante und relevante Hochregulierung von IL-1β beobachtet (Rq = 43,644). Die Rolle von IL-1β als Entzündungsmediator bei der Entwicklung von feuchter AMD kann mit einer Photorezeptordegeneration und Neovaskularisation in Verbindung gebracht werden,

was weitere Untersuchungen erfordert (Zhao et al. 2015). Die Synthese von reifem IL-1 $\beta$  ist in der Pathogenese beider Formen von AMD gut etabliert (Zhao et al. 2015; Oh et al. 1999). Zudem konnte gezeigt werden, dass IL-1 $\beta$  einer der Hauptmediatoren von LPS-induzierter Uveitis bei Kaninchen ist (Mo et al. 1998). *IL1R2* wurde deutlich weniger als *IL-1 $\beta$*  induziert ( $R_q = 3,286$ ). Die erhöhte Expression von IL1R2 bei AMD könnte ein kompensatorischer Mechanismus sein, um die entzündungsfördernden Wirkungen von IL-1 auszugleichen und die Immunhomöostase im Auge aufrechtzuerhalten. Alternativ könnte die erhöhte Expression von *IL1R2* bei AMD auch ein Marker für eine Dysregulation des Immunsystems sein, da die Erkrankung mit einer chronischen Entzündung und Immunaktivierung einhergeht. Weitere Forschung ist erforderlich, um die Rolle von *IL1R2* in der Pathogenese der AMD vollständig zu verstehen.

CCL2 und CCL19 sind C-C-Motiv-Chemokinliganden (CCLs), die eine wichtige Rolle bei der Migration und Rekrutierung von Immunzellen zu Entzündungsherden spielen (Zlotnik & Yoshie et al. 2012). Chemokine sind Cytokine, die die Bewegung von Zellen entlang von Konzentrationsgradienten steuern und damit ihre Migration erleichtern (Stewart & Smyth 2009). In Studien am zentralen Nervensystem wurde bereits gezeigt, dass LPS eine Induktion von *CCL2* auslösen kann (Puntambekar et al. 2011). Auch in primären menschlichen RPE- und ARPE-19-Zellen wurde eine Erhöhung von *CCL2* beobachtet (Tawarayama et al. 2022). In dieser Studie konnte *CCL2* hochreguliert werden während *CCL19* nur geringfügig erhöht wurde. Obwohl auch *CCL11* im Inflammationsarray untersucht wurde, scheinen *CCL2* und *CCL19* die Hauptrollen bei der LPS-induzierten Entzündungsreaktion in primären porcinen RPE-Zellen zu spielen. Eine erhöhte Expression von *CCL2* wurde beispielsweise auch bereits bei AMD-Patienten beobachtet (Palestine et al. 2021). *CCL2* zieht hauptsächlich Monozyten und Makrophagen an (Baggiolini 1998), während *CCL19* ein homöostatisches Chemokin ist, das an der Rekrutierung von naiven T-Zellen und dendritischen Zellen im Lymphgewebe beteiligt ist (Marsland et al. 2005). *CCL11* wiederum ist ein potenter Chemotaxin für Eosinophile (Ponath et al. 1996). Die Identifizierung der beteiligten Zelltypen bei der Pathogenese von AMD und deren relative Bedeutung kann durch die Untersuchung von *CCL2* und *CCL19* unterstützt werden.

ICAM (*intercellular adhesion molecule*) und VCAM (*vascular cell adhesion molecule*) sind Moleküle, die an der Zelladhäsion beteiligt sind. Der Hauptunterschied besteht darin, dass *ICAM1* auf der Oberfläche von Zellen exprimiert wird, während *VCAM1* auf der Oberfläche von Blutgefäßen exprimiert wird. *ICAM1* wird hauptsächlich von Immunzellen wie Leukozyten

exprimiert und trägt zur Interaktion von Immunzellen mit Endothelzellen bei. *VCAM1* wird von Endothelzellen exprimiert und spielt eine wichtige Rolle bei der Rekrutierung von Immunzellen in entzündetes Gewebe (Anderson & Springer 1987; Diamond & Springer 1993; Springer 1994; Williams 1984). In dieser Studie wurde *ICAM-1* getestet und konnte um  $Rq = 3,961$  hochreguliert werden, während *VCAM-1* deutlich höher reguliert wurde ( $Rq = 13,864$ ). *ICAM-1* wurde bereits in früheren Studien an RPE-Zellen nachgewiesen, bei denen LPS eingesetzt wurde (Qiu et al. 2021; Jung et al. 2014; Zeng et al. 2012) und *VCAM-1* wurde bereits bei menschlichem lymphatischem Endothel durch LPS exprimiert (Sawa et al. 2008). Eine Assoziation zwischen *VCAM-1*, *ICAM-1* und der trockenen AMD wurde bereits diskutiert (Baiula et al. 2021). Ein möglicher Grund für die höhere Expression von *VCAM-1* im Vergleich zu *ICAM-1* könnte darin begründet liegen, dass *VCAM-1* stärker durch *IL-1β* beeinflusst wird als *ICAM-1*, da das Gen für *IL-1β* in dieser Studie ebenfalls stark induziert wurde (Tamaru et al. 1998). Es ist jedoch auch möglich, dass *VCAM-1* einfach eine wichtigere Rolle in der Pathogenese von AMD spielt. Weitere Studien sind erforderlich, um diese Frage zu klären.

PLA2G2D steht für Phospholipase A2, Gruppe IID, ein Enzym aus der Familie der Phospholipase A2, das eine Rolle bei der Produktion von Lipidmediatoren spielt, die an Entzündungs- und Immunreaktionen beteiligt sind (Six & Dennis 2000). In dieser Studie wurde eine hochregulierte Expression von *PLA2G2D* mit einem  $Rq$ -Wert von 4,057 beobachtet, was darauf hindeutet, dass das Gen möglicherweise an der Pathogenese von AMD beteiligt ist. Andere Phospholipasen wie *PLA2G1B*, *PLA2G7*, *PLCB2*, *PLCD1* und *PLCG2* wurden ebenfalls getestet, zeigten jedoch keine signifikante Expressionsänderung, was darauf hinweist, dass *PLA2G2D* die wichtigste Rolle bei der durch LPS induzierten Entzündung von primären porcinen RPE-Zellen spielt. Eine Studie konnte zeigen, dass eine chronische LPS-Behandlung (10 Tage) bei menschlichen peripheren mononukleären Blutzellen zu einer erhöhten Expression von *PLA2G2D* führte (Vijay et al. 2015).

Caspasen spielen eine zentrale Rolle bei der Initiierung von Apoptose und Pyroptose, wobei *Caspase-1* die am besten beschriebene entzündliche Caspase ist. Sie verarbeitet die Zytokine Interleukin-1β (IL-1β) und IL-18 und induziert den pyroptotischen Zelltod (Broz et al. 2010; Zhao & Hu 2010). In einer Studie konnte gezeigt werden, dass *Caspase-1* womöglich eine Rolle bei der Entstehung einer degenerativen Netzhauterkrankung spielt, indem sie Zelltod und Entzündung in der Netzhaut vermittelt (Wooff et al. 2020). Es ist bekannt, dass LPS die Aktivierung von *Caspase-1* induzieren können (Martinon & Tschoopp, 2007). Tarallo et al. (2016) zeigten, dass bei AMD-Patienten sowohl die Expression als auch die Aktivierung von

*Caspase-1* in der Netzhaut im Vergleich zu gesunden Kontrollpersonen signifikant erhöht sind. Weiterhin stellten sie fest, dass eine Hemmung der *Caspase-1*-Aktivität in vitro zu einer reduzierten Produktion entzündungsfördernder Zytokine und einer abgeschwächten Entzündungsreaktion führte. In dieser Studie wurde zudem eine Hochregulation der *Caspase-1*-Expression auf Rq = 7,157 und eine Erhöhung von *IL-1β* auf Rq = 43,644 beobachtet, was konsistent mit der beschriebenen Funktion dieses Zytokins ist (Tarallo et al., 2016).

*Casp3* zeigte keine signifikante Expressionsänderung. Grund dafür könnte sein, dass *Caspase-1* stärker mit Entzündungen assoziiert ist als *Caspase-3*. Ein Grund dafür könnte Pyroptose sein, ein Zelltod, bei der *Caspase-1* aktiviert wird, welche zur Freisetzung von entzündungsfördernden Zytokinen und schadensassoziierten molekularen Mustern (DAMPs) führt (Rathkey et al., 2017). Neben der Pyroptose ist *Caspase-1* auch an der Inflammasom-Aktivierung und der Verarbeitung entzündungsfördernder Zytokine wie Interleukin-1β (IL-1β) beteiligt, welches auch in dieser Studie hochreguliert wurde. Inflammasomen sind Proteinkomplexe, die Pathogen-assoziierte molekulare Muster (PAMPs) und DAMPs erkennen und bei Aktivierung den Zusammenbau des Caspase-1-haltigen Inflammasomkomplexes auslösen können (Lamkanfi und Dixit, 2014). Caspase-11, eine weitere Protease, kann ebenfalls *Caspase-1* aktivieren und die Zytokinverarbeitung fördern, was für die Diskussion der Rolle von *Caspase-1* bei Entzündungen relevant ist (Gurung et al., 2015). Insgesamt ist *Caspase-1* für die Entzündungsreaktion wichtig und spielt eine Schlüsselrolle bei der Verarbeitung und Freisetzung von entzündungsfördernden Zytokinen. Während *Caspase-3* auch am Zelltod und an Entzündungen beteiligt ist, ist seine Rolle stärker mit der Apoptose verbunden, die sich von der Pyroptose unterscheidet (Rathkey et al. 2017; Gurung et al. 2015; Lamkanfi Dixit 2014; Fink & Cookson 2006; Thornberry & Lazebnik 1998).

Der *β2-adrenerge Rezeptor (ADRB2)* ist Teil einer großen Familie von Zelloberflächenrezeptoren, die ihre Signaltransduktion in das Innere der Zelle leiten (Liggett, 1999). Es gibt Hinweise auf seine Rolle bei der Immunmodulation. Während verschiedener Prozesse von Immunerkrankungen kann der β2-AR jedoch widersprüchliche Wirkungen auf Immunzellen ausüben (Pongratz & Straub, 2013). In dieser Studie wurde beobachtet, dass die Expression von β2-AR auf einen Rq-Wert von 0,218 herunterreguliert wurde. In einer anderen Studie konnte gezeigt werden, dass die Behandlung von Mikroglia mit Lipopolysacchariden (LPS) ebenfalls zu einer Abnahme der Expression von β2-AR führt (Ishii et al., 2015). Es könnte sein, dass die Herunterregulierung der β2-AR-Expression während einer Entzündung ein regulatorischer Mechanismus ist, der hilft, eine Überstimulation des Immunsystems zu

verhindern. Eine Möglichkeit ist, dass entzündungsfördernde Zytokine Signalwege aktivieren können, die zur Herunterregulierung der  $\beta 2$ -AR-Expression führen (Guo et al., 2005).

#### 4.1.2 Oxidativer Stressarray

Verschiedene Substanzen, die oxidativen Stress induzieren können, wie  $H_2O_2$ , TBHP (Sternberg et al. 1993), Erastin (Tang et al. 2021) und  $CoCl_2$  (Cheng et al. 2019) wurden unterschiedlichen Stimulationszeiten und Konzentrationen getestet. In Vorversuchen wurde nur eine geringe Erhöhung von *SOD1* durch  $H_2O_2$  und *GSS* durch Erastin und TBHP beobachtet. In Genarray-Experimenten wurde erneut eine Steigerung der Expression von *SOD1* durch  $H_2O_2$  festgestellt, aber auch eine Steigerung *FMO1* sowie eine Verringerung von *PTGS2* und *mouse double minute 2 homolog (MDM2)*. Die Auswahl einer geeigneten Stresssubstanz gestaltete sich trotz der Verwendung relativ hoher Konzentrationen und verschiedener Einwirkungszeiten als schwierig. In vielen Versuchen konnte keine ausreichende Genaktivierung erzielt werden. Möglicherweise liegt dies an der vielfältigen protektiven Kapazität von RPE-Zellen, die sie gut gegen oxidativen Stress rüstet (Kellner et al., 2020; Klettner, 2012; Lu et al., 2006). Die meisten der getesteten Substanzen zeigten keine relevanten Wirkungen. Schließlich wurde LPS als Stressinduktor ausgewählt, da es bereits in anderen Versuchen erfolgreich zur Stressinduktion in RPE-Zellen eingesetzt wurde (Ozal et al. 2018; Bermúdez et al. 2019). LPS induziert oxidativen Stress, indem es die Produktion von freien Radikalen erhöht (Noworyta-Sokołowska et al., 2013) und das Glutathion-Redox-Verhältnis reduziert, indem es den Anteil von oxidiertem Glutathion erhöht (Gorąca et al., 2013). LPS wirkt durch die erhöhte Produktion von proinflammatorischen Zytokinen und die Induktion der ROS-Produktion durch verschiedene Mechanismen oxidativ (Zhao et al., 2008; Jaworek et al., 2007). Daher wurde LPS sowohl für das Inflammations- als auch für das oxidativen Stress-Array verwendet. Eine eintägige Stimulation mit 10 µg/ml LPS erwies sich als der erfolgreichste Stressinduktor und wurde daher für das oxidative Genarray verwendet. Infolgedessen konnte die Expression einiger Gene beeinflusst werden.

Superoxiddismutase (SOD) ist ein wichtiger Bestandteil der antioxidativen Abwehr, der den oxidativen Stresslevel reduziert (Lipovsky et al., 2011). Im Rahmen der Studie konnte eine Hochregulation von *SOD1* mit einem Rq-Wert von 4,724 und von *SOD2* mit einem Rq-Wert von 9,408 beobachtet werden. Vorherige Studien haben bereits gezeigt, dass LPS die Expression von *SOD1* und *SOD2* steigern kann, insbesondere in RPE-Zellen (Ozal et al., 2018; Qin et al., 2004). Die Rolle von *SOD* bei der Entstehung von AMD ist jedoch aufgrund widersprüchlicher Ergebnisse umstritten (Tokarz et al., 2013). Es ist möglich, dass die höhere

Expression von *SOD2* im Vergleich zu *SOD1* darauf hinweist, dass *SOD2* eine größere Rolle im oxidativen Stressprozess von RPE-Zellen spielt.

*Häm-Oxygenase (HMOX1)* spielt eine wichtige zytoprotektive Rolle (Origassa & Câmara 2013). In dieser Studie wurde *HMOX1* auf Rq = 2,215 hochreguliert. Allerdings wurde in einer anderen Studie mit ARPE-19 Zellen nach 24 Stunden Behandlung mit LPS in einer Konzentration von 50 µg/mL eine Herunterregulation von *HMOX1* beobachtet (Song et al. 2020). Dies könnte darauf hinweisen, dass die Reaktion der Gene konzentrationsabhängig ist oder aufgrund der unterschiedlichen Zelllinie variiert. Interessanterweise wurde jedoch in anderen Studien eine erhöhte Expression von *HMOX1* bei LPS-induziertem Stress beobachtet, was darauf hindeutet, dass es eine Rolle bei der Stressantwort spielen könnte (Schmidt et al. 2012). Es ist auch interessant zu beachten, dass beispielsweise lichtinduzierte Netzhautdegeneration zu Photorezeptordegeneration und gleichzeitiger *HMOX1*-Induktion führt. Die Expression von *HMOX1* auf niedrigem Niveau vor der Lichteinwirkung verhindert die Photorezeptordegeneration, aber eine Expression auf hohem Niveau induziert direkt die Photorezeptordegeneration, selbst ohne Lichtstress (Li et al. 2021).

*NF-κB (kappa-light-chain-enhancer of activated B-cells)* ist eines der wichtigsten regulatorischen Moleküle bei der durch oxidativen Stress induzierten Zellaktivierung (Wang et al. 2002). *NFKBIA* (NF-κB Inhibitor α, IκBα) kodiert für Protein, das den NF-κB-Transkriptionsfaktor hemmt (Jacobs & Harrison 1998) und wurde in dieser Studie auf Rq = 6,503 hochreguliert. Beispielsweise wurde es bereits bei Makrophagen durch LPS erhöht (Zhang et al. 2014). Im Gegensatz dazu zeigten *NFKB1*, *NFKB2* und *NKAP* keine signifikante Änderung der Genexpression, was darauf hindeutet, dass *NFKBIA* eine übergeordnete Rolle in der Pathophysiologie der AMD spielen kann. Es ist jedoch nicht auszuschließen, dass trotz fehlender Expression, *NF-κB* auch eine Rolle spielt, jedoch durch die Regulation durch *NFKBIA* maskiert werden könnte.

*Polynukleotidkinase 3-Phosphatase (PNKP)* wurde in dieser Studie mit einem Rq-Wert von 2,544 hochreguliert. *PNKP* spielt eine entscheidende Rolle bei der Reparatur von DNA-Schäden, die durch oxidativen Stress verursacht werden (Breslin & Caldecott 2009). Da oxidativer Stress bei AMD zu DNA-Schäden führen kann (Szaflak et al. 2009), könnte die Hochregulierung von *PNKP* ein kompensatorischer Mechanismus sein, um den durch oxidativen Stress verursachten DNA-Schaden zu reparieren.

*Granulozyten-Makrophagen-Kolonie-stimulierende Faktor (GM-CSF2)* ist ein Faktor, der unter anderem Makrophagen und Neutrophile aktiviert. Er wurde in der Studie auf Rq = 2,074 leicht hochreguliert. Pan & Valapala (2022) zeigten bereits eine Induktion von GM-CSF bei

ARPE-19-Zellen, die mit LPS behandelt wurden (Pan & Valapala 2022). Kutty et al. (2013) haben ebenfalls gezeigt, dass proinflammatorische Zytokine, einschließlich IL-1 $\beta$ , CSF2 hochregulieren können (Kutty et al. 2013). Da *IL-1 $\beta$*  im Inflammationsarray durch LPS hochreguliert wurde, könnte es zusammen mit *CSF2* eine Rolle bei der Pathogenese von AMD spielen. Zudem wurde *CSF2* bereits mit retinaler Degeneration in Verbindung gebracht (Saita et al. 2022).

*Nitric Oxid Synthase Typ 2 (NOS2)* produziert Stickstoffmonoxid (NO), welches sowohl nützliche Wirkungen hat, wie beispielsweise die Eliminierung von infiltrierenden Mikroorganismen und die Verbesserung der Blutversorgung verletzter Gewebe, aber auch Gewebeschäden verursachen kann, wenn es in übermäßigen Mengen produziert wird (MacMicking et al. 1997). In der Studie wurde *NOS2* auf Rq = 7,066 hochreguliert. Auch bei bovinem RPE wurde bereits nachgewiesen, dass LPS eine Induktion von *NOS2* und *NO* hervorruft (Faure et al. 1997; Goureau et al. 1997). Zudem konnte die Expression von *NOS2* in Makrophagen bei der altersbedingten Makuladegeneration (AMD) gesehen werden, was nahelegt, dass es möglicherweise an der metabolischen Verschiebung von Makrophagen bei AMD beteiligt ist (St Clair et al. 1996; Cherepanoff et al. 2010).

*CCL5 (Chemokine (C-C motif) ligand 5, Rantes)* spielt eine wichtige Rolle bei der Rekrutierung von T-Zellen, Makrophagen, Eosinophilen und Basophilen und kann die Aktivierung und Proliferation natürlicher Killerzellen induzieren (Soria & Ben-Baruch 2008). *CCL5* wurde mit einem Rq-Wert von 13,07 hochreguliert. Eine Induktion von *CCL5* durch LPS wurde bereits bei dendritischen Zellen beobachtet (Nencioni et al. 2006). Makrophagen spielen eine wichtige Rolle bei der Entstehung der altersbedingten Makuladegeneration, da ihre Infiltration zur Entwicklung von retinaler Neovaskularisation beitragen kann (Ambati et al. 2013). Es ist bekannt, dass LPS Makrophagen stimuliert, um *CCL5* zu exprimieren (Zandi et al. 2015), was darauf hinweist, dass Makrophagen und *CCL5* eine wichtige Rolle bei der Pathogenese der AMD spielen können. Eine Studie von Palestine et al. (2021) zeigte, dass *CCL5* bei Patienten mit intermediärer AMD herunterreguliert wird, was darauf hindeuten kann, dass *CCL5* in der sehr frühen Phase der AMD aktiv ist, da die Zellen in dieser Studie nur für einen Tag stimuliert wurden. Eine Rolle von *CCL5* in der fortgeschrittenen neovaskulären AMD ist jedoch nicht ausgeschlossen, da Makrophagen, die *CCL5* exprimieren, retinale Neovaskularisationen induzieren können, was ein Zeichen für die spätere Phase der AMD ist (Ambati et al. 2013; Garba & Mousa 2010).

*CXCL10 (C-X-C motif chemokine ligand 10)* wurde in der Studie auf Rq = 4702 hochreguliert. Es induziert Chemotaxis in verschiedenen Zelltypen des Immunsystems (Neville et al. 1997)

und fördert die Induktion von Apoptose, die Regulierung von Zellwachstum und -proliferation sowie Angiogenese bei infektiösen und entzündlichen Erkrankungen und Krebs (Liu et al. 2011). In anderen Studien wurde bereits gezeigt, dass LPS *CXCL10* induzieren kann, was durch die Vermittlung von TLR4 geschieht (Mildenberger et al. 2017; Kawai et al. 2001; Doyle et al. 2002). Die starke Induktion könnte jedoch auch durch andere Gene vermittelt werden. In Mikroglia wurde beispielsweise *CXCL10* stark durch die Expression von *CSF2* in der Netzhaut induziert (Saita et al. 2022). Wie bereits erwähnt, wurde auch *CSF2* in dieser Studie hochreguliert. Die hohe Expression von *CXCL10* kann daher als wichtiges potenzielles therapeutisches Ziel betrachtet werden.

Heath shock Proteine (HSPs) werden normalerweise unter Stressbedingungen exprimiert (Jäättelä 1999). HSPs sind an der Stimulation des angeborenen und adaptiven Immunsystems beteiligt (Srivastava 2002). In dieser Studie wurde *HSPA1L* auf Rq = 0,446 herunterreguliert. Es ist möglich, dass es in der akuten Phase zunächst herunterreguliert wird und dann in einer späteren Phase wieder hochreguliert wird. Hier bedarf es jedoch weiterer Untersuchungen, um den Zusammenhang zwischen *HSPA1L*, LPS und der AMD besser zu verstehen.

#### 4.1.3 Angiogenesearray

Angiopoietin-like protein 2 (ANGPTL2) wurde in dieser Studie auf Rq = 3,508 hochreguliert. *ANGPTL2* spielt eine wichtige Rolle in der Angiogenese (Oike et al. 2004; Richardson) und die gesteigerte Expression nach dreitägiger Stimulation deutet darauf hin, dass *ANGPTL2* bereits sehr früh in der Angiogenese aktiviert werden kann und somit ein potenzielles therapeutisches Ziel darstellen könnte.

Angiopoetin-2 (ANGPT2) wurde in der Studie auf Rq = 5,222 hochreguliert. *ANGPT2* wurde in den letzten Jahren intensiv als antiangiogenes Kandidatenmolekül der zweiten Generation verfolgt (Saharinen et al. 2017), da eine Überexpression von *ANGPT2* die Gefäße der Netzhaut destabilisieren kann (Dewi et al. 2018). Somit spielt *ANGPT2* wahrscheinlich auch eine Rolle bei der Pathogenese der feuchten AMD.

Stammzellfaktor-Rezeptor (KIT) wurde in der Studie auf Rq = 3,657 hochreguliert. Dies deutet auf eine mögliche Verbindung zwischen der Expression von *KIT*, erhöhter Angiogenese und einer Korrelation zu verschiedenen angiogeneseabhängigen Krankheiten hin (Patruno et al. 2014). Die erhöhte Expression von *KIT* lässt vermuten, dass es auch bei der angiogenen Komponente der AMD eine wichtige Rolle spielen könnte.

*FLT1 (fms related receptor tyrosine kinase 1)*, auch bekannt als *VEGFR1*, ist ein wichtiger Rezeptor für den vaskulären endothelialen Wachstumsfaktor (VEGF) und spielt eine wichtige Rolle bei der Angiogenese (Shibuya 2006). Es wurde gezeigt, dass *FLT1* in mehreren Tumoren hochreguliert ist (Plate 1994). Allerdings gibt es auch Studien, die eine verringerte Genexpression von *FLT1* sowohl bei Patienten mit trockener als auch mit feuchter AMD zeigen. Dabei wurden jedoch lediglich insgesamt 20 Patienten untersucht, und die Expression von *FLT1* wurde in peripheren mononukleären Blutzellen untersucht, die mit PBS stimuliert wurden (Cinici et al. 2021). Die Expression von *VEGFR1* wurde jedoch bereits in RPE-Zellen gesehen (Luo et al. 2013). Es sollte beachtet werden, dass die Expression von *VEGFR1* in diesen Zelltypen in Abhängigkeit von ihren Mikroumgebungen in Entwicklungs-, Homöostase- und Krankheitszuständen variabel ist. Insbesondere die Sauerstoffkonzentration und die Entzündung beeinflussen stark die Expressionsniveaus von *VEGFR1* sowie seiner Liganden (Hata et al. 1995; Philipp et al. 2000). Anti-*FLT1*-Antikörper oder *FLT1*-spezifische inhibitorische Peptide haben in verschiedenen Modellen das Potenzial gezeigt, das Tumorwachstum und die Metastasierung zu unterdrücken (Bae et al. 2005; Luttun et al. 2002). Diese vielversprechenden Ergebnisse geben einen Ausblick auf eine potenzielle antiangiogene Therapie bei AMD.

*Tyrosinase (TYR)* wurde in der Studie auf  $Rq = 6,071$  hochreguliert. *TYR* wird im retinalen Pigmentepithel (RPE) exprimiert (Wu et al. 2004) und ist an der Melaninbiosynthese beteiligt (Wang & Hebert 2006). Melanin kann dem oxidativen Stress entgegenwirken, welcher durch freie Radikale verursacht wird, die von Lipidperoxidationsprodukten stammen (Memoli et al. 1997). Es wurde gezeigt, dass die Beschaffenheit von RPE-Zellen abnimmt, möglicherweise aufgrund von oxidativem Abbau (Sarna et al. 2003). In diesem Kontext könnte *TYR* als möglicher Marker für den Krankheitsverlauf der AMD dienen.

*Follistatin (FST)* wurde in der Studie auf  $Rq = 8,638$  hochreguliert. *FST* wurde als Induktor der Angiogenese beschrieben und als Bindungspartner von Angiogenin - einem angiogenen Protein, das in der menschlichen Aderhaut und Netzhaut synthetisiert wird und in hohen Konzentrationen in AMD-Augen vorhanden ist (Skeie et al. 2011). Obwohl *FST* ein alternativer Weg zur Angiogenese neben VEGF sein könnte (Cabral et al. 2018), ist seine Rolle in der Pathogenese der AMD noch nicht vollständig verstanden. Die beobachtete Expressionsinduktion kann jedoch als potenzielles therapeutisches Ziel angesehen werden.

## 4.2 Beeinflussung durch Fucoidan

Gegenwärtig gibt es für die trockene, avaskuläre Form der AMD lediglich einen von der FDA genehmigten C3-Inhibitor (Pegcetacoplan) der Firma Appelis Pharma (Goldberg et al. 2022). Die feuchte Form der AMD wird mittels regelmäßiger intravitrealer Injektionen von Anti-VEGF-Medikamenten behandelt. Obwohl diese Behandlung einen schweren Sehverlust verlangsamen kann, ist es nicht möglich langfristig, verlorene Sehstärke wiederherzustellen, was den Bedarf nach neuartigen Therapien für die neovaskuläre AMD hochhält. Zudem ist die Angst vor Injektionen einer der häufigsten Gründe für eine unzureichende Compliance und Behandlungsabbrüche bei feuchter AMD (Cho et al. 2021; Polat et al. 2017).

Als Testsubstanz zur Regulierung der etablierten Genexpressionsarrays wurde Fucoidan ausgewählt. Fucoidane wurden bereits als potenzielle Substanzen zur Behandlung der AMD untersucht (Dörschmann und Klettner, 2020; Klettner, 2016) und Toxizität oder antiproliferative Wirkungen von Fucoidanen bei porcinem RPE wurden bereits in den vorangegangenen Studien ausgeschlossen (Bittkau et al. 2019; Dörschmann et al. 2019b; Dörschmann et al. 2020). FV zeigte eine signifikante Reduktion im Vergleich zur unbehandelten Kontrolle bei vielen Genen, was für eine potenziell prophylaktische Verwendung spricht, ohne dabei andere Gene relevant zu aktivieren. Eine antiangiogene Wirkung von Fucoidan wurde beispielsweise bereits zuvor gezeigt (Dithmer et al. 2014).

Im Inflammationsarray konnten *IL1R2*, *PTGS2*, *IL-8* und *VCAM-1*, die zuvor durch LPS erhöht wurden, durch FV gesenkt werden. Diese Gene können alle über einen gemeinsamen Signalweg aktiviert werden, der durch den Nuklearfaktor-kappa B (NF- $\kappa$ B) bzw. Toll-like-Rezeptor 4 (TLR4) induziert wird (Voboril et al. 2004; Sawa et al. 2008; Li et al. 2022; Kabeerdoss et al. 2022). Dafür spricht auch, dass in dieser Studie *TLR4* hochreguliert wurde. Die Tatsache, dass Fucoidan, auch *Fucus vesiculosus*, die Aktivierung von NF- $\kappa$ B inhibieren kann, wurde bereits beispielsweise in porcinem Kolon (Bahar et al. 2016) oder in murinen Mikroglia Zellen gesehen (Park et al. 2011). Dies lässt darauf schließen, dass dies der relevante Signalweg sein könnte, der durch Fucoidan inhibiert wird, jedoch ist nicht auszuschließen, dass Fucoidan auch selektiv auf bestimmte Gene wirken kann. Fucoidan aus *Laminaria japonica* zeigte beispielsweise bereits auf Proteinebene eine inhibierende Wirkung auf *PTGS2* und *IL-8* in einer menschlichen Keratinozyten-Zelllinie (Lee et al. 2020). In einer anderen Studie konnte speziell das Fucoidan aus *Laminaria hyperborea* ebenso auf Proteinebene eine inhibierende Wirkung auf *IL-8* im RPE zeigen (Dörschmann et al. 2023). Zudem wurde eine inhibierende Wirkung von Fucoidan aus *Laminaria japonica* auf die durch LPS induzierte mRNA Expression von *IL-8* im Darm

gezeigt (Mizuno et al. 2009; Tanoue et al. 2008). Diese Ergebnisse verdeutlichen die antiinflammatorischen Eigenschaften von Fucoidan.

*TLR4* ist auch bereits Zielobjekt einer potenziellen AMD-Therapie geworden. So konnte COBRA, ein *TLR4*-Inhibitor, beispielsweise die Expression von *IL-8* bei menschlichen Nabelvenen-Endothelzellen senken (Chen et al. 2016).

Im Hinblick auf das oxidativen Stressarray konnte festgestellt werden, dass *CXCL10*, *CCL5* und *SOD1*, welche zuvor durch LPS erhöht wurden, durch FV gesenkt werden konnten. Es wurde zuvor bereits beschrieben, dass ein Fucoidan aus *Laminaria hyperborea* in menschlichen Zelllinien *CCL5* (*Chemokin (C-C-Motiv)-Ligand 5*) und *CXCL10* (*C-X-C-Motiv-Chemokin-Ligand 10*) hemmen kann (Kopplin et al. 2018). Auch Fucoidan von *Cladosiphon okamuranus* zeigte bereits eine hemmende Wirkung auf *CCL5* bei T-Zelllinien (Haneji et al. 2005). *CXCL10* wurde beispielsweise als potenzielles therapeutisches Ziel untersucht (Saddala et al. 2019).

*Superoxiddismutase (SOD)* wirkt eigentlich antioxidativ (Lipovsky et al. 2011), wurde aber in dieser Studie durch Fucoidan gesenkt. In anderen Studien zeigte *Fucus vesiculosus* beispielsweise eine aktivierende Wirkung (Kim et al. 2019; Hsieh et al. 2023). Eine mögliche Erklärung ist die Variabilität der experimentellen Bedingungen, beispielsweise wurden in beiden Studien mit Mäusen geforscht und andere Methoden verwendet. Die Rolle von *SOD1* gilt weiterhin zu erforschen. Insgesamt bestätigen die Ergebnisse aus dem oxidativen Stressarray jedoch eine antioxidative Wirkung von Fucoidan auf genetischer Ebene.

Im Angiogenese-Array konnten *ANGPT2*, *FLT1* und *FST*, die zuvor durch CoCl<sub>2</sub> erhöht wurden, durch die Kombination mit FV gesenkt werden. *ANGPT2* wird bereits als potenzieller Kandidat für die Therapie untersucht. In einer Studie von Regula et al. (2016) konnte gezeigt werden, dass die Anzahl spontan auftretender CNV-Läsionen bei Mäusen, die mit einer Kombinationstherapie mit Anti-VEGF-A/Angpt2-Antikörpern behandelt wurden, signifikant reduziert war im Vergleich zu Anti-VEGF-A allein, Anti- Angpt2 allein oder IgG-behandelten Kontrollen. In ähnlicher Weise reduzierte die duale Angpt2/VEGF-A-Inhibition signifikant die CNV-induzierte Leckage im Vergleich zu Anti-VEGF-A allein, Anti- Angpt2 allein oder IgG-behandelten Kontrollen (Regula et al. 2016). Dies könnte darauf hindeuten, dass die Wirkung von bereits verwendeten anti-VEGF-Therapien wie Ranibizumab bei der neovaskulären AMD (Ferrara et al. 2006) möglicherweise zusammen mit Fucoidan aufgrund der anti-*ANGPT2*-Wirkung verstärkt gegen die Neovaskularisation wirken könnte. Auf Protein-Ebene zeigte Fucoidan von *Fucus vesiculosus* auch eine Hemmung von *ANGPT2* bei menschlichen Osteosarkomzellen (Wang et al. 2017; Wang et al. 2021).

Der Nachweis, dass die FLT1-Signalübertragung an der Angiogenese bei pathologischen Zuständen beteiligt ist, hat das Interesse an diesem Rezeptor als mögliches Ziel für Antikrebsmedikamente geweckt. Anti-FLT1-Antikörper oder FLT1-spezifische inhibitorische Peptide unterdrücken das Tumorwachstum und die Metastasierung in verschiedenen Modellen (Luttun et al. 2002; Bae et al. 2005). Präklinische Studien haben gezeigt, dass FLT1-Inhibitoren auch die choroidale Neovaskularisation hemmen können (Lai et al. 2005). Die Ergebnisse dieser Studie legen nahe, dass Fucoidan eine potenzielle Rolle als FLT1-Inhibitor spielen könnte und somit als mögliche Behandlungsoption in Betracht gezogen werden sollte. Weitere Studien sind jedoch erforderlich, um die genaue Wirkungsweise und das Potenzial von Fucoidan als FLT1-Inhibitor zu untersuchen.

### **4.3 Fazit**

Es konnten drei spezifische Genearrays für Entzündung, oxidativen Stress und Angiogenese etabliert werden, die im Zusammenhang mit der altersbedingten Makuladegeneration (AMD) relevant sind. Dabei konnten insgesamt 36 Gene signifikant und biologisch relevant beeinflusst werden. Die Ergebnisse deuten darauf hin, dass die etablierten Genexpressionsassays ein vielversprechendes Werkzeug für die Erforschung von oxidativem Stress, Entzündung und Angiogenese im Zusammenhang mit altersbedingter Makuladegeneration sind. Die untersuchten Gene sind nicht nur für die AMD, sondern auch für andere okuläre Erkrankungen sehr wichtig. Die etablierten Genarrays könnten demnach auch für die Erforschung anderer okulärer Erkrankungen neben der AMD genutzt werden, da ähnliche Moleküle bei verschiedenen Erkrankungen eine wichtige Rolle spielen. Dazu gehören beispielsweise proinflammatorische Zytokine und Chemokine bei der Retinitis pigmentosa (Yoshida et al. 2013, Ghasemi et al. 2011), abgelagerte Complement 3 (C3) Spaltprodukte auf der basolateralen Membran der RPE-Zellen beim Morbus Stargardt (Hu et al. 2020, Radu et al. 2011) und die TLR9-Aktivierung in RPE-Zellen, die zur Freisetzung von proinflammatorischem Interleukin 8 bei der Leber'schen Amaurose führt (Ebihara et al. 2007).

Die etablierten Genexpressionen wurden unter dem Einfluss von Fucoidan (aus *Fucus vesiculosus*) analysiert. Dabei konnte gezeigt werden, dass Fucoidan die Aktivierung von 10 Genen herunterregulieren konnte. Interessant wäre auch die Untersuchung möglicher Effekte anderer natürlicher Substanzen auf die Genexpression im retinalen Pigmentepithel und ihre potenzielle Verwendung als Therapeutika für altersbedingte Makuladegeneration. Es ist besonders hervorzuheben, dass gezeigt werden konnte, dass Fucoidan mindestens drei

unterschiedliche Pathomechanismen beeinflusst. Allerdings sollten die Ergebnisse dieser Studie durch weitere Untersuchungen validiert werden, um den genauen Mechanismus der Wirkung von Fucoidan auf diese Gene zu verstehen. Weitere sinnvolle Ansätze könnten die Untersuchung des Einflusses von Fucoidan auf die Proteinexpression dieser Gene sowie in vivo-Effekte im retinalen Pigmentepithel sein. Insgesamt bietet diese Studie eine vielversprechende Basis für die Entwicklung von Fucoidan-basierten Therapeutika zur Behandlung und Vorbeugung von altersbedingter Makuladegeneration. Dennoch sind weitere Untersuchungen erforderlich, um die Wirksamkeit und Sicherheit von Fucoidan als potenzielles Therapeutikum für diese Erkrankung zu bestätigen. Es gibt es noch weitere Hürden im Prozess der klinischen Translationsforschung, die bewältigt werden müssen, bevor Fucoidan als wirksame Behandlungsmethode für AMD-Patienten eingesetzt werden kann. Dazu gehört beispielsweise die Pharmakokinetik. Das Auge besitzt komplexe Barrieren, die nicht nur dazu dienen, sein Immunprivileg aufrechtzuerhalten, sondern auch Schwierigkeiten bei der Abgabe von therapeutischen Mitteln an das hintere Segment des Auges bereiten (Thomas et al., 2022). Topisch verabreichte Therapeutika müssen mehrere Hornhautschichten und retinale Schichten durchqueren, um das RPE und die Aderhaut zu erreichen. Weniger als 5% der topisch verabreichten Behandlungen erreichen das vordere Segment und deutlich weniger die Netzhaut (Thomas et al., 2022). Systemisch verabreichte Therapeutika müssen die Blut-Retina-Schranke (BRB) passieren, die verhindert, dass zirkulierende Moleküle ungehindert in die Netzhaut eindringen sowie retinale Antigene in den Kreislauf gelangen und die adaptive Immunantwort aktivieren. Bei der AMD kann die äußere BRB gestört und undicht werden, wenn das RPE degeneriert, was eine Antigenbewegung und Aktivierung der Immunantwort ermöglicht. Dieser Barrierefabbau kann möglicherweise auch den Zugang von systemisch verabreichten therapeutischen Mitteln in das Auge ermöglichen. Aktuell werden ausschließlich intravitreale Behandlungen bei der AMD angewendet (Thomas et al., 2022). Es besteht auch die Möglichkeit, eine Kombination von Substanzen zu testen, um mögliche synergistische Effekte erzielen und die Wirksamkeit der Therapie zu erhöhen. Die Anwendung der etablierten Genexpressionsassays zur Testung weiterer potenzieller Therapieansätze könnte zur Identifizierung neuer Substanzen beitragen.

Zusammenfassend leistet diese Studie einen wichtigen Beitrag zur Erforschung der AMD. Sie legt den Grundstein für weitere Untersuchungen und die Entwicklung neuer Therapien zur Behandlung und Vorbeugung der AMD und weiterer okulärer Erkrankungen.

## 5 Zusammenfassung

Das Ziel dieses Projekts war die Etablierung spezifischer Genexpressionspanels für oxidativen Stress, Entzündung und Angiogenese im porcinen retinalen Pigmentepithel sowie die Untersuchung des Einflusses von Fucoidan auf diese Genexpression. Zur Festlegung geeigneter Konzentrationen und Einwirkungszeiten von ausgewählten Noxen ( $H_2O_2$ , LPS,  $CoCl_2$ ) wurden primäre porcine Zellen verwendet.

Insgesamt wurden drei Genearrays, die spezifisch für das porcine retinale Pigmentepithel und relevant für die altersbedingte Makuladegeneration sind für Entzündung, oxidativen Stress und Angiogenese etabliert sowie der Einfluss von Fucoidan (aus *Fucus vesiculosus*) auf die Genexpression untersucht. Die Ergebnisse der Genexpressionsanalysen zeigen, dass Fucoidan die Aktivierung durch verschiedene Stressoren reduzieren kann. Im Bereich der Inflammation konnten durch LPS 16 Gene signifikant und biologisch relevant beeinflusst werden. Darunter wurde die Genexpression für *Interleukin 1-Rezeptor 2*, *Interleukin 8*, *Cyclooxygenase-2* und *Vascular Cell Adhesion Protein 1*, die zuvor von LPS erhöht wurden, durch FV gesenkt. Im oxidativen Stressarray beeinflussten  $H_2O_2$  bzw. LPS insgesamt 15 Gene signifikant und biologisch relevant. Darunter wurde die Genexpression für *Superoxid Dismutase-1*, *C-X-C motif chemokine 10* und *CC-Chemokin-Ligand-5*, welche zuvor von LPS erhöht wurden, durch *Fucus vesiculosus* gesenkt. Für das Angiogenesearray konnte unter Stimulation mit  $CoCl_2$  sechs Gene beeinflusst werden. In Kombination mit *Fucus vesiculosus* wurden die Genexpression von *Angiopoietin 2*, *vakkulärer endothelialer Wachstumsfaktor-Rezeptor-1* und *Follistatin* gesenkt, die zuvor von  $CoCl_2$  erhöht wurden.

Diese Studie verdeutlicht das therapeutische Potenzial von Fucoidan in Bezug auf die Modulation verschiedener Pathomechanismen der altersbedingten Makuladegeneration. Daher könnte Fucoidan als potenzielles Therapeutikum zur Behandlung und Prävention dieser Erkrankung in Erwägung gezogen werden. Des Weiteren wurde bestätigt, dass die etablierten Genexpressionsassays sich zur Untersuchung weiterer Substanzkandidaten eignen. Zudem sollte zukünftige Forschung verstärkt porcine Modelle einbeziehen, da diese Modelle vielfältige Anwendungsmöglichkeiten aufweisen.

## 6 Literaturverzeichnis

- Age-Related Eye Disease Study Research Group. (2001). A randomized, placebo-controlled, clinical trial of high-dose supplementation with vitamins C and E, beta carotene, and zinc for age-related macular degeneration and vision loss: AREDS report no. 8. *Archives of ophthalmology* (Chicago, Ill.: 1960), 119(10), 1417–1436. <https://doi.org/10.1001/archopht.119.10.1417>
- Aiello, L. P., Avery, R. L., Arrigg, P. G., Keyt, B. A., Jampel, H. D., Shah, S. T., Pasquale, L. R., Thieme, H., Iwamoto, M. A., & Park, J. E. (1994). Vascular endothelial growth factor in ocular fluid of patients with diabetic retinopathy and other retinal disorders. *The New England Journal of Medicine*, 331(22), 1480–1487. <https://doi.org/10.1056/NEJM199412013312203>
- Akira, S. (2003). Toll-like receptor signaling. *Journal of Biological Chemistry*, 278(40), 38105-38108.
- Alberts, B., Johnson, A., Lewis, J., Raff, M., Roberts, K., & Walter, P. (2002). Molecular Biology of the Cell. Garland Science.
- Alekseyenko, T. V., Zhanayeva, S. Y., Venediktova, A. A., Zvyagintseva, T. N., Kuznetsova, T. A., Besednova, N. N., & Korolenko, T. A. (2007). Antitumor and antimetastatic activity of fucoidan, a sulfated polysaccharide isolated from the Okhotsk Sea Fucus evanescens brown alga. *Bulletin of experimental biology and medicine*, 143(6), 730-732.
- Anderson, D. C., & Springer, T. A. (1987). Leukocyte adhesion deficiency: an inherited defect in the Mac-1, LFA-1, and p150, 95 glycoproteins. *Annual review of medicine*, 38(1), 175-194.
- Anderson, D. H., Radeke, M. J., Gallo, N. B., Chapin, E. A., Johnson, P. T., Curletti, C. R., ... & Johnson, L. V. (2010). The pivotal role of the complement system in aging and age-related macular degeneration: Hypothesis re-visited. *Progress in Retinal and Eye Research*, 29(2), 95-112. doi:10.1016/j.preteyeres.2009.11.003
- Anno, K., Terahata, H., Hayashi, Y., & Seno, N. (1966). Isolation and purification of fucoidin from brown seaweed *Pelvetia wrightii*. *Agricultural and Biological Chemistry*, 30(5), 495-499. <https://doi.org/10.1271/bbb1961.30.495>
- AOAC. (1990). Official methods of analysis of association of analytical chemists.
- AREDS Research Group. (2009). ω-3 Long-chain polyunsaturated fatty acid intake and 12-y incidence of neovascular age-related macular degeneration and central geographic atrophy: AREDS report 30, a prospective cohort study from the Age-Related Eye Disease Study. *American Journal of Clinical Nutrition*, 90(6), 1601–1607. DOI: 10.3945/ajcn.2009.27594.
- Arking, R. (1998). Perspectives of Aging. *Biology of Aging: Observations and Principles* (2nd ed.). Sunderland: Sinauer.
- Augustin, S., Lam, M., Lavalette, S., Verschueren, A., Blond, F., Forster, V., ... & Sennlaub, F. (2023). Melanophages give rise to hyperreflective foci in AMD, a disease-progression marker. *Journal of Neuroinflammation*, 20(1), 1-19.

- Aumüller, G., Aust, G., Conrad, A., Engele, J., Kirsch, J., Maio, G., Mayer-hofer, A., Mense, S., Reißig, D., & Hrsg. (2017). Duale Reihe Anatomie. Stuttgart: Thieme. doi:10.1055/b-005-143674
- Ayswarya, A., & Kurian, G. A. (2016). Sensitivity of Interfibrillar and Subsarcolemmal Mitochondria to Cobalt Chloride-induced Oxidative Stress and Hydrogen Sulfide Treatment. Indian Journal of Pharmaceutical Sciences, 78(1), 151-158. doi: 10.4103/0250-474x.180258
- Bae, D. G., Kim, T. D., Li, G., Yoon, W. H., & Chae, C. B. (2005). Anti-Flt1 peptide, a vascular endothelial growth factor receptor 1-specific hexapeptide, inhibits tumor growth and metastasis. Clinical cancer research, 11(7), 2651-2661.
- Bae, D. G., Kim, T. D., Li, G., Yoon, W. H., & Chae, C. B. (2005). Anti-Flt1 peptide, a vascular endothelial growth factor receptor 1-specific hexapeptide, inhibits tumor growth and metastasis. Clinical Cancer Research, 11(7), 2651-2661.
- Bahar, B., O'Doherty, J. V., Smyth, T. J., Ahmed, A. M., & Sweeney, T. (2016). A cold water extract of *Fucus vesiculosus* inhibits lipopolysaccharide (LPS) induced pro-inflammatory responses in the porcine colon ex-vivo model. Innovative Food Science & Emerging Technologies, 37, 229-236.
- Baird, P. N., Guida, E., Chu, D. T., Vu, H. T., & Guymer, R. H. (2004). The epsilon2 and epsilon4 alleles of the apolipoprotein gene are associated with age-related macular degeneration. Investigative Ophthalmology & Visual Science, 45(5), 1311-1315. doi:10.1167/iovs.03-1121
- Baiula, M., Caligiana, A., Bedini, A., Zhao, J., Santino, F., Cirillo, M., ... & Spampinato, S. (2021). Leukocyte integrin antagonists as a novel option to treat dry age-related macular degeneration. Frontiers in Pharmacology, 11, 617836.
- Barter, P., Kastelein, J., Nunn, A., Hobbs, R., & Board, F. F. E. (2003). High density lipoproteins (HDLs) and atherosclerosis; the unanswered questions. Atherosclerosis, 168(2), 195-211.
- Beatty, S., Boulton, M., Henson, D., Koh, H.-H., & Murray, I. (1999). Macular pigment and age-related macular degeneration. British Journal of Ophthalmology, 83(8), 867-877. <https://doi.org/10.1136/bjo.83.8.867>
- Beatty, S., Koh, H., Phil, M., Henson, D., & Boulton, M. (2000). The role of oxidative stress in the pathogenesis of age-related macular degeneration. Survey of ophthalmology, 45(2), 115–134. [https://doi.org/10.1016/s0039-6257\(00\)00140-5](https://doi.org/10.1016/s0039-6257(00)00140-5)
- Bermúdez, V., Tenconi, P. E., Giusto, N. M., & Mateos, M. V. (2019). Lipid Signaling in Retinal Pigment Epithelium Cells Exposed to Inflammatory and Oxidative Stress Conditions. Molecular Mechanisms Underlying Degenerative Retinal Diseases. In Retinal Degenerative Diseases: Mechanisms and Experimental Therapy (pp. 289-293). Springer International Publishing.
- Bernau, M., Kremer, P. V., Pappenberger, E., Kreuzer, L. S., Cussler, K., Hoffmann, A., & Scholz, A. M. (2015). Safety testing of veterinary vaccines using magnetic resonance imaging in pigs. ALTEX-Alternatives to Animal Experimentation, 32(1), 51-58.

- Berres, M. L., Koenen, R. R., Rueland, A., Zaldivar, M. M., Heinrichs, D., Sahin, H., ... & Wasmuth, H. E. (2010). Antagonism of the chemokine Ccl5 ameliorates experimental liver fibrosis in mice. *The Journal of clinical investigation*, 120(11), 4129-4140.
- Bharti, K., den Hollander, A. I., Lakkaraju, A., Sinha, D., Williams, D., Finnemann, S. C., ... & D'Amore, P. A. (2022). Cell culture models to study retinal pigment epithelium-related pathogenesis in age-related macular degeneration. *Experimental Eye Research*, 109170.
- Bilan, M. I., Grachev, A. A., & Ustuzhanina, N. E. (2002). Structure of a fucoidan from the brown seaweed *Fucus evanescens* C.Ag. *Carbohydr. Res.*, 337, 719-730.
- Bird, A. C., Bressler, N. M., Bressler, S. B., Chisholm, I. H., Coscas, G., Davis, M. D., et al. (1995). An international classification and grading system for age-related maculopathy and age-related macular degeneration. *Survey of Ophthalmology*, 39(5), 367-374. DOI: 10.1016/S0039-6257(05)80092-X.
- Bittkau, K. S., Neupane, S., & Alban, S. (2020). Initial evaluation of six different brown algae species as source for crude bioactive fucoidans. *Algal Research*, 45, 101759.
- Bittkau, K. S., Dörschmann, P., Blümel, M., Tasdemir, D., Roider, J., Klettner, A., & Alban, S. (2019). Comparison of the Effects of Fucoidans on the Cell Viability of Tumor and Non-Tumor Cell Lines. *Marine Drugs*, 17(8), Article 441. DOI: 10.3390/md17080441.
- Blondin, C., Fischer, E., Boisson-Vidal, C., Kazatchkine, M. D., & Jozefonvicz, J. (1994). Inhibition of complement activation by natural sulfated polysaccharides (fucans) from brown seaweed. *Molecular immunology*, 31(4), 247-253.
- Bok, D. (1993). The retinal pigment epithelium: a versatile partner in vision. *J. Cell Sci. Suppl.*, 17, 189-195.
- Bok, D. (1993). The retinal pigment epithelium: a versatile partner in vision. *Journal of Cell Science*, 1993(Supplement\_17), 189-195. doi: 10.1242/jcs.1993.Supplement\_17.27
- Boraschi, D., & Tagliabue, A. (2013, December). The interleukin-1 receptor family. In *Seminars in immunology* (Vol. 25, No. 6, pp. 394-407). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/j.smim.2013.10.001>
- Boulton, M., & Dayhaw-Barker, P. (2001). The role of the retinal pigment epithelium: Topographical variation and ageing changes. *Eye*, 15(3), 384-389. <https://doi.org/10.1038/eye.2001.141>
- Boyer, D. S., Schmidt-Erfurth, U., van Lookeren Campagne, M., Henry, E. C., & Brittain, C. (2017). The pathophysiology of geographic atrophy secondary to age-related macular degeneration and the complement pathway as a therapeutic target. *Retina (Philadelphia, Pa.)*, 37(5), 819.
- Bradley, D. T., Zipfel, P. F., & Hughes, A. E. (2011). Complement in age-related macular degeneration: a focus on function. *Eye*, 25(6), 683-693. <https://doi.org/10.1038/eye.2011.45>
- Breslin, C., & Caldecott, K. W. (2009). DNA 3'-phosphatase activity is critical for rapid global rates of single-strand break repair following oxidative stress. *Molecular and Cellular Biology*, 29(17), 4653-4662.

- Broz, P., von Moltke, J., Jones, J. W., Vance, R. E., & Monack, D. M. (2010). Differential requirement for Caspase-1 autoproteolysis in pathogen-induced cell death and cytokine processing. *Cell host & microbe*, 8(6), 471-483.
- Burns, R. P., & Feeney-Burns, L. (1980). Clinico-morphologic correlations of drusen of Bruch's membrane. *Transactions of the American Ophthalmological Society*, 78, 206–225.
- Cabral de Guimaraes, T. A., Daich Varela, M., Georgiou, M., & Michaelides, M. (2022). Treatments for dry age-related macular degeneration: therapeutic avenues, clinical trials and future directions. *British Journal of Ophthalmology*, 106(3), 297. DOI: 10.1136/bjophthalmol-2020-318452.
- Cabral, T., Lima, L. H., Mello, L. G. M., Polido, J., Correa, É. P., Oshima, A., ... & Belfort Jr, R. (2018). Bevacizumab injection in patients with neovascular age-related macular degeneration increases angiogenic biomarkers. *Ophthalmology Retina*, 2(1), 31-37.
- Cai, J., Nelson, K. C., Wu, M., Sternberg Jr, P., & Jones, D. P. (2000). Oxidative damage and protection of the RPE. *Progress in retinal and eye research*, 19(2), 205-221. [https://doi.org/10.1016/S1350-9462\(99\)00009-9](https://doi.org/10.1016/S1350-9462(99)00009-9)
- Chakravarthy, U., Elisabeth, P., Astrid, F., et al. (2010). Clinical risk factors for age-related macular degeneration: a systematic review and meta-analysis. *BMC Ophthalmology*, 10(1), Article 31.
- Chan, C. X., Ho, C. L., & Phang, S. M. (2006). Trends in seaweed research. *Trends in Plant Science*, 11(4), 165-166.
- Chance, B., Sies, H., & Boveris, A. (1979). Hydroperoxide metabolism in mammalian organs. *Physiological Reviews*, 59(3), 527–605. <https://doi.org/10.1152/physrev.1979.59.3.527>
- Chen, H. Y. (2009). Process for puffed food. Patent of Taiwan, No. 098138601.
- Chen, L., Bai, Y., Zhao, M., & Jiang, Y. (2016). TLR4 inhibitor attenuates amyloid- $\beta$ -induced angiogenic and inflammatory factors in ARPE-19 cells: Implications for age-related macular degeneration. *Molecular Medicine Reports*, 13(4), 3249-3256.
- Cheng, Z., Yao, W., Zheng, J., Ding, W., Wang, Y., Zhang, T., ... & Zhou, F. (2019). A derivative of betulinic acid protects human Retinal Pigment Epithelial (RPE) cells from cobalt chloride-induced acute hypoxic stress. *Experimental eye research*, 180, 92-101.
- Cherepanoff, S., McMenamin, P., Gillies, M. C., Kettle, E., & Sarks, S. H. (2010). Bruch's membrane and choroidal macrophages in early and advanced age-related macular degeneration. *British Journal of Ophthalmology*, 94(7), 918-925.
- Chizhov, A. O., Dell, A., & Morris, H. R. (1999). A study of fucoidan from the brown seaweed Chorda filum. *Carbohydr. Res.*, 320, 108-119.
- Cho, Y. K., Park, D. H., & Jeon, I. C. (2021). Medication Trends for Age-Related Macular Degeneration. *International journal of molecular sciences*, 22(21), 11837. <https://doi.org/10.3390/ijms222111837>
- Choi, J. I., & Kim, H. J. (2013). Preparation of low molecular weight fucoidan by gamma-irradiation and its anticancer activity. *Carbohydrate Polymers*, 97(2), 358-362.

- Chowers, I., Esumi, N., Campochiaro, P., & Zack, D. J. (2003, December). Studies on retinal and retinal pigment epithelial gene expression. In *Retinal Dystrophies: Functional Genomics to Gene Therapy*: Novartis Foundation Symposium 255 (Vol. 255, pp. 131-146). Chichester, UK: John Wiley & Sons, Ltd.
- Ciesielska, A., Matyjek, M., & Kwiatkowska, K. (2021). TLR4 and CD14 trafficking and its influence on LPS-induced pro-inflammatory signaling. *Cellular and molecular life sciences*, 78, 1233-1261.
- Cinici, E., Caglar, O., Arslan, M. E., Dilekmen, N., Utlu, B., Mardinoglu, A., & Turkez, H. (2021). Targeted Gene Candidates for Treatment and Early Diagnosis of Age-Related Macular Degeneration. *BioMed Research International*, 2021.
- Citkowska, A., Szekalska, M., & Winnicka, K. (2019). Possibilities of fucoidan utilization in the development of pharmaceutical dosage forms. *Marine Drugs*, 17(8), 458.
- Cong, Q., Chen, H., Liao, W., Xiao, F., Wang, P., Qin, Y., ... & Ding, K. (2016). Structural characterization and effect on anti-angiogenic activity of a fucoidan from *Sargassum fusiforme*. *Carbohydrate Polymers*, 136, 899-907.
- Congdon, N. G., Friedman, D. S., & Lietman, T. (2003). Important Causes of Visual Impairment in the World Today. *JAMA*, 290, 2057-2060. <https://doi.org/10.1001/jama.290.15.2057>
- Corre, I., Pineau, D., & Hermouet, S. (1999). Interleukin-8: an autocrine/paracrine growth factor for human hematopoietic progenitors acting in synergy with colony stimulating factor-1 to promote monocyte-macrophage growth and differentiation. *Experimental hematology*, 27(1), 28-36.
- Cosenza, V. A., Navarro, D. A., Ponce, N. M., & Stortz, C. A. (2017). Seaweed polysaccharides: structure and applications. In M. A. Perez (Ed.), *Industrial applications of renewable biomass products: Past, present and future* (pp. 75-116). Nova Science Publishers.
- Cumashi, A., Ushakova, N. A., Preobrazhenskaya, M. E., D'Incecco, A., Poly(I:C)coli, A., Totani, L., ... & Nifan-tiev, N. E. (2007). A comparative study of the anti-inflammatory, anticoagulant, antiangiogenic, and anti-adhesive activities of nine different fucoidans from brown seaweeds. *Glycobiology*, 17(5), 541-552. <https://doi.org/10.1093/glycob/cwm014>
- Cunha-Vaz, J. G. (1976). The blood-retinal barriers. *Documenta Ophthalmologica*, 41(2), 287-327. <https://doi.org/10.1007/BF00146764>
- Curcio, C. A. (2018). Antecedents of soft drusen, the specific deposits of age-related macular degeneration, in the biology of human macula. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 59(4), AMD182-AMD194. doi:10.1167/iovs.18-24883
- Datta, S., Cano, M., Ebrahimi, K., Wang, L., & Handa, J. T. (2017). The impact of oxidative stress and inflammation on RPE degeneration in non-neovascular AMD. *Progress in Retinal and Eye Research*, 60, 201-218. <https://doi.org/10.1016/j.preteyeres.2017.03.002>
- Davidov, E., Breitscheidel, L., Clouth, J., Reips, M., & HapPoly(I:C)h, M. (2009). Diabetic retinopathy and health-related quality of life. *Graefes Archiv für Clinica und Experimentelle Ophthalmologie*, 247(2), 267-272. <https://doi.org/10.1007/s00417-008-0960-y>

- de Jong, P. T. (2006). Age-related macular degeneration. *The New England Journal of Medicine*, 355(14), 1474–1485. <https://doi.org/10.1056/NEJMra062326>
- de Oliveira Dias, J. R., Rodrigues, E. B., Maia, M., Magalhães, O., Jr, Penha, F. M., & Farah, M. E. (2011). Cytokines in neovascular age-related macular degeneration: fundamentals of targeted combination therapy. *The British journal of ophthalmology*, 95(12), 1631–1637. <https://doi.org/10.1136/bjo.2010.186361>
- Deng, Y., Qiao, L., Du, M., Qu, C., Wan, L., Li, J., & Huang, L. (2021). Age-related macular degeneration: Epidemiology, genetics, pathophysiology, diagnosis, and targeted therapy. *Genes & diseases*, 9(1), 62–79. <https://doi.org/10.1016/j.gendis.2021.02.009>
- Dewi, N. A., Sujuti, H., Widodo, M. A., & Soeatmadji, D. W. (2018). Mechanism of retinal pericyte migration through Angiopoietin/Tie-2 signaling pathway on diabetic rats. *International Journal of Ophthalmology*, 11(3), 375.
- Diamond, M. S., & Springer, T. A. (1993). A subpopulation of Mac-1 (CD11b/CD18) molecules mediates neutrophil adhesion to ICAM-1 and fibrinogen. *The Journal of cell biology*, 120(2), 545–556.
- Dietrich, Luisa; Lucius, Ralph; Roider, Johann; Klettner, Alexa (2020): Interaction of inflammatoryly activated retinal pigment epithelium with retinal microglia and neuronal cells. In: Experimental eye research 199, p. 108167. DOI: 10.1016/j.exer.2020.108167.
- Dighiero, P., Behar-Cohen, F., Courtois, Y., & Goureau, O. (1997). Expression of inducible nitric oxide synthase in bovine corneal endothelial cells and keratocytes in vitro after lipopolysaccharide and cytokines stimulation. *Investigative Ophthalmology and Visual Science*, 38(10), 2045-2052.
- Dinarello, C. A. (2019). The IL-1 family of cytokines and receptors in rheumatic diseases. *Nature Reviews Rheumatology*, 15(10), 612-632.
- Dithmer, M., Fuchs, S., Shi, Y., Schmidt, H., Richert, E., Roider, J., & Klettner, A. (2014). Fucoidan reduces secretion and expression of vascular endothelial growth factor in the retinal pigment epithelium and reduces angiogenesis in vitro. *PLoS One*, 9(2), e89150. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0089150>
- Dithmer, M., Kirsch, A. M., Richert, E., Fuchs, S., Wang, F., Schmidt, H., ... & Klettner, A. (2017). Fucoidan does not exert anti-tumorigenic effects on uveal melanoma cell lines. *Marine drugs*, 15(7), 193.
- Docherty, R. J., Edwards, J. G., Garrod, D. R., & Matthey, D. L. (1984). Chick embryonic pigmented retina is one of the group of epithelioid tissues that lack cytokeratins and desmosomes and have intermediate filaments composed of vimentin. *Journal of Cell Science*, 71(1), 61-74.
- Dörschmann, P., Akkurt, H., Kopplin, G., Mikkelsen, M. D., Meyer, A. S., Roider, J., & Klettner, A. (2023). Establishment of specific age-related macular degeneration relevant gene expression panels using porcine retinal pigment epithelium for assessing fucoidan bioactivity. *Experimental eye research*, 231, 109469. <https://doi.org/10.1016/j.exer.2023.109469>

- Dörschmann, P., & Klettner, A. (2020). Fucoidans as Potential Therapeutics for Age-Related Macular Degeneration-Current Evidence from In Vitro Research. International Journal of Molecular Sciences, 21(23), Article 9272. DOI: 10.3390/ijms21239272.
- Dörschmann, P., Apitz, S., Hellige, I., Neupane, S., Alban, S., Kopplin, G., Ptak, S., Fretté, X., Roider, J., Zille, M., & Klettner, A. (2021). Evaluation of the Effects of Fucoidans from *Fucus* Species and *Laminaria hyperborea* against Oxidative Stress and Iron-Dependent Cell Death. Marine Drugs, 19(10), 557. <https://doi.org/10.3390/md19100557>
- Dörschmann, P., Bittkau, K. S., Neupane, S., Roider, J., Alban, S., & Klettner, A. (2019). Effects of fucoidans from five different brown algae on oxidative stress and VEGF interference in ocular cells. Marine Drugs, 17(5), 258.
- Dörschmann, P., Kopplin, G., Roider, J., & Klettner, A. (2019). Effects of Sulfated Fucans from *Laminaria hyperborea* Regarding VEGF Secretion, Cell Viability, and Oxidative Stress and Correlation with Molecular Weight. Marine Drugs, 17(10). doi: 10.3390/md17100590
- Dörschmann, P., Kopplin, G., Roider, J., & Klettner, A. (2023). Interaction of High-Molecular Weight Fucoidan from *Laminaria hyperborea* with Natural Functions of the Retinal Pigment Epithelium. International Journal of Molecular Sciences, 24(3), Article 2232.
- Dörschmann, P., Mikkelsen, M. D., Thi, T. N., Roider, J., Meyer, A. S., & Klettner, A. (2020). Effects of a Newly Developed Enzyme-Assisted Extraction Method on the Biological Activities of Fucoidans in Ocular Cells. Marine Drugs, 18(6), Article 282. DOI: 10.3390/md18060282.
- Dörschmann, P., Thalenhorst, T., Seeba, C., Tischhäuser, M. T., Neupane, S., Roider, J., ... & Klettner, A. (2023). Comparison of Fucoidans from *Saccharina latissima* Regarding Age-Related Macular Degeneration Relevant Pathomechanisms in Retinal Pigment Epithelium. International Journal of Molecular Sciences, 24(9), 7939.
- Dörschmann, P., Seeba, C., Thalenhorst, T., Roider, J., & Klettner, A. (2023). Anti-inflammatory properties of antiangiogenic fucoidan in retinal pigment epithelium cells. Heliyon, 9(4).
- Doyle, S. E., Vaidya, S. A., O'Connell, R., Dadgostar, H., Dempsey, P. W., Wu, T. T., ... & Cheng, G. (2002). IRF3 mediates a TLR3/TLR4-specific antiviral gene program. Immunity, 17(3), 251-263.
- Ebihara, N., Chen, L., Tokura, T., Ushio, H., Iwatsu, M., & Murakami, A. (2007). Distinct functions between toll-like receptors 3 and 9 in retinal pigment epithelial cells. Ophthalmic research, 39(3), 155–163. <https://doi.org/10.1159/000103235>
- Edwards, A. O., Chen, D., Fridley, B. L., James, K. M., Wu, Y., Abecasis, G., ... & Tosakulwong, N. (2008). Toll-like receptor polymorphisms and age-related macular degeneration. Investigative Ophthalmology & Visual Science, 49(4), 1652-1659.
- Edwards, A. O., Ritter III, R., Abel, K. J., Manning, A., Panhuysen, C., & Farrer, L. A. (2005). Complement factor H polymorphism and age-related macular degeneration. Science, 308(5720), 421-424.

- Enoch, J., McDonald, L., Jones, L., Jones, P. R., & Crabb, D. P. (2019). Evaluating Whether Sight Is the Most Valued Sense. *JAMA Ophthalmology*, 137(11), 1317-1320. <https://doi.org/10.1001/jamaophthalmol.2019.3537>
- Farina, G. A., York, M. R., Di Marzio, M., Collins, C. A., Meller, S., Homey, B., ... & Lafyatis, R. (2010). Poly(I:C) drives type I IFN-and TGF $\beta$ -mediated inflammation and dermal fibrosis simulating altered gene expression in systemic sclerosis. *Journal of Investigative Dermatology*, 130(11), 2583-2593.
- Faure, V., Courtois, Y., & Goureau, O. (1997). Inhibition of inducible nitric oxide synthase expression by interferons  $\alpha$  and  $\beta$  in bovine retinal pigmented epithelial cells. *Journal of Biological Chemistry*, 272(51), 32169-32175.
- Feeney, L. (1978). Lipofuscin and melanin of human retinal pigment epithelium. Fluorescence, enzyme cytochemical, and ultrastructural studies. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 17(7), 583-600.
- Feng, S., Yu, H., Yu, Y., Geng, Y., Li, D., Yang, C., ... & Li, X. (2018). Levels of inflammatory cytokines IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8, IL-17A, and TNF- $\alpha$  in aqueous humour of patients with diabetic retinopathy. *Journal of Diabetes Research*, 2018, 8546423. <https://doi.org/10.1155/2018/8546423>
- Ferrara, N. (2000). Vascular endothelial growth factor and the regulation of angiogenesis. *Recent Progress in Hormone Research*, 55, 15-35.
- Ferrara, N. (2002). VEGF and the quest for tumour angiogenesis factors. *Nature Reviews Cancer*, 2(10), 795-803.
- Ferrara, N., Damico, L., Shams, N., Lowman, H., & Kim, R. (2006). Development of ranibizumab, an anti-vascular endothelial growth factor antigen binding fragment, as therapy for neovascular age-related macular degeneration. *Retina*, 26(8), 859-870.
- Finger, R. P., Bertram, B., Wolfram, C., & Holz, F. G. (2012). Blindness and visual impairment in Germany: a slight fall in prevalence. *Deutsches Ärzteblatt international*, 109(27-28), 484-489. <https://doi.org/10.3238/arztebl.2012.0484>
- Fink, S. L., & Cookson, B. T. (2006). Pyroptosis and host cell death responses during *Salmonella* infection. *Cellular Microbiology*, 8(11), 1683-1696. <https://doi.org/10.1111/j.1462-5822.2006.00743.x>
- Fisher, S. A., Abecasis, G. R., Yashar, B. M., Zareparsi, S., Swaroop, A., Iyengar, S. K., ... & Weber, B. H. (2005). Meta-analysis of genome scans of age-related macular degeneration. *Human Molecular Genetics*, 14(15), 2257-2264.
- Francis, P. J., Hamon, S. C., Ott, J., Weleber, R. G., & Klein, M. L. (2009). Polymorphisms in C2, CFB and C3 are associated with progression to advanced age related macular degeneration associated with visual loss. *Journal of Medical Genetics*, 46(5), 300-307.

- Friedrichson, T., Kalbach, H. L., Buck, P., & van Kuijk, F. J. (1995). Vitamin E in macular and peripheral tissues of the human eye. *Current Eye Research*, 14(8), 693-701. doi: 10.3109/02713689508998497
- Fuhrmann, S., Zou, C., & Levine, E. M. (2014). Retinal pigment epithelium development, plasticity, and tissue homeostasis. *Experimental Eye Research*, 123, 141–150. <https://doi.org/10.1016/j.exer.2013.09.003>
- Fujiwara-Arasaki, T., Mino, N., & Kuroda, M. (1984). The protein value in human nutrition of edible marine algae in Japan. In Eleventh International Seaweed Symposium: Proceedings of the Eleventh International Seaweed Symposium, held in Qingdao, People's Republic of China, June 19–25, 1983 (pp. 513-516). Springer Netherlands.
- Fukuta, K., & Nakamura, T. (2008). Induction of hepatocyte growth factor by fucoidan and fucoidan-derived oligosaccharides. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 60(4), 499-503.
- Gao, H. N., Hu, H., Wen, P. C., Lian, S., Xie, X. L., Song, H. L., ... & Ren, F. Z. (2021). Yak milk-derived exosomes alleviate lipopolysaccharide-induced intestinal inflammation by inhibiting PI3K/AKT/C3 pa-thway activation. *Journal of Dairy Science*, 104(8), 8411-8424. <https://doi.org/10.3168/jds.2020-19707>
- Garron, L. K. (1963). The Ultrastructure of the Retinal Pigment Epithelium with Observations on the Choriocapillaris and Bruch's Membrane. *Transactions of the American Ophthalmological Society*, 61, 545-588.
- Gehrs, K. M., Anderson, D. H., Johnson, L. V., & Hageman, G. S. (2006). Age-related macular degeneration—emerging pathogenetic and therapeutic concepts. *Annals of Medicine*, 38(7), 450-471. <https://doi.org/10.1080/07853890600946724>
- Gerster, H. (1991). Review: antioxidant protection of the ageing macula. *Age and ageing*, 20(1), 60–69. <https://doi.org/10.1093/ageing/20.1.60>
- Ghasemi, H., Ghazanfari, T., Yaraee, R., Faghizadeh, S., & Hassan, Z. M. (2011). Roles of IL-8 in ocular inflammations: a review. *Ocular Immunology and Inflammation*, 19(6), 401-412.
- Ghavami, S., Shojaei, S., Yeganeh, B., Ande, S. R., Jangamreddy, J. R., Mehrpour, M., ... & Łos, M. J. (2014). Autophagy and apoptosis dysfunction in neurodegenerative disorders. *Progress in Neurobiology*, 112, 24-49.
- Gorąca, A., Huk-Kolega, H., Kleniewska, P., Piechota-Polańczyk, A., & Skibska, B. (2013). Effects of lipoic acid on spleen oxidative stress after LPS administration. *Pharmacological Reports*, 65(1), 179-186.
- Goureau, O., Amiot, F., Dautry, F., & Courtois, Y. (1997). Control of nitric oxide production by endogenous TNF- $\alpha$  in mouse retinal pigmented epithelial and Muller glial cells. *Biochemical and biophysical research communications*, 240(1), 132-135.
- Graham, L. E., Kaneko, Y., & Renzaglia, K. (1991). Subcellular structures of relevance to the origin of land plants (embryophytes) from green algae. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 10(4), 323-342.

- Green W. R. (1999). Histopathology of age-related macular degeneration. *Molecular vision*, 5, 27.
- Grigoryev, D. N., Liu, M., Hassoun, H. T., Cheadle, C., Barnes, K. C., & Rabb, H. (2008). The local and systemic inflammatory transcriptome after acute kidney injury. *Journal of the American Society of Nephrology*, 19(3), 547-558. doi: 10.1681/ASN.2007040469
- Grossniklaus, H. E., & Green, W. R. (2004). Choroidal neovascularization. *American journal of ophthalmology*, 137(3), 496–503. <https://doi.org/10.1016/j.ajo.2003.09.042>
- Guduric-Fuchs, J., Ringland, L. J., Gu, P., Dellett, M., Archer, D. B., & Cogliati, T. (2009). Immunohistochemical study of pig retinal development. *Molecular Vision*, 15, 1915-1928.
- Guo, M., Pascual, R. M., Wang, S., Fontana, M. F., Valancius, C. A., Panettieri, R. A., Tilley, S. L., & Penn, R. B. (2005). Cytokines regulate  $\beta$ -2-adrenergic receptor responsiveness in airway smooth muscle via multiple PKA- and EP2 receptor-dependent mechanisms. *Biochemistry*, 44(42), 13771-13782. doi: 10.1021/bi051255y
- Gurung, P., Malireddi, R. K. S., Anand, P. K., Demon, D., Vande Walle, L., Liu, Z., Vogel, P., Lamkanfi, M., & Kanneganti, T. D. (2015). Toll or interleukin-1 receptor (TIR) domain-containing adaptor inducing interferon- $\beta$  (TRIF)-mediated caspase-11 protease production integrates Toll-like receptor 4 (TLR4) protein- and Nlrp3 inflammasome-mediated host defense against enteropathogens. *Journal of Biological Chemistry*, 290(49), 28333-28341. <https://doi.org/10.1074/jbc.M115.680341>
- Hageman, G. S., Anderson, D. H., Johnson, L. V., Hancox, L. S., Taiber, A. J., Hardisty, L. I., ... & Allikmets, R. (2005). A common haplotype in the complement regulatory gene factor H (HF1/CFH) predisposes individuals to age-related macular degeneration. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 102(20), 7227-7232.
- Hammes, H. P., Hoerauf, H., Alt, A., Schleicher, E., Clausen, J. T., Bretzel, R. G., & Laqua, H. (1999). N(epsilon)(carboxymethyl)lysine and the AGE receptor RAGE colocalize in age-related macular degeneration. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 40(8), 1855-1859.
- Handa, J. T. (2012). How does the macula protect itself from oxidative stress? *Molecular Aspects of Medicine*, 33(4), 418–435. <https://doi.org/10.1016/j.mam.2012.03.006>
- Handa, J. T., Verzijl, N., Matsunaga, H., Aotaki-Keen, A., Lutty, G. A., te Koppele, J. M., Miyata, T., & Hjelmeland, L. M. (1999). Increase in the advanced glycation end product pentosidine in Bruch's membrane with age. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 40(3), 775-779.
- Haneji, K., Matsuda, T., Tomita, M., Kawakami, H., Ohshiro, K., Uchihara, J. N., ... & Mori, N. (2005). Fucoidan extracted from Cladosiphon okamuranus Tokida induces apoptosis of human

- T-cell leukemia virus type 1-infected T-cell lines and primary adult T-cell leukemia cells. *Nutrition and Cancer*, 52(2), 189-201.
- Harboe, M., & Mollnes, T. E. (2008). The alternative complement pathway revisited. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 12(4), 1074-1084.
- Hata, Y., Nakagawa, K., Sueishi, K., Ishibashi, T., Inomata, H., & Ueno, H. (1995). Hypoxia-induced expression of vascular endothelial growth factor by retinal glial cells promotes in vitro angiogenesis. *Virchows Archiv*, 426, 479-486.
- Heesterbeek, T. J., Lorés-Motta, L., Hoyng, C. B., Lechanteur, Y. T., & den Hollander, A. I. (2020). Risk factors for progression of age-related macular degeneration. *Ophthalmic and Physiological Optics*, 40(2), 140-170.
- Heinrich, P. C., Castell, J. V., & Andus, T. (1990). Interleukin-6 and the acute phase response. *Biochemical journal*, 265(3), 621.
- Holtkamp, G. M., Kijlstra, A., Peek, R., & de Vos, A. F. (2001). Retinal pigment epithelium-immune system interactions: cytokine production and cytokine-induced changes. *Progress in Retinal and Eye Research*, 20(1), 29-48. [https://doi.org/10.1016/S1350-9462\(00\)00017-3](https://doi.org/10.1016/S1350-9462(00)00017-3)
- Hsieh, C. Y., Lin, J. N., Kang, T. Y., Wen, Y. H., Yu, S. H., Wu, C. C., & Wu, H. P. (2023). Otoprotective Effects of Fucoidan Reduce Cisplatin-Induced Ototoxicity in Mouse Cochlear UB/OC-2 Cells. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(4), 3561.
- Hu, J., Pauer, G. J., Hagstrom, S. A., Bok, D., DeBenedictis, M. J., Bonilha, V. L., ... & Radu, R. A. (2020). Evidence of complement dysregulation in outer retina of Stargardt disease donor eyes. *Redox biology*, 37, 101787.
- Huang, C.-Y., Wu, S.-J., Yang, W.-N., Kuan, A.-W., & Chen, C.-Y. (2016). Antioxidant activities of crude extracts of fucoidan extracted from *Sargassum glaucescens* by a compressional-puffing-hydrothermal extraction process. *Food Chemistry*, 197, 1121-1129. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.11.100>
- Huber, G., Heynen, S., Imsand, C., vom Hagen, F., Muehlriedel, R., Tanimoto, N., ... & Beck, S. C. (2010). Novel rodent models for macular research. *PloS One*, 5(10), e13403.
- Hutmacher, F. (2019). Why Is There So Much More Research on Vision Than on Any Other Sensory Modality? *Frontiers in psychology*, 10, 2246. <https://doi.org/10.3389/fpsyg.2019.02246>
- Ingram, N. T., Sampath, A. P., & Fain, G. L. (2016). Why are rods more sensitive than cones?. *The Journal of Physiology*, 594(19), 5415–5426. <https://doi.org/10.1113/JP272556>
- Ishii, Y., Yamaizumi, A., Kawakami, A., Islam, A., Choudhury, M. E., Takahashi, H., ... & Tanaka, J. (2015). Anti-inflammatory effects of noradrenaline on LPS-treated microglial cells: Suppression of NF $\kappa$ B nuclear translocation and subsequent STAT1 phosphorylation. *Neurochemistry International*, 90, 56-66.
- Jäättelä, M. (1999). Heat shock proteins as cellular lifeguards. *Annals of medicine*, 31(4), 261-271.
- Jacobs, M. D., & Harrison, S. C. (1998). Structure of an I $\kappa$ B $\alpha$ /NF- $\kappa$ B Complex. *Cell*, 95(6), 749-758. [https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(00\)81698-0](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(00)81698-0)
- Jaworek, J., Konturek, S. J., Macko, M., Kot, M., Szklarczyk, J., Leja-Szpak, A., Nawrot-Porabka, K., Stachura, J., Tomaszevska, R., Siwicki, A., & Pawlik, W. W. (2007). Endotoxemia in

- newborn rats attenuates acute pancreatitis at adult age. *Journal of Physiology and Pharmacology*, 58(1), 131-147. PMID: 17440232
- Jha, P., Bora, P. S., & Bora, N. S. (2016). The role of complement system in ocular diseases including uveitis and macular degeneration. *Molecular Immunology*, 73, 149-163. doi: 10.1016/j.molimm.2016.02.012.
- Ji, M. H. (1997). *Algae Chemistry*. Science Publishing House: Beijing, 14, 77-90.
- Jia, Y. P., Sun, L., Yu, H. S., Liang, L. P., Li, W., Ding, H., Song, X. B., & Zhang, L. J. (2017). The Pharmacological Effects of Lutein and Zeaxanthin on Visual Disorders and Cognition Diseases. *Molecules* (Basel, Switzerland), 22(4), 610. <https://doi.org/10.3390/molecules22040610>
- Joachim, S., & Strobel, J. M. (2014). *Neuroradiologie für MTRA/RT*. Stuttgart, Germany: Thieme. <https://doi.org/10.1055/b-003-125804>
- Joussen, A. M., & Bornfeld, N. (2009). The treatment of wet age-related macular degeneration. *Deutsches Arzteblatt international*, 106(18), 312–317. <https://doi.org/10.3238/arztebl.2009.0312>
- Jung, W. K., Lee, C. M., Lee, D. S., Na, G., Lee, D. Y., Choi, I., ... & Choi, I. W. (2014). The 15-deoxy- $\delta$ 12, 14-prostaglandin J2 inhibits LPS stimulated inflammation via enhancement of the platelet activating factor acetylhydrolase activity in human retinal pigment epithelial cells. *International Journal of Molecular Medicine*, 33(2), 449-456.
- Kabeerdoss, J., Goel, R., Mohan, H., & Danda, D. (2022). High expression of pro-inflammatory cytokine genes IL-1 $\beta$  and IL-1R2 upon TLR4 activation in Takayasu arteritis. *Rheumatology International*, 42(3), 535-543.
- Kaiser, P. K. (2006). Antivascular endothelial growth factor agents and their development: therapeutic implications in ocular diseases. *American journal of ophthalmology*, 142(4), 660-668.
- Kaiser, S. M., Arepalli, S., & Ehlers, J. P. (2021). Current and future anti-VEGF agents for neovascular age-related macular degeneration. *Journal of Experimental Pharmacology*, 13, 905-912. doi:10.2147/JEP.S259298
- Katta, S., Kaur, I., & Chakrabarti, S. (2009). The molecular genetic basis of age-related macular degeneration: an overview. *Journal of Genetics*, 88, 425-449.
- Kawai, T., Takeuchi, O., Fujita, T., Inoue, J. I., Muhlradt, P. F., Sato, S., ... & Akira, S. (2001). Lipopolysaccharide stimulates the MyD88-independent pathway and results in activation of IFN-regulatory factor 3 and the expression of a subset of lipopolysaccharide-inducible genes. *The Journal of Immunology*, 167(10), 5887-5894.
- Kawamoto, H., Miki, Y., Kimura, T., Tanaka, K., Nakagawa, T., Kawamukai, M., & Matsuda, H. (2006). Effects of fucoidan from Mozuku on human stomach cell lines. *Food Science and Technology Research*, 12(3), 218-222.
- Kawamura, S., & Tachibanaki, S. (2008). Rod and cone photoreceptors: molecular basis of the difference in their physiology. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 150(4), 369-377.
- Kellner, U., & Wachtlin, J. (2008). *Retina*. Stuttgart: Thieme. doi:10.1055/b-002-26638
- Keophiphat, M., Rouault, C., Divoux, A., Clément, K., & Lacasa, D. (2010). CCL5 promotes macrophage recruitment and survival in human adipose tissue. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*, 30(1), 39-45.
- Kim, H., Ahn, J. H., Song, M., Kim, D. W., Lee, T. K., Lee, J. C., ... & Park, J. H. (2019). Pretreated fucoidan confers neuroprotection against transient global cerebral ischemic injury in the gerbil

- hippocampal CA1 area via reducing of glial cell activation and oxidative stress. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 109, 1718-1727.
- Kim, J. O., Kim, K. L., Woo, S. J., & Park, S. G. (2021). A Fully Human Monoclonal Antibody Targeting c-KIT is a Potent Inhibitor of Choroidal Neovascularization in Murine Model of Neovascular Age-Related Macular Degeneration. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 62(8), 210-210.
- Kirsch, J., May, C., Lorke, D., Winkelmann, A., Schwab, W., Herrmann, G., & Funk, R. (2017). 2., über-arbeitete Auflage. Stuttgart: Thieme. doi:10.1055/b-004-135641
- Kishimoto, T. (1985). Factors affecting B-cell growth and differentiation. *Annual review of immunology*, 3(1), 133-157.
- Kishimoto, T. (2005). Interleukin-6: from basic science to medicine—40 years in immunology. *Annu. Rev. Immunol.*, 23, 1-21.
- Klettner, A. (2012). Oxidative stress induced cellular signaling in RPE cells. *Frontiers in Bioscience (Scholar edition)*, 4(2), 392-411. <https://doi.org/10.2741/275>
- Klettner, A. (2015). Altersabhängige Makuladegeneration (AMD). Biologie und Behandlung [Age-related macular degeneration - biology and treatment]. *Medizinische Monatsschrift für Pharmazeuten*, 38(7), 258–266.
- Klettner, A. (2015). The retinal pigment epithelium in the immune regulation of the retina. In A. Hogarth (Ed.), *Recent Advances in Eye Research* (pp. 31-52). Nova Publishers.
- Klettner, A. (2016). Fucoidan as a Potential Therapeutic for Major Blinding Diseases—A Hypothesis. *Marine Drugs*, 14(2). doi: 10.3390/md14020031
- Klettner, A. K. (2020). Retinal pigment epithelium cell culture. In *Retinal Pigment Epithelium in Health and Disease* (pp. 295-305). Springer, Cham.
- Klettner, A., & Miura, Y. (2019). Porcine RPE/Choroidal Explant Cultures. *Methods in Molecular Biology*, 1834, 109-118. [https://doi.org/10.1007/978-1-4939-8669-9\\_8](https://doi.org/10.1007/978-1-4939-8669-9_8)
- Klettner, A., & Roider, J. (2008). Comparison of bevacizumab, ranibizumab, and pegaptanib in vitro. Efficiency and possible additional pathways. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 49(10), 4523-4527. <https://doi.org/10.1167/iovs.08-2055>
- Klettner, A., & Roider, J. (2021). Retinal Pigment Epithelium Expressed Toll-like Receptors and Their Potential Role in Age-Related Macular Degeneration. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(16), 8387. <https://doi.org/10.3390/ijms22168387>
- Klettner, A., Brinkmann, A., Winkelmann, K., Käckenmeister, T., Hildebrandt, J., & Roider, J. (2020). Effect of long-term inflammation on viability and function of RPE cells. *Experimental eye research*, 200, 108214. <https://doi.org/10.1016/j.exer.2020.108214>
- Kolb, H. (2005). Phototransduction. In D. Purves, G. J. Augustine, D. Fitzpatrick, et al. (Eds.), *Neuroscience* (2nd ed.). Sunderland, MA: Sinauer Associates. Available from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK10806/>

- Koning-Backus, A. P. M. de, Buitendijk, G. H. S., Kiefte-de Jong, J. C., Colijn, J. M., Hof-man, A., Vingerling, J. R., et al. (2019). Intake of Vegetables, Fruit, and Fish is Beneficial for Age-Related Macular Degeneration. *American Journal of Ophthalmology*, 198, 70–79. <https://doi.org/10.1016/j.ajo.2018.09.036>
- Kopplin, G., Rokstad, A. M., Mélida, H., Bulone, V., Skjåk-Bræk, G., & Aachmann, F. L. (2018). Structural characterization of fucoidan from *Laminaria hyperborea*: Assessment of coagulation and inflammatory properties and their structure–function relationship. *ACS Applied Bio Materials*, 1(6), 1880-1892.
- Koyanagi, S., Tanigawa, N., Nakagawa, H., Soeda, S., & Shimeno, H. (2003). Oversulfation of fucoidan enhances its anti-angiogenic and antitumor activities. *Biochemical Pharmacology*, 65, 173-179.
- Kurji, K. H., Cui, J. Z., Lin, T., Harriman, D., Prasad, S. S., Kojic, L., & Matsubara, J. A. (2010). Microarray analysis identifies changes in inflammatory gene expression in response to amyloid- $\beta$  stimulation of cultured human retinal pigment epithelial cells. *Investigative ophthalmology & visual science*, 51(2), 1151-1163.
- Kutty, R., Nagineni, C., Samuel, W., Duncan, T., Vijayasarithy, C., Jaworski, C., & Redmond, T. M. (2013). Resveratrol Protects Human Retinal Pigment Epithelial Cells from Inflammatory Insults. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 54(15), 4989-4989.
- Kylin, H. (1913). Biochemistry of sea algae. *HZ Physiol. Chem.*, 83(171197), 3.
- Lamkanfi, M., & Dixit, V. M. (2014). Mechanisms and functions of inflammasomes. *Cell*, 157(5), 1013-1022. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2014.04.007>
- Lean, Q. Y., Eri, R. D., Fitton, J. H., Patel, R. P., & Gueven, N. (2015). Fucoidan Extracts Ameliorate Acute Colitis. *PLOS ONE*, 10(6), e0128453. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0128453>
- Lee, K. S., Cho, E., Weon, J. B., Park, D., Fréchet, M., Chajra, H., & Jung, E. (2020). Inhibition of UVB-Induced inflammation by *Laminaria japonica* extract via regulation of nc886-PKR pathway. *Nutrients*, 12(7), Article 1958.
- Lee, S. H., Soyoola, E., Chanmugam, P., Hart, S., Sun, W., Zhong, H., ... & Hwang, D. (1992). Selective expression of mitogen-inducible cyclooxygenase in macrophages stimulated with lipopolysaccharide. *Journal of Biological Chemistry*, 267(36), 25934-25938.
- Leung, Kar Wah; Barnstable, Colin J.; Tombran-Tink, Joyce (2009): Bacterial endotoxin activates retinal pigment epithelial cells and induces their degeneration through IL-6 and IL-8 autocrine signaling. In: *Molecular Immunology* 46 (7), S. 1374–1386. DOI: 10.1016/j.molimm.2008.12.001.
- Levin, L. A., Kaufman, P. L., & Alm, A. (Eds.). (2011). *Adler's Physiology of the Eye* (pp. 394-410). Mosby/Elsevier.
- Li, B., Lu, F., Wei, X., & Zhao, R. (2008). Fucoidan: Structure and Bioactivity. *Molecules*, 13(8), 1671–1695. <https://doi.org/10.3390/molecules13081671>
- Li, D. Y., Xu, R. Y., Zhou, W. Z., Sheng, X. B., Yang, A. Y., & Cheng, J. L. (2002). Effects of fucoidan extracted from brown seaweed on lipid peroxidation in mice. *Acta Nutrim. Sin*, 24, 389-392.

- Li, D. Y., Xu, Z., & Zhang, S. H. (1999). Prevention and cure of fucoidan of *L. japonica* on mice with hypercholesterolemia. *Food Science*, 20, 45-46.
- Li, D. Y., Xu, Z., Huang, L. M., Wang, H. B., & Zhang, S. H. (2001). Effect of fucoidan of *L. japonica* on rats with hyperlipidemia. *Food Science*, 22, 92-95.
- Li, H., & Sun, B. (2007). Toll-like receptor 4 in atherosclerosis. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 11(1), 88-95. <https://doi.org/10.1111/j.1582-4934.2007.00011.x>
- Li, H., Liu, B., Lian, L., Zhou, J., Xiang, S., Zhai, Y., ... & Hou, L. (2021). High dose expression of heme oxygenase-1 induces retinal degeneration through ER stress-related DDIT3. *Molecular Neurodegeneration*, 16(1), 1-17.
- Li, J. Q., Welchowski, T., Schmid, M., Mauschitz, M. M., Holz, F. G., & Finger, R. P. (2020). Prevalence and incidence of age-related macular degeneration in Europe: A systematic review and meta-analysis. *British Journal of Ophthalmology*, 104(8), 1077-1084. <https://doi.org/10.1136/bjophthalmol-2019-314422>
- Li, R., Xie, J., Xu, W., Zhang, L., Lin, H., & Huang, W. (2022). LPS-induced PTGS2 manipulates the inflammatory response through trophoblast invasion in preeclampsia via NF-κB pathway. *Reproductive Biology*, 22(4), Article 100696.
- Liang, F. Q., & Godley, B. F. (2003). Oxidative stress-induced mitochondrial DNA damage in human retinal pigment epithelial cells: a possible mechanism for RPE aging and age-related macular degeneration. *Experimental Eye Research*, 76(4), 397–403. [https://doi.org/10.1016/s0014-4835\(03\)00023-x](https://doi.org/10.1016/s0014-4835(03)00023-x)
- Liggett, S. B. (1999). Molecular and genetic basis of β2-adrenergic receptor function. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 104(2 Suppl), S42-S46. [https://doi.org/10.1016/S0091-6749\(99\)70272-1](https://doi.org/10.1016/S0091-6749(99)70272-1)
- Liles, M. R., Newsome, D. A., & Oliver, P. D. (1991). Antioxidant Enzymes in the Aging Human Retinal Pigment Epithelium. *Arch Ophthalmol*, 109(9), 1285–1288. <https://doi.org/10.1001/archopht.1991.01080090111033>
- Lin, Y., Qi, X., Liu, H., Xue, K., Xu, S., & Tian, Z. (2020). The anti-cancer effects of fucoidan: A review of both in vivo and in vitro investigations. *Cancer Cell International*, 20(1), 154.
- Lipovsky, A., Nitzan, Y., Gedanken, A., & Lubart, R. (2011). Antifungal activity of ZnO nanoparticles—the role of ROS mediated cell injury. *Nanotechnology*, 22(10), 105101.
- Liu, L., Heinrich, M., Myers, S., & Dworjanyn, S. A. (2012). Towards a better understanding of medicinal uses of the brown seaweed *Sargassum* in Traditional Chinese Medicine: a phytochemical and pharmacological review. *Journal of ethnopharmacology*, 142(3), 591–619. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2012.05.046>.
- Liu, M., Guo, S., Hibbert, J. M., Jain, V., Singh, N., Wilson, N. O., & Stiles, J. K. (2011). CXCL10/IP-10 in infectious diseases pathogenesis and potential therapeutic implications. *Cytokine & growth factor reviews*, 22(3), 121-130.

- Liutkeviciene, R., Vilkeviciute, A., Streleckiene, G., Kriauciuniene, L., Chaleckis, R., & Deltuva, V. P. (2017). Associations of cholestryl ester transfer protein (CETP) gene variants with predisposition to age-related macular degeneration. *Gene*, 636, 30-35. doi:10.1016/j.gene.2017.09.022
- Lu, L., Hackett, S. F., Mincey, A., Lai, H., & Campochiaro, P. A. (2006). Effects of different types of oxidative stress in RPE cells. *Journal of Cellular Physiology*, 206(1), 119-125.
- Lu, M., Kuroki, M., Amano, S., Tolentino, M., Keough, K., Kim, I., Bucala, R., & Adamis, A. P. (1998). Advanced glycation end products increase retinal vascular endothelial growth factor expression. *The Journal of clinical investigation*, 101(6), 1219–1224. <https://doi.org/10.1172/JCI1277>
- Lu, Y. C., Yeh, W. C., & Ohashi, P. S. (2008). LPS/TLR4 signal transduction pathway. *Cytokine*, 42(2), 145-151.
- Luo, C., Chen, M., Madden, A., & Xu, H. (2012). Expression of complement components and regulators by different subtypes of bone marrow-derived macrophages. *Inflammation*, 35, 1448-1461.
- Luo, C., Zhao, J., Madden, A., Chen, M., & Xu, H. (2013). Complement expression in retinal pigment epithelial cells is modulated by activated macrophages. *Experimental eye research*, 112, 93-101.
- Luo, L., Uehara, H., Zhang, X., Das, S. K., Olsen, T., Holt, D., ... & Ambati, B. K. (2013). Photoreceptor avascular privilege is shielded by soluble VEGF receptor-1. *Elife*, 2, e00324.
- Luttun, A., Tjwa, M., Moons, L., Wu, Y., Angelillo-Scherrer, A., Liao, F., ... & Carmeliet, P. (2002). Revascularization of ischemic tissues by PIGF treatment, and inhibition of tumor angiogenesis, arthritis and atherosclerosis by anti-Flt1. *Nature medicine*, 8(8), 831-840.
- Lutty, G., Grunwald, J., Majji, A. B., Uyama, M., & Yoneya, S. (1999). Changes in chorio-capillaris and retinal pigment epithelium in age-related macular degeneration. *Molecular Vision*, 5, 35.
- Mabeau, S., & Fleurence, J. (1993). Seaweed in food products: biochemical and nutritional aspects. *Trends in Food Science & Technology*, 4(4), 103-107.
- MacMicking, J., Xie, Q. W., & Nathan, C. (1997). Nitric oxide and macrophage function. *Annual Review of Immunology*, 15(1), 323-350.
- Mahabadi, N., & Al Khalili, Y. (2019). Neuroanatomy, retina.
- Marmorstein, A. D., & Marmorstein, L. Y. (2007). The challenge of modeling macular degeneration in mice. *Trends in Genetics*, 23(5), 225-231.
- Marsland, B. J., Bättig, P., Bauer, M., Ruedl, C., Lässing, U., Beerli, R. R., ... & Bachmann, M. F. (2005). CCL19 and CCL21 induce a potent proinflammatory differentiation program in licensed dendritic cells. *Immunity*, 22(4), 493-505.
- Martinon, F., & Tschopp, J. (2007). Inflammatory caspases and inflammasomes: master switches of inflammation. *Cell death and differentiation*, 14(1), 10–22. <https://doi.org/10.1038/sj.cdd.4402038>
- Maruyama, H., Tamauchi, H., Hashimoto, M., & Nakano, T. (2005). Suppression of Th2 immune responses by mekabu fucoidan from Undaria pinnatifida sporophylls. *International archives of allergy and immunology*, 137(4), 289-294.

- Matou, S., Helle, D., Chabut, D., Bros, A., & Fischer, A. M. (2002). Effect of fucoidan on fibroblast growth factor-2-induced angiogenesis in vitro. *Thrombosis Research*, 106(4-5), 213-221.
- Matsushima, K., Yang, D., & Oppenheim, J. J. (2022). Interleukin-8: An evolving chemokine. *Cytokine*, 153, 155828.
- Matzinger, P. (2002). The danger model: a renewed sense of self. *Science*, 296(5566), 301-305.
- McCaffrey, T. A., Falcone, D. J., Borth, W., Brayton, C. F., & Weksler, B. B. (1992). Fucoidan is a non-anticoagulant inhibitor of intimal hyperplasia. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 184(2), 773-781. [https://doi.org/10.1016/0006-291X\(92\)90657-7](https://doi.org/10.1016/0006-291X(92)90657-7)
- Memoli, S., Napolitano, A., d'Ischia, M., Misuraca, G., Palumbo, A., & Prota, G. (1997). Diffusible melanin-related metabolites are potent inhibitors of lipid peroxidation. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Lipids and Lipid Metabolism*, 1346(1), 61-68.
- Merle, N. S., Church, S. E., Fremeaux-Bacchi, V., & Roumenina, L. T. (2015). Complement system part I—molecular mechanisms of activation and regulation. *Frontiers in Immunology*, 6, 262.
- Mildenberger, J., Johansson, I., Sergin, I., Kjøbli, E., Damås, J. K., Razani, B., ... & Bjørkøy, G. (2017). N-3 PUFAAs induce inflammatory tolerance by formation of KEAP1-containing SQSTM1/p62-bodies and activation of NFE2L2. *Autophagy*, 13(10), 1664-1678.
- Mizuno, M., Nishitani, Y., Hashimoto, T., & Kanazawa, K. (2009). Different suppressive effects of fucoidan and lentinan on IL-8 mRNA expression in in vitro gut inflammation. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 73(10), 2324-2325.
- Mo, J.-S., Matsukawa, A., Ohkawara, S., & Yoshinaga, M. (1998). Involvement of TNF  $\alpha$ , IL-1 $\beta$  and IL-1 receptor antagonist in LPS-induced rabbit uveitis. *Experimental Eye Research*, 66(5), 547-557. <https://doi.org/10.1006/exer.1997.0451>
- Murphy, K., & Weaver, C. (2017). *Janeway's Immunobiology* (9th ed.). Garland Science.
- Nardella, A., Chaubet, F., Boisson-Vidal, C., Blondin, C., Durand, P., & Jozefonvicz, J. (1996). Anticoagulant low molecular weight fucans produced by radical process and ion exchange chromatography of high molecular weight fucans extracted from the brown seaweed *Ascophyllum nodosum*. *Carbohydrate Research*, 289, 201-208. [https://doi.org/10.1016/0008-6215\(96\)00110-3](https://doi.org/10.1016/0008-6215(96)00110-3)
- Nencioni, A., Schwarzenberg, K., Brauer, K. M., Schmidt, S. M., Ballestrero, A., Grunebach, F., & Brossart, P. (2006). Proteasome inhibitor bortezomib modulates TLR4-induced dendritic cell activation. *Blood*, 108(2), 551-558.
- Neville, L. F., Mathiak, G., & Bagasra, O. (1997). The immunobiology of interferon-gamma inducible protein 10 kD (IP-10): a novel, pleiotropic member of the CXC chemokine superfamily. *Cytokine & growth factor reviews*, 8(3), 207-219.
- Newsome, D. A., Miceli, M. V., Liles, M. R., Tate, D. J., & Oliver, P. D. (1994). Antioxidants in the retinal pigment epithelium. *Progress in Retinal and Eye Research*, 13(1), 101-123. [https://doi.org/10.1016/1350-9462\(94\)90006-X](https://doi.org/10.1016/1350-9462(94)90006-X)

- Nguyen, K. H., Patel, B. C., & Tadi, P. (2021). Anatomy, head and neck, eye retina. In StatPearls [Internet]. StatPearls Publishing.
- Nishino, T., & Nagumo, T. (1987). Sugar constituents and blood-anticoagulant activities of fucose-containing sulfated polysaccharides in nine brown seaweed species. Journal of the Agricultural Chemical Society of Japan.
- Noworyta-Sokołowska, K., Górska, A., & Gołembowska, K. (2013). LPS-induced oxidative stress and inflammatory reaction in the rat striatum. *Pharmacological reports*, 65(4), 863-869.
- Oh, H., Takagi, H., Takagi, C., Suzuma, K., Otani, A., Ishida, K., ... & Honda, Y. (1999). The potential angiogenic role of macrophages in the formation of choroidal neovascular membranes. *Investigative ophthalmology & visual science*, 40(9), 1891-1898.
- Ohta, K., Ishida, Y., Fukui, A., Mizuta, K., Nishi, H., Takechi, M., & Kamata, N. (2014). Toll-like receptor (TLR) expression and TLR mediated interleukin-8 production by human submandibular gland epithelial cells. *Molecular Medicine Reports*, 10, 2377-2382. <https://doi.org/10.3892/mmr.2014.2507>
- Oike, Y., Yasunaga, K., & Suda, T. (2004). Angiopoietin-related/angiopoietin-like proteins regulate angiogenesis. *International journal of hematology*, 80, 21-28.
- O'Leary, R., Rerek, M., & Wood, E. J. (2004). Fucoidan modulates the effect of transforming growth factor (TGF)- $\beta$ 1 on fibroblast proliferation and wound repopulation in in vitro models of dermal wound repair. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 27(2), 266-270.
- Origassa, C. S. T., & Câmara, N. O. S. (2013). Cytoprotective role of heme oxygenase-1 and heme degradation derived end products in liver injury. *World journal of hepatology*, 5(10), 541.
- Ozal, S. A., Turkekul, K., Gurlu, V., Guclu, H., & Erdogan, S. (2018). Esculetin protects human retinal pigment epithelial cells from lipopolysaccharide-induced inflammation and cell death. *Current Eye Research*, 43(9), 1169-1176.
- Palestine, A. G., Wagner, B. D., Patnaik, J. L., Baldermann, R., Mathias, M. T., Mandava, N., & Lynch, A. M. (2021). Plasma cc chemokine concentrations in intermediate age-related macular degeneration. *Frontiers in Medicine*, 8, 710595.
- Park, H. Y., Han, M. H., Park, C., Jin, C. Y., Kim, G. Y., Choi, I. W., ... & Choi, Y. H. (2011). Anti-inflammatory effects of fucoidan through inhibition of NF- $\kappa$ B, MAPK and Akt activation in lipopolysaccharide-induced BV2 microglia cells. *Food and Chemical Toxicology*, 49(8), 1745-1752.
- Patruno, R., Marech, I., Zizzo, N., Ammendola, M., Nardulli, P., Gadaleta, C., ... & Ranieri, G. (2014). c-Kit expression, angiogenesis, and grading in canine mast cell tumour: a unique model to study c-Kit driven human malignancies. *BioMed research international*, 2014.
- Peirson, S. N., Brown, L. A., Pothecary, C. A., Benson, L. A., & Fisk, A. S. (2018). Light and the laboratory mouse. *Journal of neuroscience methods*, 300, 26-36.
- Peyman, G. A., & Bok, D. (1972). Peroxidase diffusion in the normal and laser-coagulated primate retina. *Invest. Ophthalmol.*, 11, 35-45.

- Peyman, G. A., Spitznas, M., & Straatsma, B. R. (1971). Peroxidase diffusion in the normal and photocoagulated retina. *Investigative ophthalmology*, 10(3), 181-189.
- Peynshaert, K., Devoldere, J., Forster, V., Poly(I:C)aud, S., Vanhove, C., De Smedt, S. C., & Remaut, K. (2017). Toward smart design of retinal drug carriers: a novel bovine retinal explant model to study the barrier role of the vitreoretinal interface. *Drug delivery*, 24(1), 1384–1394. <https://doi.org/10.1080/10717544.2017.1375578>
- Pitkänen, L., Pelkonen, J., Ruponen, M., Rönkkö, S., & Urtti, A. (2004). Neural retina limits the nonviral gene transfer to retinal pigment epithelium in an in vitro bovine eye model. *The AAPS journal*, 6(3), e25. <https://doi.org/10.1208/aapsj060325>
- Plate, K. H., Breier, G., Weich, H. A., Mennel, H. D., & Risau, W. (1994). Vascular endothelial growth factor and glioma angiogenesis: coordinate induction of VEGF receptors, distribution of VEGFprotein and possible in vivo regulatory mechanisms. *International journal of cancer*, 59(4), 520-529.
- Polat, O., İnan, S., Özcan, S., Doğan, M., Küsbeci, T., Yavaş, G. F., & İnan, Ü. Ü. (2017). Factors affecting compliance to intravitreal anti-vascular endothelial growth factor therapy in patients with age-related macular degeneration. *Turkish Journal of Ophthalmology*, 47(4), 205.
- Poltorak, A., He, X., Smirnova, I., Liu, M. Y., Huffel, C. V., Du, X., ... & Beutler, B. (1998). Defective LPS signaling in C3H/HeJ and C57BL/10ScCr mice: mutations in Tlr4 gene. *Science*, 282(5396), 2085-2088.
- Pongratz, G., & Straub, R. H. (2013). Role of peripheral nerve fibres in acute and chronic inflammation in arthritis. *Nature Reviews Rheumatology*, 9(2), 117-126.
- Puntambekar, S. S., Davis, D. S., Hawel III, L., Crane, J., Byus, C. V., & Carson, M. J. (2011). LPS-induced CCL2 expression and macrophage influx into the murine central nervous system is polyamine-dependent. *Brain, behavior, and immunity*, 25(4), 629-639.
- Qin, L., Liu, Y., Wang, T., Wei, S. J., Block, M. L., Wilson, B., Liu, B., & Hong, J. S. (2004). NADPH oxidase mediates lipopolysaccharide-induced neurotoxicity and proinflammatory gene expression in activated microglia. *The Journal of Biological Chemistry*, 279(2), 1415–1421. <https://doi.org/10.1074/jbc.M307657200>
- Qureshi, S. T., Larivière, L., Leveque, G., Clermont, S., Moore, K. J., Gros, P., & Malo, D. (1999). Endotoxin-tolerant mice have mutations in Toll-like receptor 4 (Tlr4). *The Journal of experimental medicine*, 189(4), 615-625.
- Radu, R. A., Hu, J., Yuan, Q., Welch, D. L., Makshanoff, J., Lloyd, M., ... & Bok, D. (2011). Complement system dysregulation and inflammation in the retinal pigment epithelium of a mouse model for Stargardt macular degeneration. *Journal of Biological Chemistry*, 286(21), 18593-18601.
- Rana, T., Shinde, V. M., Starr, C. R., Kruglov, A. A., Boitet, E. R., Kotla, P., . . . Bezrukov, S. M. (2019). Topological analysis of ion channel, transporter, and receptor localization and expression in the plasma membrane. *Biological Research*, 52(1)

- Rathkey, J. K., Benson, B. L., Chirieleison, S. M., Yang, J., Xiao, T. S., & Dubyak, G. R. (2017). Live-cell visualization of gasdermin D-driven pyroptotic cell death. *Journal of Biological Chemistry*, 292(35), 14649-14658. <https://doi.org/10.1074/jbc.M117.798551>
- Ratnapriya, R., Acar, I. E., Geerlings, M. J., Branham, K., Kwong, A., Saksens, N. T., ... & den Hollander, A. I. (2020). Family-based exome sequencing identifies rare coding variants in age-related macular degeneration. *Human Molecular Genetics*, 29(12), 2022-2034.
- Rehman, I., Hazhirkarzar, B., & Patel, B. C. (2022). Anatomy, Head and Neck, Eye. In StatPearls. StatPearls Publishing.
- Rein, D. B., Wittenborn, J. S., Burke-Conte, Z., Gulia, R., Robalik, T., Ehrlich, J. R., Lundeen, E. A., & Flaxman, A. D. (2022). Prevalence of Age-Related Macular Degeneration in the United States in 2019. *JAMA Ophthalmology*. Advance online publication. <https://doi.org/10.1001/jamaophthalmol.2022.0379>
- Richardson, M. R., Robbins, E. P., Vemula, S., Critser, P. J., Whittington, C., Voytik-Harbin, S. L., & Yoder, M. C. (2014). Angiopoietin-like protein 2 regulates endothelial colony forming cell vasculogenesis. *Angiogenesis*, 17, 675-683.
- Ricklin, D., & Lambris, J. D. (2007). Complement-targeted therapeutics. *Nature Biotechnology*, 25(11), 1265-1275. <https://doi.org/10.1038/nbt1342>
- Ricklin, D., Mastellos, D. C., Reis, E. S., & Lambris, J. D. (2018). The renaissance of complement therapeutics. *Nature Reviews Nephrology*, 14(1), 26-47.
- Ricklin, D., Reis, E. S., & Lambris, J. D. (2016). Complement in disease: a defence system turning offensive. *Nature Reviews Nephrology*, 12(7), 383-401. <https://doi.org/10.1038/nrneph.2016.70>
- Saddala, M. S., Lennikov, A., Mukwaya, A., Fan, L., Hu, Z., & Huang, H. (2019). Transcriptome-wide analysis of differentially expressed chemokine receptors, SNPs, and SSRs in the age-related macular degeneration. *Human Genomics*, 13, 1-14.
- Saharinen, P., Eklund, L., & Alitalo, K. (2017). Therapeutic targeting of the angiopoietin-TIE pathway. *Nature Reviews Drug Discovery*, 16(9), 635-661.
- Saita, K., Moriuchi, Y., Iwagawa, T., Aihara, M., Takai, Y., Uchida, K., & Watanabe, S. (2022). Roles of CSF2 as a modulator of inflammation during retinal degeneration. *Cytokine*, 158, 155996.
- Saito, A., Yoneda, M., Yokohama, S., Okada, M., Haneda, M., & Nakamura, K. (2006). Fucoidan prevents concanavalin A-induced liver injury through induction of endogenous IL-10 in mice. *Hepatology Research*, 35(3), 190-198.
- Sarna, T., Burke, J. M., Korytowski, W., Różanowska, M., Skumatz, C. M., Zaręba, A., & Zaręba, M. (2003). Loss of melanin from human RPE with aging: possible role of melanin photooxidation. *Experimental eye research*, 76(1), 89-98.
- Sawa, Y., Ueki, T., Hata, M., Iwasawa, K., Tsuruga, E., Kojima, H., Ishikawa, H., & Yoshida, S. (2008). LPS-induced IL-6, IL-8, VCAM-1, and ICAM-1 expression in human lymphatic endotheli-um. The

- journal of histochemistry and cytochemistry: official journal of the Histochemistry Society, 56(2), 97–109. <https://doi.org/10.1369/jhc.7A7299.2007>
- Saxena, S., Shukla, D., Saxena, S., Khan, Y. A., Singh, M., Bansal, A., & et al. (2010). Hypoxia preconditioning by cobalt chloride enhances endurance performance and protects skeletal muscles from exercise-induced oxidative damage in rats. *Acta Physiologica (Oxford)*, 200, 249-263.
- Schmidt, W. N., Mathahs, M. M., & Zhu, Z. (2012). Heme and HO-1 inhibition of HCV, HBV, and HIV. *Frontiers in pharmacology*, 3, 129.
- Schnichels, S., Kiebler, T., Hurst, J., Maliha, A. M., Löscher, M., Dick, H. B., ... & Joachim, S. C. (2019). Retinal organ cultures as alternative research models. *Alternatives to Laboratory Animals*, 47(1), 19-29.
- Scott, A. W., Bressler, N. M., Ffolkes, S., Wittenborn, J. S., & Jorkasky, J. (2016). Public Attitudes About Eye and Vision Health. *JAMA Ophthalmology*, 134(10), 1111-1118. <https://doi.org/10.1001/jamaophthalmol.2016.2627>
- Sherwood, L (2010), Fundamentals of Human Physiology, Brooks/Cole Pub Co.
- Shibata, H., Kimura-Takagi, I., Nagaoka, M., Hashimoto, S., Aiyama, R., Iha, M., ... & Yokokura, T. (2000). Properties of fucoidan from Cladosiphon okamuranus tokida in gastric mucosal protection. *Biofactors*, 11(4), 235-245.
- Shibuya, M. (2002). Vascular endothelial growth factor receptor family genes: when did the three genes phylogenetically segregate?
- Six, D. A., & Dennis, E. A. (2000). The expanding superfamily of phospholipase A(2) enzymes: classification and characterization. *Biochimica et biophysica acta*, 1488(1-2), 1–19. [https://doi.org/10.1016/s1388-1981\(00\)00105-0](https://doi.org/10.1016/s1388-1981(00)00105-0)
- Skeie, J. M., Zeng, S., Faidley, E. A., & Mullins, R. F. (2011). Angiogenin in age-related macular degeneration. *Molecular vision*, 17, 576.
- Skerka, C., & Zipfel, P. F. (2008). Complement factor H related proteins in immune diseases. *Vaccine*, 26 Suppl 8, I9–I14. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2008.11.021>
- Skinner, R. A., Gibson, R. M., Rothwell, N. J., Pinteaux, E., & Penny, J. I. (2009). Transport of interleukin-1 across cerebromicrovascular endothelial cells. *British journal of pharmacology*, 156(7), 1115-1123.
- Skipor, J., Kowalewska, M., Szczepkowska, A., Majewska, A., Misztal, T., Jalynski, M., ... & Zabek, K. (2017). Plasma and cerebrospinal fluid interleukin-1 $\beta$  during lipopolysaccharide-induced systemic inflammation in ewes implanted or not with slow-release melatonin. *Journal of animal science and biotechnology*, 8, 1-8.
- Skipor, J., Szczepkowska, A., Kowalewska, M., Domżalska, M., Herman, A. P., & Krawczyńska, A. (2021). Photoperiod alters the choroid plexus response to LPS-induced acute inflammation in ewes. *Annals of Animal Science*, 21(2), 497-512.

- Smith, W. L., Garavito, R. M., & DeWitt, D. L. (1996). Prostaglandin endoperoxide H synthases (cyclooxygenases)-1 and -2. *Journal of Biological Chemistry*, 271, 33157–33160.
- Snell, R. S., & Lemp, M. A. (2013). Clinical anatomy of the eye. John Wiley & Sons.
- Soeda, S., Shibata, Y., & Shimeno, H. (1997). Inhibitory effect of oversulfated fucoidan on tube formation by human vascular endothelial cells. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 20(11), 1131-1135.
- Song, J., Han, D., Lee, H., Kim, D. J., Cho, J. Y., Park, J. H., & Seok, S. H. (2020). A comprehensive proteomic and phosphoproteomic analysis of retinal pigment epithelium reveals multiple pathway alterations in response to the inflammatory stimuli. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(9), 3037.
- Sonpavde, G., Hutson, T. E., & Sternberg, C. N. (2008). Pazopanib, a potent orally administered small-molecule multitargeted tyrosine kinase inhibitor for renal cell carcinoma. *Expert opinion on investigational drugs*, 17(2), 253-261.
- Soria, G., & Ben-Baruch, A. (2008). The inflammatory chemokines CCL2 and CCL5 in breast cancer. *Cancer letters*, 267(2), 271-285.
- Springer, T. A. (1994). Traffic signals for lymphocyte recirculation and leukocyte emigration: The Springer, T. A. (1994). Traffic signals for lymphocyte recirculation and leukocyte emigration: The multistep paradigm. *Cell*, 76(2), 301-314. [https://doi.org/10.1016/0092-8674\(94\)90337-9](https://doi.org/10.1016/0092-8674(94)90337-9).
- Srinivasan, S., Swaminathan, G., Kulothungan, V., Ganesan, S., Sharma, T., & Raman, R. (2017). Age-related macular degeneration in a South Indian population, with and without diabetes. *Eye (Lond)*., 31(8), pp. 1176-1183.
- Srivastava, P. (2002). Interaction of heat shock proteins with peptides and antigen presenting cells: chaperoning of the innate and adaptive immune responses. *Annual review of immunology*, 20, 395–425. <https://doi.org/10.1146/annurev.immunol.20.100301.064801>
- St Clair, E. W., Wilkinson, W. E., Lang, T., Sanders, L., Misukonis, M. A., Gilkeson, G. S., ... & Weinberg, J. B. (1996). Increased expression of blood mononuclear cell nitric oxide synthase type 2 in rheumatoid arthritis patients. *The Journal of experimental medicine*, 184(3), 1173-1178.
- Sternberg, P., Davidson, P. C., Jones, D. P., Hagen, T. M., Reed, R. L., & Drews-Botsch, C. (1993). Protection of retinal pigment epithelium from oxidative injury by glutathione and precursors. *Investigative ophthalmology & visual science*, 34(13), 3661-3668.
- Stewart, T. J., & Smyth, M. J. (2009). Chemokine–chemokine receptors in cancer immunotherapy.
- Stowell, N. C., Seideman, J., Raymond, H. A., Smalley, K. A., Lamb, R. J., Egenolf, D. D., ... & Das, A. M. (2009). Long-term activation of TLR3 by Poly(I:C) induces inflammation and impairs lung function in mice. *Respiratory research*, 10(1), 1-14.
- Strauss, O. (2011). The Retinal Pigment Epithelium. In H. Kolb (Ed.), *Webvision: The Organization of the Retina and Visual System*. University of Utah Health Sciences Center.

- Strickland, I., & Ghosh, S. (2006). Use of cell permeable NBD peptides for suppression of inflammation. *Annals of the rheumatic Diseases*, 65 Suppl 3, iii75-82.
- Sullivan, K. E., & Grumach, A. S. (2014). Innate immunity and its disorders. In N. F. Adkinson Jr, B. S. Bochner, A. W. Burks, W. W. Busse, S. Holgate, & L. M. Lichtenstein (Eds.), *Middleton's allergy: Principles and practice* (8th ed., pp. 110-131.e1). Elsevier Saunders.
- Sweet, M. J., & Hume, D. A. (1996). Endotoxin signal transduction in macrophages. *Journal of leukocyte biology*, 60(1), 8-26.
- Szaflik, J. P., Janik-Papis, K., Synowiec, E., Ksiazek, D., Zaras, M., Wozniak, K., ... & Szaflik, J. (2009). DNA damage and repair in age-related macular degeneration. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 669(1), 169-176. <https://doi.org/10.1016/j.mrfmmm.2009.06.008>
- Tamaru, M., Tomura, K., Sakamoto, S., Tezuka, K., Tamatani, T., & Narumi, S. (1998). Leukocyte accumulation promotes the development of choroidal neovascularization in a mouse model of neovascular age-related macular degeneration. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 18(8), 1292-1303. <https://doi.org/10.1161/01.ATV.18.8.1292>
- Tan, W., Zou, J., Yoshida, S., Jiang, B., & Zhou, Y. (2020). The Role of Inflammation in Age-Related Macular Degeneration. *International Journal of Biological Sciences*, 16(15), 2989–3001. <https://doi.org/10.7150/ijbs.49890>
- Tang, Z., Ju, Y., Dai, X., Ni, N., Liu, Y., Zhang, D., ... & Gu, P. (2021). HO-1-mediated ferroptosis as a target for protection against retinal pigment epithelium degeneration. *Redox biology*, 43, 101971.
- Tanoue, T., Nishitani, Y., Kanazawa, K., Hashimoto, T., & Mizuno, M. (2008). In vitro model to estimate gut inflammation using co-cultured Caco-2 and RAW264.7 cells. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 374(3), 565-569.
- Tarallo, V., Hirano, Y., Gelfand, B. D., Dridi, S., Kerur, N., Kim, Y., Cho, W. G., Kaneko, H., Fowler, B. J., Bogdanovich, S., Albuquerque, R. J. C., Hauswirth, W. W., Chiodo, V. A., Kugel, J. F., Goodrich, J. A., Ponicsan, S. L., Chaudhuri, G., Murphy, M. P., Dunaief, J. L., Ambati, B. K., Ogura, Y., & Yoo, J. W. (2016). DICER1 loss and Alu RNA induce age-related macular degeneration via the NLRP3 inflammasome and MyD88. *Cell*, 167(3), 1-18. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2016.10.026>
- Tawarayama, H., Suzuki, N., Inoue-Yanagimachi, M., Himori, N., Tsuda, S., Sato, K., ... & Nakazawa, T. (2022). Glutathione trisulfide prevents lipopolysaccharide-induced inflammatory gene expression in retinal pigment epithelial cells. *Ocular Immunology and Inflammation*, 30(4), 789-800.
- Thomas, C. N., Sim, D. A., Lee, W. H., Alfahad, N., Dick, A. D., Denniston, A. K., & Hill, L. J. (2022). Emerging therapies and their delivery for treating age-related macular degeneration. *British Journal of Pharmacology*, 179(9), 1908–1937. DOI: 10.1111/bph.15459.
- Thornberry, N. A., & Lazebnik, Y. (1998). Caspases: enemies within. *Science*, 281(5381), 1312-1316. <https://doi.org/10.1126/science.281.5381.1312>

- Tokarz, P., Kaarniranta, K., & Blasiak, J. (2013). Role of antioxidant enzymes and small molecular weight antioxidants in the pathogenesis of age-related macular degeneration (AMD). *Biogerontology*, 14, 461-482.
- Vaday, G. G., Peehl, D. M., Kadam, P. A., & Lawrence, D. M. (2006). Expression of CCL5 (RANTES) and CCR5 in prostate cancer. *The Prostate*, 66(2), 124-134.
- Van Leeuwen, E. M., Emri, E., Merle, B. M. J., Colijn, J. M., Kersten, E., Cougnard-Gregoire, A., ... & Delcourt, C. (2018). A new perspective on lipid research in age-related macular degeneration. *Progress in Retinal and Eye Research*, 67, 56-86. doi:10.1016/j.preteyeres.2018.04.006
- Vasanthakumar, A., & Kallies, A. (2019). Interleukin (IL)-33 and the IL-1 family of cytokines—regulators of inflammation and tissue homeostasis. *Cold Spring Harbor perspectives in biology*, 11(3), a028506.
- Veena, C. K., Josephine, A., Preetha, S. P., Varalakshmi, P., & Sundarapandian, R. (2006). Renal peroxidative changes mediated by oxalate: the protective role of fucoidan. *Life Sciences*, 79(19), 1789-1795.
- Vijay, R., Hua, X., Meyerholz, D. K., Miki, Y., Yamamoto, K., Gelb, M., Murakami, M., & Perlman, S. (2015). Critical role of phospholipase A2 group IID in age-related susceptibility to severe acute respiratory syndrome-CoV infection. *The Journal of experimental medicine*, 212(11), 1851–1868. <https://doi.org/10.1084/jem.20150632>
- Voboril, R., Hochwald, S. N., Li, J., Brank, A., Weberova, J., Wessels, F., ... & MacKay, S. L. (2004). Inhibition of NF-Kappa B augments sensitivity to 5-Fluorouracil/Folinic acid in colon cancer1. *Journal of Surgical Research*, 120(2), 178-188.
- Vyawahare, H., & Shinde, P. (2022). Age-Related Macular Degeneration: Epidemiology, Pathophysiology, Diagnosis, and Treatment. *Cureus*, 14(9), e29583. <https://doi.org/10.7759/cureus.29583>
- Wang, F., Schmidt, H., Pavleska, D., Wermann, T., Seekamp, A., & Fuchs, S. (2017). Crude fucoidan extracts impair angiogenesis in models relevant for bone regeneration and osteosarcoma via reduction of VEGF and SDF-1. *Marine Drugs*, 15(6), 186.
- Wang, F., Xiao, Y., Neupane, S., Ptak, S. H., Römer, R., Xiong, J., ... & Fuchs, S. (2021). Influence of fucoidan extracts from different fucus species on adult stem cells and molecular mediators in in vitro models for bone formation and vascularization. *Marine Drugs*, 19(4), 194.
- Wang, G. (2014). Chromosome 10q26 locus and age-related macular degeneration: a progress update. *Experimental Eye Research*, 119, 1-7. <https://doi.org/10.1016/j.exer.2013.11.009>
- Wang, J., Geng, L., Yue, Y., & Zhang, Q. (2019). Use of fucoidan to treat renal diseases: A review of 15 years of clinic studies. *Prog. Mol. Biol. Transl. Sci.*, 163, 95-111. doi: 10.1016/bs.pmbts.2019.03.011

- Wang, J., Zhang, Q., Zhang, Z., & Li, Z. (2008). Antioxidant activity of sulfated polysaccharide fractions extracted from *Laminaria japonica*. International Journal of Biological Macromolecules, 42(2), 127-132. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2007.10.001>
- Wang, J., Zhang, Q., Zhang, Z., Song, H., & Li, P. (2010). Potential antioxidant and anticoagulant capacity of low molecular weight fucoidan fractions extracted from *Laminaria japonica*. International Journal of Biological Macromolecules, 46(1), 6-12. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2009.09.013>
- Wang, N., & Hebert, D. N. (2006). Tyrosinase maturation through the mammalian secretory pathway: bringing color to life. Pigment cell research, 19(1), 3-18.
- Wang, T., Zhang, X., & Li, J. J. (2002). The role of NF- $\kappa$ B in the regulation of cell stress responses. International Immunopharmacology, 2(11), 1509-1520. [https://doi.org/10.1016/S1567-5769\(02\)00058-9](https://doi.org/10.1016/S1567-5769(02)00058-9)
- Wang, W. T., Zhou, J. H., Xing, S. T., & Guan, H. S. (1994). Immunomodulating action of marine algae sulfated polysaccharides on normal and immunosuppressed mice. Chinese Journal of Pharmacology and Toxicology, 8, 199-199.
- Wang, Y., Xing, M., Cao, Q., Ji, A., Liang, H., & Song, S. (2019). Biological activities of fucoidan and the factors mediating its therapeutic effects: A review of recent studies. Marine Drugs, 17(3), 183. <https://doi.org/10.3390/md17030183>
- Wiencke, A. K., Kiilgaard, J. F., Nicolini, J., Bundgaard, M., Röpke, C., & La Cour, M. (2003). Growth of cultured porcine retinal pigment epithelial cells. Acta Ophthalmologica Scandinavica, 81(2), 170-176. <https://doi.org/10.1034/j.1600-0420.2003.00030.x>
- Williams AF: The immunoglobulin superfamily takes shape (news). Nature (Lond) 1984;308(5954):12-13.
- Winkler, B., Kapousta-Bruneau, N., Arnold, M., & Green, D. (1999). Effects of inhibiting glutamine synthetase and blocking glutamate uptake on b-wave generation in the isolated rat retina. Visual Neuroscience, 16(2), 345-353. doi:10.1017/S095252389916214X
- Winnall, W. R., Ali, U., O'Bryan, M. K., Hirst, J. J., Whiley, P. A., Muir, J. A., & Hedger, M. P. (2007). Constitutive expression of prostaglandin-endoperoxide synthase 2 by somatic and spermatogenic cells is responsible for prostaglandin E2 production in the adult rat testis. Biology of Reproduction, 76(5), 759-768.
- Wong, W. L., Su, X., Li, X., Cheung, C. M. G., Klein, R., Cheng, C. Y., & Wong, T. Y. (2014). Global Prevalence of Age-related Macular Degeneration and Disease Burden Projection for 2020 and 2040: A Systematic Review and Meta-Analysis. The Lancet Global Health, 2(2), 106-116. [https://doi.org/10.1016/S2214-109X\(13\)70145-1](https://doi.org/10.1016/S2214-109X(13)70145-1)
- Wooff, Y., Fernando, N., Wong, J. H., Dietrich, C., Aggio-Bruce, R., Chu-Tan, J. A., ... & Natoli, R. (2020). Caspase-1-dependent inflammasomes mediate photoreceptor cell death in photo-oxidative damage-induced retinal degeneration. Scientific Reports, 10(1), 2263. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-59037-w>

- Wright, S. D. (1999). Toll, a new piece in the puzzle of innate immunity. *The Journal of experimental medicine*, 189(4), 605-609.
- Wu, J., Peachey, N. S., & Marmorstein, A. D. (2004). Light-evoked responses of the mouse retinal pigment epithelium. *Journal of neurophysiology*, 91(3), 1134-1142.
- Yang, C., Chung, D., Shin, I. S., Lee, H., Kim, J., Lee, Y., & You, S. (2008). Effects of molecular weight and hydrolysis conditions on anticancer activity of fucoidans from sporophyll of Undaria pinnatifida. *International Journal of Biological Macromolecules*, 43(5), 433-437. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2008.08.006>
- Yoshida, N., Ikeda, Y., Notomi, S., Ishikawa, K., Murakami, Y., Hisatomi, T., Enaida, H., & Ishibashi, T. (2013). Clinical evidence of sustained chronic inflammatory reaction in retinitis pigmentosa. *Ophthalmology*, 120(1), 100–105. <https://doi.org/10.1016/j.ophtha.2012.07.006>
- Yu, L., Dong, J., Wang, Y., Zhang, P., Liu, Y., Zhang, L., ... & Song, C. (2019). Porcine epidemic diarrhea virus nsp4 induces pro-inflammatory cytokine and chemokine expression inhibiting viral replication in vitro. *Archives of virology*, 164, 1147-1157.
- Yu, Y., Reynolds, R., Rosner, B., Daly, M. J., & Seddon, J. M. (2012). Prospective assessment of genetic effects on progression to different stages of age-related macular degeneration using multistate Markov models. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 53, 1548–1556.
- Yuan, Y., & MacQuarrie, D. (2015). Microwave assisted extraction of sulfated polysaccharides (fucoidan) from Ascophyllum nodosum and its antioxidant activity. *Carbohydrate Polymers*, 129, 101-107. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2015.04.057>
- Zajac-Pytrus, H. M., Pilecka, A., Turno-Kręcicka, A., Adamiec-Mrocze, J., & Misiuk-Hojło, M. (2015). The Dry Form of Age-Related Macular Degeneration (AMD): The Current Concepts of Pathogenesis and Prospects for Treatment. *Advances in clinical and experimental medicine: official organ Wroclaw Medical University*, 24(6), 1099–1104. <https://doi.org/10.17219/acem/27093>
- Zarbin, M. A. (2004). Current concepts in the pathogenesis of age-related macular degeneration. *Archives of Ophthalmology*, 122, 598-614.
- Zareparsi, S., Buraczynska, M., Branham, K. E., Shah, S., Eng, D., Li, M., ... & Swaroop, A. (2005). Toll-like receptor 4 variant D299G is associated with susceptibility to age-related macular degeneration. *Human Molecular Genetics*, 14(11), 1449-1455. doi:10.1093/hmg/ddi154
- Zeng, S., Hernández, J., & Mullins, R. F. (2012). Effects of antioxidant components of AREDS vitamins and zinc ions on endothelial cell activation: implications for macular degeneration. *Investigative ophthalmology & visual science*, 53(2), 1041-1047.
- Zhang, X., Wang, G., Gurley, E. C., & Zhou, H. (2014). Flavonoid apigenin inhibits lipopolysaccharide-induced inflammatory response through multiple mechanisms in macrophages. *PLoS One*, 9(9), e107072.

- Zhao, L., Chen, Y. H., Wang, H., Ji, Y. L., Ning, H., Wang, S. F., Zhang, C., Lu, J. W., Duan, Z. H., & Xu, D. X. (2008). Reactive oxygen species contribute to lipopolysaccharide-induced teratogenesis in mice. *Toxicological Sciences*, 103(1), 149-157. doi: 10.1093/toxsci/kfn027
- Zhao, M., Bai, Y., Xie, W., et al. (2015). Interleukin-1 $\beta$  Level Is Increased in Vitreous of Patients with Neovascular Age-Related Macular Degeneration (nAMD) and Polypoidal Choroidal Vasculopathy (PCV). *PLoS One*, 10(5), e0125150. doi:10.1371/journal.pone.0125150
- Zhao, W., & Hu, Z. (2010). The enigmatic processing and secretion of interleukin-33. *Cellular & molecular immunology*, 7(4), 260-262.
- Zhao, X., Guo, F., Hu, J., Zhang, L., Xue, C., Zhang, Z., & Li, B. (2016). Antithrombotic activity of orally administered low molecular weight fucoidan from *Laminaria Japonica*. *Thrombosis Research*, 144, 46-52.
- Zhao, Y., Zheng, Y., Wang, J., Ma, S., Yu, Y., White, W. L., ... & Lu, J. (2018). Fucoidan extracted from *Undaria pinnatifida*: Source for nutraceuticals/functional foods. *Marine Drugs*, 16(9), 321. <https://doi.org/10.3390/md16090321>
- Zhao, Z., Chen, Y., Wang, J., Sternberg, P., Freeman, M. L., Grossniklaus, H. E., & Cai, J. (2011). Age-related retinopathy in NRF2-deficient mice. *PloS One*, 6(4), e19456.
- Zlotnik, A., & Yoshie, O. (2012). The chemokine superfamily revisited. *Immunity*, 36(5), 705–716. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2012.05.008>

## 7 Anhang

### 7.1 Genarray Ergebnisse

**Tabelle A1:** Genarray für Inflammation und das Komplementssystem

	Genname	Assay ID
<b>A2M</b>	<i>alpha-2-macroglobulin</i>	Ss03373729_m1
<b>ADRB1</b>	<i>adrenoceptor beta 1</i>	Ss03387549_s1
<b>ADRB2</b>	<i>adrenoceptor beta 2</i>	Ss03818941_s1
<b>ALOX5</b>	<i>arachidonate 5-lipoxygenase</i>	Ss06909907_m1
<b>ANXA1</b>	<i>annexin A1</i>	Ss03374864_m1
<b>ANXA5</b>	<i>annexin A5</i>	Ss06880508_m1
<b>BDKRB1</b>	<i>bradykinin receptor B1</i>	Ss03389804_s1
<b>C1R</b>	<i>complement C1r subcomponent</i>	Ss03376383_u1
<b>C1S</b>	<i>complement component 1, s subcomponent</i>	Ss03378673_u1
<b>C2</b>	<i>complement component 2</i>	Ss03389255_m1
<b>C3</b>	<i>complement component 3</i>	Ss03391255_m1
<b>C5</b>	<i>complement component 5</i>	Ss03391586_m1
<b>C6</b>	<i>complement component 6</i>	Ss03388870_m1
<b>C7</b>	<i>complement component 7</i>	Ss03394596_m1
<b>C8A</b>	<i>complement component 8 alpha subunit</i>	Ss03388872_m1
<b>C8B</b>	<i>complement component 8, beta polypeptide</i>	Ss03388883_m1
<b>CACNA2D1</b>	<i>calcium voltage-gated channel auxiliary subunit alpha2delta 1</i>	Ss03394310_m1
<b>CACNB4</b>	<i>calcium voltage-gated channel auxiliary subunit beta 4</i>	Ss03381208_u1
<b>CASPI</b>	<i>caspase 1</i>	Ss03394224_m1
<b>CASP3</b>	<i>Caspase 3</i>	Ss03382792_u1
<b>CCL11</b>	<i>C-C motif chemokine ligand 11</i>	Ss03377222_u1
<b>CCL19</b>	<i>C-C motif chemokine ligand 19</i>	Ss04246386_m1
<b>CCL2</b>	<i>C-C motif chemokine ligand 2</i>	Ss03394377_m1
<b>CD40</b>	<i>CD40 molecule</i>	Ss03394337_m1
<b>CD40LG</b>	<i>CD40 ligand</i>	Ss03382746_u1

<b>CD46</b>	<i>CD46 molecule</i>	Ss03392461_u1
<b>CD55</b>	<i>CD55 molecule (Cromer blood group)</i>	Ss03392383_m1
<b>CD59</b>	<i>CD59 molecule</i>	Ss03394252_m1
<b>CES1</b>	<i>carboxylesterase 1</i>	Ss03395585_g1
<b>CFB</b>	<i>complement factor B</i>	Ss03389385_g1
<b>CFH</b>	<i>complement factor H</i>	Ss03391439_m1
<b>CFP</b>	<i>complement factor properdin</i>	Ss06921406_g1
<b>CHUK</b>	<i>conserved helix-loop-helix ubiquitous kinase</i>	Ss03390001_m1
<b>CRP</b>	<i>C-reactive protein, pentraxin-related</i>	Ss03390889_m1
<b>CST3</b>	<i>cystatin C</i>	Ss03388477_m1
<b>CXCL12</b>	<i>C-X-C motif chemokine ligand 12</i>	Ss03391855_m1
<b>DUSP1</b>	<i>dual specificity phosphatase 1</i>	Ss04953462_g1
<b>FASLG</b>	<i>Fas ligand</i>	Ss03381579_u1
<b>GAPDH</b>	<i>glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase</i>	Ss03375629_u1
<b>GUSB</b>	<i>glucuronidase beta</i>	Ss03387751_u1
<b>HPGD</b>	<i>hydroxyprostaglandin dehydrogenase 15-(NAD)</i>	Ss04247383_m1
<b>HPRT1</b>	<i>hypoxanthine phosphoribosyltransferase 1</i>	Ss03388274_m1
<b>ICAM1</b>	<i>Intercellular Adhesion Molecule 1</i>	Ss03392385_m1
<b>IL13</b>	<i>interleukin 13</i>	Ss03392353_m1
<b>IL1B</b>	<i>interleukin 1 beta</i>	Ss03393804_m1
<b>IL1R2</b>	<i>interleukin 1 receptor type 2</i>	Ss04324011_m1
<b>IL1RL1</b>	<i>interleukin 1 receptor like 1</i>	Ss03377371_u1
<b>IL2RA</b>	<i>interleukin 2 receptor subunit alpha</i>	Ss03381754_u1
<b>IL2RG</b>	<i>interleukin 2 receptor subunit gamma</i>	Ss03391425_m1
<b>IL-6</b>	<i>interleukin 6</i>	Ss03384604_u1
<b>IL-6R</b>	<i>interleukin 6 receptor</i>	Ss03394904_g1
<b>IL-8</b>	<i>interleukin 8</i>	Ss03392437_m1
<b>IRF3</b>	<i>interferon regulatory factor 3</i>	Ss03381325_u1
<b>ITGAL</b>	<i>integrin subunit alpha L</i>	Ss03380741_u1

<b>ITGAM</b>	<i>integrin subunit alpha M</i>	Ss03374592_g1
<b>ITGB1</b>	<i>integrin subunit beta 1</i>	Ss03391119_m1
<b>ITGB2</b>	<i>integrin subunit beta 2</i>	Ss03392626_u1
<b>KLK1</b>	<i>kallikrein 1</i>	Ss03378457_u1
<b>KLKB1</b>	<i>kallikrein B1</i>	Ss03393966_m1
<b>KNG1</b>	<i>kininogen 1</i>	Ss03373690_m1
<b>LEP</b>	<i>leptin</i>	Ss03392404_m1
<b>LTA4H</b>	<i>leukotriene A4 hydrolase</i>	Ss04246860_m1
<b>MAPK1</b>	<i>mitogen-activated protein kinase 1</i>	Ss04248225_m1
<b>MAPK14</b>	<i>mitogen-activated protein kinase 14</i>	Ss06880885_m1
<b>MAPK3</b>	<i>mitogen-activated protein kinase 3</i>	Ss06887442_m1
<b>MAPK8</b>	<i>mitogen-activated protein kinase 8</i>	Ss01560177_m1
<b>MC2R</b>	<i>melanocortin 2 receptor</i>	Ss03373249_u1
<b>mTOR</b>	<i>mechanistic target of rapamycin</i>	Ss03377427_u1
<b>NFKB1</b>	<i>nuclear factor kappa B subunit 1</i>	Ss03388575_m1
<b>NFKB2</b>	<i>nuclear factor kappa B subunit 2</i>	Hs01028890_g1
<b>NKAP</b>	<i>NFKB activating protein</i>	Ss04322419_m1
<b>NR3C1</b>	<i>nuclear receptor subfamily 3 group C member 1</i>	Ss03378868_u1
<b>PDE4A</b>	<i>phosphodiesterase 4A</i>	Ss03387844_u1
<b>PDE4B</b>	<i>phosphodiesterase 4B</i>	Ss03819270_s1
<b>PLA2G1B</b>	<i>phospholipase A2 group IB</i>	Ss03378584_u1
<b>PLA2G2D</b>	<i>phospholipase A2 group IID</i>	Ss04953157_m1
<b>PLA2G7</b>	<i>phospholipase A2 group VII</i>	Ss03389762_m1
<b>PLCB2</b>	<i>phospholipase C beta 2</i>	Ss06884752_g1
<b>PLCD1</b>	<i>phospholipase C delta 1</i>	Ss04324816_m1
<b>PLCG2</b>	<i>phospholipase C gamma 2</i>	Ss06884626_m1
<b>PTGER3</b>	<i>prostaglandin E receptor 3</i>	Ss03381729_u1
<b>PTGFR</b>	<i>prostaglandin F receptor</i>	Ss03393819_s1
<b>PTGIS</b>	<i>prostaglandin I2 (prostacyclin) synthase</i>	Ss03374149_m1

<b>PTGS1</b>	<i>prostaglandin-endoperoxide synthase 1</i>	Ss03373347_m1
<b>PTGS2</b>	<i>prostaglandin-endoperoxide synthase 2</i>	Ss03394694_m1
<b>RNA18S5</b>	<i>RNA, 18S ribosomal 5</i>	Hs03928992_g1
<b>SERPING1</b>	<i>serpin family G member 1</i>	Ss03387977_u1
<b>TBXAS1</b>	<i>thromboxane A synthase 1</i>	Ss03393735_u1
<b>TLR2</b>	<i>toll like receptor 2</i>	Ss03381278_u1
<b>TLR3</b>	<i>toll like receptor 3</i>	Ss03388861_m1
<b>TLR4</b>	<i>toll like receptor 4</i>	Ss03389780_m1
<b>TNF</b>	<i>tumor necrosis factor</i>	Ss03391318_g1
<b>TNFRSF1A</b>	<i>TNF receptor superfamily member 1A</i>	Ss03391125_m1
<b>TNFRSF1B</b>	<i>TNF receptor superfamily member 1B</i>	Ss03385518_u1
<b>TNFSF13B</b>	<i>tumor necrosis factor superfamily member 13b</i>	Ss03388949_m1
<b>VCAM1</b>	<i>vascular cell adhesion molecule 1</i>	Ss03390912_m1

**Tabelle A2:** Genearray für oxidativen Stress und Toxizität

	Genname	Assay ID
<b>ACTB</b>	<i>actin beta</i>	Ss03376081_u1
<b>ALOX12</b>	<i>arachidonate 12-lipoxygenase, 12S type</i>	Ss03392804_u1
<b>ANGPTL7</b>	<i>angiopoietin like 7</i>	Ss03820375_s1
<b>ANXA5</b>	<i>annexin A5</i>	Ss06880508_m1
<b>APOE</b>	<i>apolipoprotein E</i>	Ss03394681_m1
<b>ATM</b>	<i>ATM serine/threonine kinase</i>	Ss03390208_g1
<b>ATOX1</b>	<i>antioxidant 1 copper chaperone</i>	Ss06942364_m1
<b>BAX</b>	<i>BCL2 associated X, apoptosis regulator</i>	Ss03375842_u1
<b>CASP1</b>	<i>caspase 1</i>	Ss03394224_m1
<b>CASP10</b>	<i>caspase 10</i>	Ss04246296_m1
<b>CASP8</b>	<i>caspase 8</i>	Ss03379427_u1
<b>CAT</b>	<i>CATalase</i>	Ss04323025_m1
<b>CCL21</b>	<i>C-C motif chemokine ligand 21</i>	Ss03378621_u1

<b>CCL4</b>	<i>C-C motif chemokine ligand 4</i>	Ss03381395_u1
<b>CCL5</b>	<i>C-C motif chemokine ligand 5</i>	Ss03648939_m1
<b>CCNC</b>	<i>cyclin C</i>	Ss02636666_m1
<b>CCNG1</b>	<i>cyclin G1</i>	Ss03391984_m1
<b>CCS</b>	<i>copper chaperone for superoxide dismutase</i>	Ss03378403_u1
<b>CHEK2</b>	<i>checkpoint kinase 2</i>	Ss06942240_g1
<b>CSF2</b>	<i>colony stimulating factor 2</i>	Ss03394096_m1
<b>CXCL10</b>	<i>C-X-C motif chemokine ligand 10</i>	Ss03391846_m1
<b>CYP1A1</b>	<i>cytochrome P450 family 1 subfamily A member 1</i>	Ss03394917_g1
<b>CYP2E1</b>	<i>cytochrome P450 family 2 subfamily E member 1</i>	Ss03394934_m1
<b>CYP7A1</b>	<i>cytochrome P450 family 7 subfamily A member 1</i>	Ss04953769_g1
<b>DDIT3</b>	<i>DNA damage inducible transcript 3</i>	Ss03821509_s1
<b>DHCR24</b>	<i>24-dehydrocholesterol reductase</i>	Ss04323966_m1
<b>DNAJ1</b>	<i>DnaJ heat shock protein family (Hsp40) member A1</i>	Ss04326380_g1
<b>DUOX1</b>	<i>dual oxidase 1</i>	Ss03394022_m1
<b>DUOX2</b>	<i>dual oxidase 2</i>	Ss03393369_m1
<b>DUSP1</b>	<i>dual specificity phosphatase 1</i>	Ss04953462_g1
<b>EPHX2</b>	<i>epoxide hydrolase 2</i>	Ss03391562_m1
<b>ERCC1</b>	<i>ERCC excision repair 1, endonuclease non-CATalytic subunit</i>	Ss06942291_gH
<b>FMO1</b>	<i>flavin containing monooxygenase 1</i>	Ss03393883_u1
<b>GDF15</b>	<i>growth differentiation factor 15</i>	Ss06942388_m1
<b>GLRX2</b>	<i>glutaredoxin 2</i>	Ss06941398_m1
<b>GPX1</b>	<i>glutathione peroxidase 1</i>	Ss03383336_u1
<b>GPX2</b>	<i>glutathione peroxidase 2</i>	Ss06941400_m1
<b>GPX3</b>	<i>glutathione peroxidase 3</i>	Ss03387487_u1
<b>GPX4</b>	<i>glutathione peroxidase 4</i>	Ss03384646_u1
<b>GPX5</b>	<i>glutathione peroxidase 5</i>	Ss03392457_m1
<b>GPX6</b>	<i>glutathione peroxidase 6</i>	Ss03819866_g1
<b>GSR</b>	<i>glutathione-disulfide reductase</i>	Ss03376398_u1

<b>GSS</b>	<i>glutathione synthetase</i>	Ss04328109_m1
<b>GSTZ1</b>	<i>glutathione S-transferase zeta 1</i>	Ss04325020_m1
<b>GTF2I</b>	<i>general transcription factor IIi</i>	Ss06877095_g1
<b>GUSB</b>	<i>glucuronidase beta</i>	Ss03387751_u1
<b>HMOX1</b>	<i>heme oxygenase 1</i>	Ss03378516_u1
<b>HSF1</b>	<i>heat shock transcription factor 1</i>	Ss04325505_m1
<b>HSPA1L</b>	<i>heat shock protein family A (Hsp70) member 1 like</i>	Ss06942827_s1
<b>HSPA4</b>	<i>heat shock protein family A (Hsp70) member 4</i>	Ss06890283_g1
<b>HSPA5</b>	<i>heat shock protein family A (Hsp70) member 5</i>	Ss03374255_m1
<b>HSPA8</b>	<i>heat shock protein family A (Hsp70) member 8</i>	Ss04325801_gH
<b>HSPD1</b>	<i>heat shock protein family D (Hsp60) member 1</i>	Ss01036749_m1
<b>HSPE1</b>	<i>heat shock protein family E (Hsp10) member 1</i>	Ss03394678_g1
<b>HSPH1</b>	<i>heat shock protein family H (Hsp110) member 1</i>	Ss03388958_m1
<b>KRT1</b>	<i>keratin 1</i>	Ss03372954_m1
<b>LPO</b>	<i>lactoperoxidase</i>	Ss06881600_m1
<b>LTA</b>	<i>lymphotoxin alpha</i>	Ss03395002_g1
<b>MDM2</b>	<i>MDM2 proto-oncogene</i>	Ss03389570_m1
<b>MGST3</b>	<i>microsomal glutathione S-transferase 3</i>	Ss02795256_m1
<b>MIF</b>	<i>macrophage migration inhibitory factor (glycosylation-inhibiting factor)</i>	Ss03388592_g1
<b>MSRA</b>	<i>methionine sulfoxide reductase A</i>	Ss06867220_m1
<b>NCF1</b>	<i>neutrophil cytosolic factor 1C pseudogene</i>	Ss03387041_u1
<b>NCF2</b>	<i>neutrophil cytosolic factor 2</i>	Ss03374198_m1
<b>NFKB1</b>	<i>nuclear factor kappa B subunit 1</i>	Ss03388575_m1
<b>NFKBIA</b>	<i>NFKB inhibitor alpha</i>	Ss03391764_m1
<b>NOS2</b>	<i>nitric oxide synthase 2</i>	Ss03374608_u1
<b>NUDT1</b>	<i>nudix hydrolase 1</i>	Ss06941658_m1
<b>OXSRI</b>	<i>oxidative stress responsive 1</i>	Ss03394733_m1
<b>PCNA</b>	<i>proliferating cell nuclear antigen</i>	Ss03377029_g1
<b>PDLIM1</b>	<i>PDZ and LIM domain 1</i>	Ss04955139_m1

<b>PGK1</b>	<i>phosphoglycerate kinase 1</i>	Ss03389144_m1
<b>PNKP</b>	<i>polynucleotide kinase 3'-phosphatase</i>	Ss06874976_g1
<b>POR</b>	<i>cytochrome p450 oxidoreductase</i>	Ss06942103_m1
<b>PRDX1</b>	<i>peroxiredoxin 1</i>	Ss06880612_m1
<b>PRDX2</b>	<i>peroxiredoxin 2</i>	Ss04327513_g1
<b>PRDX3</b>	<i>peroxiredoxin 3</i>	Ss04327733_g1
<b>PRDX4</b>	<i>peroxiredoxin 4</i>	Ss06879103_m1
<b>PRDX5</b>	<i>peroxiredoxin 5</i>	Ss03394182_g1
<b>PRDX6</b>	<i>peroxiredoxin 6</i>	Ss03384662_u1
<b>PRNP</b>	<i>prion protein</i>	Ss03391838_g1
<b>PTGS1</b>	<i>prostaglandin-endoperoxide synthase 1</i>	Ss03373347_m1
<b>PTGS2</b>	<i>prostaglandin-endoperoxide synthase 2</i>	Ss03394694_m1
<b>RAD50</b>	<i>RAD50 double strand break repair protein</i>	Ss06895400_m1
<b>SEPP1</b>	<i>selenoprotein P, plasma, I</i>	Ss06876591_g1
<b>SERPINE1</b>	<i>serpin family E member 1</i>	Ss03392656_u1
<b>SOD1</b>	<i>superoxide dismutase 1, soluble</i>	Ss03375614_u1
<b>SOD2</b>	<i>superoxide dismutase 2, mitochondrial</i>	Ss03374828_m1
<b>STK25</b>	<i>serine/threonine kinase 25</i>	Ss06904460_m1
<b>TNFRSF1A</b>	<i>TNF receptor superfamily member 1A</i>	Ss03391125_m1
<b>TNFSF10</b>	<i>tumor necrosis factor superfamily member 10</i>	Ss03391932_m1
<b>TP53</b>	<i>tumor protein p53</i>	Ss04248636_m1
<b>TPO</b>	<i>thyroid peroxidase</i>	Ss03374684_u1
<b>TXNRD1</b>	<i>thioredoxin reductase 1</i>	Ss03395011_gH
<b>TXNRD2</b>	<i>thioredoxin reductase 2</i>	Ss04246376_m1
<b>UNG</b>	<i>uracil DNA glycosylase</i>	Ss06889606_m1

**Tabelle A3: Genearray für Angiogenese und retinale Pigmentepithel Funktionen**

	Genname	Assay ID
<b>AHR</b>	<i>Aryl-hydrocarbone-receptor</i>	Ss03377398_u1

<b>AMOT</b>	<i>angiomotin</i>	Ss06892170_m1
<b>ANGPT1</b>	<i>angiopoietin 1</i>	Ss03391075_m1
<b>ANGPT2</b>	<i>angiopoietin 2</i>	Ss03392362_m1
<b>ANGPT4</b>	<i>angiopoietin 4</i>	Ss06882720_m1
<b>ANGPTL1</b>	<i>angiopoietin like 1</i>	Ss03389616_m1
<b>ANGPTL2</b>	<i>angiopoietin like 2</i>	Ss03389615_m1
<b>ANGPTL3</b>	<i>angiopoietin like 3</i>	Ss03391702_m1
<b>ANGPTL4</b>	<i>angiopoietin like 4</i>	Ss03379927_u1
<b>BEST1</b>	<i>Bestrophin 1, Morbus Best</i>	Ss03376235_u1
<b>BMP4</b>	<i>Bone morphogenetic protein 4, Wachstumsfaktor</i>	Ss03386418_u1
<b>CCL2</b>	<i>chemokine ligand 2, rekrutiert Monozyten, T-Z.</i>	Ss03394377_m1
<b>CCL5</b>	<i>chemokine ligand 5, rekrutiert T-Z, Granulozyten</i>	Ss03648939_m1
<b>CD44</b>	<i>CD44 molecule (Indian blood group)</i>	Ss06884269_m1
<b>CDH1</b>	<i>Cadherin 1, E-Cadherin</i>	Ss06942336_m1
<b>CDH2</b>	<i>Cadherin 2, N-Cadherin, Adhärenskontakte Herzmuskel</i>	Ss06911356_m1
<b>CDH5</b>	<i>cadherin 5</i>	Ss03378336_u1
<b>CDO1</b>	<i>Cysteine dioxygenase 1</i>	Ss04245801_m1
<b>CHGA</b>	<i>chromogranin A</i>	Ss03374348_m1
<b>COL4A2</b>	<i>collagen type IV alpha 2</i>	Ss06936852_mH
<b>COL4A3</b>	<i>collagen type IV alpha 3 chain</i>	Ss03374310_u1
<b>CSF2</b>	<i>Granulocyte-macrophage colony stimulating factor 2</i>	Ss03394096_m1
<b>CSF3</b>	<i>colony stimulating factor 3</i>	Ss03381777_u1
<b>CXCL10</b>	<i>C-X-C motif chemokine ligand 10</i>	Ss03391846_m1
<b>CXCL11</b>	<i>cxc-motif chemokine 11</i>	Ss03648934_m1
<b>CXCL12</b>	<i>C-X-C motif chemokine ligand 12</i>	Ss03391855_m1
<b>CXCL2</b>	<i>C-X-C motif chemokine ligand 2</i>	Ss03378360_u1
<b>DCT</b>	<i>Dopachrom-Tautomerase, Epithelpolarität</i>	Ss03391968_m1
<b>EFEMP1</b>	<i>EGF-containing fibulin-like ecm-protein 1</i>	Ss04326723_m1
<b>ENPP2</b>	<i>ectonucleotide pyrophosphatase/phosphodiesterase 2</i>	Ss03373834_m1

<b>EPHB2</b>	<i>EPH receptor B2</i>	Ss06898639_u1
<b>F2</b>	<i>coagulation factor II, thrombin</i>	Ss03390119_m1
<b>FADS1</b>	<i>Fatty acid desaturase 1, Fettstoffwechsel, u.A. Arachidonsäure</i>	Ss03386989_u1
<b>FBLN5</b>	<i>fibulin 5</i>	Ss04805024_m1
<b>FGF2</b>	<i>fibroblast growth factor 2</i>	Ss03375809_u1
<b>FGFR2</b>	<i>Fibroblast growth factor receptor 2</i>	Ss03389140_m1
<b>FLT1</b>	<i>fms related tyrosine kinase 1</i>	Ss03375679_u1
<b>FNI</b>	<i>fibronectin 1</i>	Ss03373673_m1
<b>FRZB</b>	<i>Frizzle-related protein, Embryonalentwicklung</i>	Ss04323872_m1
<b>FST</b>	<i>follistatin</i>	Ss03378467_u1
<b>GAPDH</b>	<i>glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase</i>	Ss03375629_u1
<b>GJAI</b>	<i>Gap junction alpha1 protein, Connexin43</i>	Ss03374839_u1
<b>GRAMD3</b>	<i>GRAM-Domain containing 3</i>	Ss04327019_m1
<b>GRN</b>	<i>granulin</i>	Ss03388413_m1
<b>GUSB</b>	<i>glucuronidase beta</i>	Ss03387751_u1
<b>HEY1</b>	<i>hes related family bHLH transcription factor with YRPW motif 1</i>	Ss06882442_g1
<b>HPRT1</b>	<i>hypoxanthine phosphoribosyltransferase 1</i>	Ss03388274_m1
<b>IFNB1</b>	<i>interferon beta 1</i>	Ss03378485_u1
<b>IFNG</b>	<i>interferon gamma</i>	Ss03391054_m1
<b>IL12A</b>	<i>interleukin 12A</i>	Ss03391176_m1
<b>ITGAV</b>	<i>integrin subunit alpha V</i>	Ss03388773_m1
<b>ITGB3</b>	<i>integrin subunit beta 3</i>	Ss03391243_m1
<b>KDR</b>	<i>kinase insert domain receptor</i>	Ss03376639_u1
<b>KIT</b>	<i>KIT proto-oncogene receptor tyrosine kinase</i>	Ss03380145_u1
<b>LAMP2</b>	<i>Lysosome-associated membrane protein 2</i>	Ss04326687_m1
<b>LEP</b>	<i>leptin</i>	Ss03392404_m1
<b>LYVE1</b>	<i>lymphatic vessel endothelial hyaluronan receptor 1</i>	Ss03376355_u1
<b>MDK</b>	<i>midkine (neurite growth-promoting factor 2)</i>	Ss04247956_g1
<b>MET</b>	<i>Met Proto-Onkogen</i>	Ss02622441_m1

<b>MITF</b>	<i>Microphtalmia-associated transcription factor</i>	Ss03379816_u1
<b>MMP2</b>	<i>matrix metallopeptidase 2</i>	Ss03394318_m1
<b>MYRIP</b>	<i>Myosin 7A und Rab-Interaktion</i>	Ss04246331_m1
<b>NRP1</b>	<i>neuropilin 1</i>	Ss06887202_m1
<b>NRP2</b>	<i>neuropilin 2</i>	Ss06899352_m1
<b>PDGFRB</b>	<i>platelet derived growth factor receptor beta</i>	Ss06879561_m1
<b>PECAMI</b>	<i>platelet and endothelial cell adhesion molecule 1</i>	Ss03392600_u1
<b>PLG</b>	<i>plasminogen</i>	Ss03380545_u1
<b>PRL</b>	<i>prolactin</i>	Ss03390993_m1
<b>PROK1</b>	<i>prokineticin 1</i>	Ss04246561_m1
<b>PROX1</b>	<i>prospero homeobox 1</i>	Ss04246028_m1
<b>RBPI</b>	<i>Retinol-Binding-Protein 1, Retinoltransport</i>	Ss03391996_m1
<b>RDH10</b>	<i>Retinol Dehydrogenase 10</i>	Ss03374167_m1
<b>RDH11</b>	<i>Retinol-Dehydrogenase 11</i>	Ss06878003_m1
<b>RNA18S5</b>	<i>RNA, 18S ribosomal 5</i>	Hs03928992_g1
<b>RPE65</b>	<i>RPE 65kDA, Retinol-Stoffwechsel</i>	Ss06891920_m1
<b>SERPINC1</b>	<i>serpin family C member 1</i>	Ss04245370_m1
<b>SERPINF1</b>	<i>serpin family F member 1</i>	Ss03385090_u1
<b>SFRP5</b>	<i>Secreted frizzlle-related protein 5</i>	Ss04324169_m1
<b>SILV</b>	<i>PMEL, silver locus protein homolog</i>	Ss03372939_m1
<b>SLC16A1</b>	<i>Monocarboxylate Transporter 1</i>	Ss03374095_m1
<b>SLC4A2</b>	<i>Anion-exchange protein 2 (Cl-/HCO3- Austausch)</i>	Ss03375384_u1
<b>TEK</b>	<i>TEK receptor tyrosine kinase</i>	Ss03373354_m1
<b>TGFA</b>	<i>transforming growth factor alpha</i>	Ss03383643_u1
<b>TGFB1</b>	<i>transforming growth factor beta 1</i>	Ss04955543_m1
<b>THBS1</b>	<i>thrombospondin 1</i>	Ss03373875_m1
<b>TIMP2</b>	<i>TIMP metallopeptidase inhibitor 2</i>	Ss03375440_u1
<b>TNFSF15</b>	<i>tumor necrosis factor superfamily member 15</i>	Ss04327841_m1
<b>TNMD</b>	<i>Tenomodulin</i>	Ss03389156_m1

<b>TNNI1</b>	<i>troponin I1, slow skeletal type</i>	Ss03382169_u1
<b>TRPM3</b>	<i>Transient receptor potential CATION channel 3</i>	Ss06878930_m1
<b>TTR</b>	<i>Transthyretin, Transport von T4 und RBP</i>	Ss03383377_u1
<b>TYR</b>	<i>Tyrosinase</i>	Ss03379283_u1
<b>TYRP1</b>	<i>Tyrosinase-related protein 1, Melaninsynthese</i>	Ss03391964_m1
<b>VEGFA</b>	<i>vascular endothelial growth factor A</i>	Ss03393993_m1
<b>VEGFB</b>	<i>vascular endothelial growth factor B</i>	Ss06900292_g1
<b>VIM</b>	<i>Vimentin</i>	Ss04330801_gH

**Tabelle A4:** Detaillierte Ergebnisse des Inflammationsarrays

Stimulation		gegen Ko		gegen LPS	
		RQ	p-Wert	RQ	p-Wert
Kontrolle	<i>ADRB1</i>	1.000	1.000	1.338	0.367
Kontrolle	<i>ADRB2</i>	1.000	1.000	<b>4.583</b>	<b>0.031</b>
Kontrolle	<i>ALOX5</i>	1.000	1.000	1.344	0.525
Kontrolle	<i>ANXA1</i>	1.000	1.000	0.700	0.199
Kontrolle	<i>ANXA5</i>	1.000	1.000	1.017	0.926
Kontrolle	<i>BDKRB1</i>	1.000	1.000	0.732	0.501
Kontrolle	<i>C1R</i>	1.000	1.000	0.514	0.187
Kontrolle	<i>C1S</i>	1.000	1.000	0.787	0.770
Kontrolle	<i>C2</i>	1.000	1.000	<b>0.372</b>	<b>0.043</b>
Kontrolle	<i>C3</i>	1.000	1.000	<b>0.036</b>	<b>0.000</b>
Kontrolle	<i>C5</i>	1.000	1.000	<b>2.250</b>	<b>0.045</b>
Kontrolle	<i>C6</i>	1.000	1.000	2.450	0.165
Kontrolle	<i>C7</i>	1.000	1.000	0.796	0.481
Kontrolle	<i>C8A</i>	1.000	1.000	1.081	0.573
Kontrolle	<i>C8B</i>	1.000	1.000	1.081	0.573
Kontrolle	<i>CACNA2D1</i>	1.000	1.000	1.354	0.044
Kontrolle	<i>CACNB4</i>	1.000	1.000	0.623	0.114

<b>Kontrolle</b>	<i>CASPI</i>	1.000	1.000	<b>0.140</b>	<b>0.032</b>
<b>Kontrolle</b>	<i>CASP3</i>	1.000	1.000	0.856	0.747
<b>Kontrolle</b>	<i>CCL11</i>	1.000	1.000	1.081	0.573
<b>Kontrolle</b>	<i>CCL19</i>	1.000	1.000	<b>0.275</b>	<b>0.034</b>
<b>Kontrolle</b>	<i>CCL2</i>	1.000	1.000	<b>0.063</b>	<b>0.000</b>
<b>Kontrolle</b>	<i>CD40</i>	1.000	1.000	0.473	0.074
<b>Kontrolle</b>	<i>CD40LG</i>	1.000	1.000	1.081	0.573
<b>Kontrolle</b>	<i>CD46</i>	1.000	1.000	0.963	0.359
<b>Kontrolle</b>	<i>CD55</i>	1.000	1.000	0.622	0.309
<b>Kontrolle</b>	<i>CD59</i>	1.000	1.000	1.346	0.045
<b>Kontrolle</b>	<i>CES1</i>	1.000	1.000	4.438	0.058
<b>Kontrolle</b>	<i>CFB</i>	1.000	1.000	<b>0.387</b>	<b>0.031</b>
<b>Kontrolle</b>	<i>CFH</i>	1.000	1.000	0.797	0.254
<b>Kontrolle</b>	<i>CFP</i>	1.000	1.000	1.370	0.012
<b>Kontrolle</b>	<i>CHUK</i>	1.000	1.000	1.175	0.164
<b>Kontrolle</b>	<i>CRP</i>	1.000	1.000	1.081	0.573
<b>Kontrolle</b>	<i>CST3</i>	1.000	1.000	1.019	0.908
<b>Kontrolle</b>	<i>CXCL12</i>	1.000	1.000	0.671	0.404
<b>Kontrolle</b>	<i>DUSP1</i>	1.000	1.000	0.610	0.239
<b>Kontrolle</b>	<i>FASLG</i>	1.000	1.000	1.081	0.573
<b>Kontrolle</b>	<i>HPGD</i>	1.000	1.000	1.702	0.259
<b>Kontrolle</b>	<i>ICAM</i>	1.000	1.000	<b>0.252</b>	<b>0.000</b>
<b>Kontrolle</b>	<i>IL13</i>	1.000	1.000	1.081	0.573
<b>Kontrolle</b>	<i>IL1B</i>	1.000	1.000	<b>0.023</b>	<b>0.000</b>
<b>Kontrolle</b>	<i>IL1R2</i>	1.000	1.000	<b>0.304</b>	<b>0.007</b>
<b>Kontrolle</b>	<i>IL1RL1</i>	1.000	1.000	1.452	0.208
<b>Kontrolle</b>	<i>IL2RA</i>	1.000	1.000	1.479	0.141
<b>Kontrolle</b>	<i>IL2RG</i>	1.000	1.000	0.869	0.161
<b>Kontrolle</b>	<i>IL-6</i>	1.000	1.000	<b>0.296</b>	<b>0.008</b>

<b>Kontrolle</b>	<i>IL-6R</i>	1.000	1.000	1.299	0.107
<b>Kontrolle</b>	<i>IL-8</i>	1.000	1.000	<b>0.030</b>	<b>0.010</b>
<b>Kontrolle</b>	<i>IRF3</i>	1.000	1.000	0.843	0.296
<b>Kontrolle</b>	<i>ITGAL</i>	1.000	1.000	0.981	0.532
<b>Kontrolle</b>	<i>ITGAM</i>	1.000	1.000	1.209	0.604
<b>Kontrolle</b>	<i>ITGB1</i>	1.000	1.000	1.324	0.056
<b>Kontrolle</b>	<i>ITGB2</i>	1.000	1.000	1.167	0.501
<b>Kontrolle</b>	<i>KLK1</i>	1.000	1.000	2.314	0.182
<b>Kontrolle</b>	<i>KLKB1</i>	1.000	1.000	1.081	0.573
<b>Kontrolle</b>	<i>KNG1</i>	1.000	1.000	1.081	0.573
<b>Kontrolle</b>	<i>LEP</i>	1.000	1.000	1.081	0.573
<b>Kontrolle</b>	<i>LTA4H</i>	1.000	1.000	1.170	0.350
<b>Kontrolle</b>	<i>MAPK1</i>	1.000	1.000	1.205	0.285
<b>Kontrolle</b>	<i>MAPK14</i>	1.000	1.000	1.171	0.087
<b>Kontrolle</b>	<i>MAPK3</i>	1.000	1.000	0.987	0.817
<b>Kontrolle</b>	<i>MAPK8</i>	1.000	1.000	1.156	0.198
<b>Kontrolle</b>	<i>MC2R</i>	1.000	1.000	1.081	0.573
<b>Kontrolle</b>	<i>MTOR</i>	1.000	1.000	2.073	0.107
<b>Kontrolle</b>	<i>NFKB1</i>	1.000	1.000	0.654	0.120
<b>Kontrolle</b>	<i>NFKB2</i>	1.000	1.000	1.081	0.573
<b>Kontrolle</b>	<i>NKAP</i>	1.000	1.000	1.083	0.171
<b>Kontrolle</b>	<i>NR3C1</i>	1.000	1.000	0.926	0.049
<b>Kontrolle</b>	<i>PDE4A</i>	1.000	1.000	1.024	0.964
<b>Kontrolle</b>	<i>PDE4B</i>	1.000	1.000	0.612	0.236
<b>Kontrolle</b>	<i>PLA2G1B</i>	1.000	1.000	1.640	0.282
<b>Kontrolle</b>	<i>PLA2G2D</i>	1.000	1.000	<b>0.246</b>	<b>0.003</b>
<b>Kontrolle</b>	<i>PLA2G7</i>	1.000	1.000	1.027	0.808
<b>Kontrolle</b>	<i>PLCB2</i>	1.000	1.000	0.625	0.430
<b>Kontrolle</b>	<i>PLCD1</i>	1.000	1.000	1.007	0.956

<b>Kontrolle</b>	<i>PLCG2</i>	1.000	1.000	1.127	0.387
<b>Kontrolle</b>	<i>PTGER3</i>	1.000	1.000	0.944	0.931
<b>Kontrolle</b>	<i>PTGFR</i>	1.000	1.000	0.550	0.037
<b>Kontrolle</b>	<i>PTGIS</i>	1.000	1.000	0.766	0.649
<b>Kontrolle</b>	<i>PTGS1</i>	1.000	1.000	<b>0.386</b>	<b>0.002</b>
<b>Kontrolle</b>	<i>PTGS2</i>	1.000	1.000	<b>0.272</b>	<b>0.011</b>
<b>Kontrolle</b>	<i>SERPING1</i>	1.000	1.000	1.036	0.944
<b>Kontrolle</b>	<i>TBXASI</i>	1.000	1.000	0.834	0.509
<b>Kontrolle</b>	<i>TLR2</i>	1.000	1.000	0.417	0.419
<b>Kontrolle</b>	<i>TLR3</i>	1.000	1.000	0.591	0.258
<b>Kontrolle</b>	<i>TLR4</i>	1.000	1.000	<b>0.449</b>	<b>0.014</b>
<b>Kontrolle</b>	<i>TNF</i>	1.000	1.000	1.081	0.573
<b>Kontrolle</b>	<i>TNFRSF1A</i>	1.000	1.000	0.824	0.410
<b>Kontrolle</b>	<i>TNFRSF1B</i>	1.000	1.000	0.526	0.000
<b>Kontrolle</b>	<i>TNFSF13B</i>	1.000	1.000	1.045	0.893
<b>Kontrolle</b>	<i>VCAM1</i>	1.000	1.000	<b>0.072</b>	<b>0.012</b>
<b>LPS10</b>	<i>ADRB1</i>	0.748	0.367	1.000	1.000
<b>LPS10</b>	<i>ADRB2</i>	0.218	0.031	1.000	1.000
<b>LPS10</b>	<i>ALOX5</i>	0.744	0.525	1.000	1.000
<b>LPS10</b>	<i>ANXA1</i>	1.428	0.199	1.000	1.000
<b>LPS10</b>	<i>ANXA5</i>	0.983	0.926	1.000	1.000
<b>LPS10</b>	<i>BDKRB1</i>	1.366	0.501	1.000	1.000
<b>LPS10</b>	<i>C1R</i>	1.945	0.187	1.000	1.000
<b>LPS10</b>	<i>C1S</i>	1.270	0.770	1.000	1.000
<b>LPS10</b>	<i>C2</i>	<b>2.686</b>	<b>0.043</b>	1.000	1.000
<b>LPS10</b>	<i>C3</i>	<b>27.491</b>	<b>0.000</b>	1.000	1.000
<b>LPS10</b>	<i>C5</i>	<b>0.444</b>	<b>0.045</b>	1.000	1.000
<b>LPS10</b>	<i>C6</i>	0.408	0.165	1.000	1.000
<b>LPS10</b>	<i>C7</i>	1.257	0.481	1.000	1.000

<b>LPS10</b>	<i>C8A</i>	0.925	0.573	1.000	1.000
<b>LPS10</b>	<i>C8B</i>	0.925	0.573	1.000	1.000
<b>LPS10</b>	<i>CACNA2DI</i>	0.739	0.044	1.000	1.000
<b>LPS10</b>	<i>CACNB4</i>	1.605	0.114	1.000	1.000
<b>LPS10</b>	<i>CASP1</i>	<b>7.157</b>	<b>0.032</b>	1.000	1.000
<b>LPS10</b>	<i>CASP3</i>	1.168	0.747	1.000	1.000
<b>LPS10</b>	<i>CCL11</i>	0.925	0.573	1.000	1.000
<b>LPS10</b>	<i>CCL19</i>	<b>3.631</b>	<b>0.034</b>	1.000	1.000
<b>LPS10</b>	<i>CCL2</i>	<b>15.888</b>	<b>0.000</b>	1.000	1.000
<b>LPS10</b>	<i>CD40</i>	2.114	0.074	1.000	1.000
<b>LPS10</b>	<i>CD40LG</i>	0.925	0.573	1.000	1.000
<b>LPS10</b>	<i>CD46</i>	1.039	0.359	1.000	1.000
<b>LPS10</b>	<i>CD55</i>	1.608	0.309	1.000	1.000
<b>LPS10</b>	<i>CD59</i>	0.743	0.045	1.000	1.000
<b>LPS10</b>	<i>CES1</i>	0.225	0.058	1.000	1.000
<b>LPS10</b>	<i>CFB</i>	<b>2.583</b>	<b>0.031</b>	1.000	1.000
<b>LPS10</b>	<i>CFH</i>	1.255	0.254	1.000	1.000
<b>LPS10</b>	<i>CFP</i>	0.730	0.012	1.000	1.000
<b>LPS10</b>	<i>CHUK</i>	0.851	0.164	1.000	1.000
<b>LPS10</b>	<i>CRP</i>	0.925	0.573	1.000	1.000
<b>LPS10</b>	<i>CST3</i>	0.981	0.908	1.000	1.000
<b>LPS10</b>	<i>CXCL12</i>	1.490	0.404	1.000	1.000
<b>LPS10</b>	<i>DUSP1</i>	1.639	0.239	1.000	1.000
<b>LPS10</b>	<i>FASLG</i>	0.925	0.573	1.000	1.000
<b>LPS10</b>	<i>HPGD</i>	0.588	0.259	1.000	1.000
<b>LPS10</b>	<i>ICAM</i>	<b>3.961</b>	<b>0.000</b>	1.000	1.000
<b>LPS10</b>	<i>IL13</i>	0.925	0.573	1.000	1.000
<b>LPS10</b>	<i>IL1B</i>	<b>43.644</b>	<b>0.000</b>	1.000	1.000
<b>LPS10</b>	<i>IL1R2</i>	<b>3.286</b>	<b>0.007</b>	1.000	1.000

<b>LPS10</b>	<i>ILIRL1</i>	0.689	0.208	1.000	1.000
<b>LPS10</b>	<i>IL2RA</i>	0.676	0.141	1.000	1.000
<b>LPS10</b>	<i>IL2RG</i>	1.150	0.161	1.000	1.000
<b>LPS10</b>	<i>IL-6</i>	<b>3.380</b>	<b>0.008</b>	1.000	1.000
<b>LPS10</b>	<i>IL-6R</i>	0.770	0.107	1.000	1.000
<b>LPS10</b>	<i>IL-8</i>	<b>33.540</b>	<b>0.010</b>	1.000	1.000
<b>LPS10</b>	<i>IRF3</i>	1.187	0.296	1.000	1.000
<b>LPS10</b>	<i>ITGAL</i>	1.020	0.532	1.000	1.000
<b>LPS10</b>	<i>ITGAM</i>	0.827	0.604	1.000	1.000
<b>LPS10</b>	<i>ITGB1</i>	0.755	0.056	1.000	1.000
<b>LPS10</b>	<i>ITGB2</i>	0.857	0.501	1.000	1.000
<b>LPS10</b>	<i>KLKI</i>	0.432	0.182	1.000	1.000
<b>LPS10</b>	<i>KLKB1</i>	0.925	0.573	1.000	1.000
<b>LPS10</b>	<i>KNG1</i>	0.925	0.573	1.000	1.000
<b>LPS10</b>	<i>LEP</i>	0.925	0.573	1.000	1.000
<b>LPS10</b>	<i>LTA4H</i>	0.855	0.350	1.000	1.000
<b>LPS10</b>	<i>MAPK1</i>	0.830	0.285	1.000	1.000
<b>LPS10</b>	<i>MAPK14</i>	0.854	0.087	1.000	1.000
<b>LPS10</b>	<i>MAPK3</i>	1.013	0.817	1.000	1.000
<b>LPS10</b>	<i>MAPK8</i>	0.865	0.198	1.000	1.000
<b>LPS10</b>	<i>MC2R</i>	0.925	0.573	1.000	1.000
<b>LPS10</b>	<i>MTOR</i>	0.482	0.107	1.000	1.000
<b>LPS10</b>	<i>NFKB1</i>	1.529	0.120	1.000	1.000
<b>LPS10</b>	<i>NFKB2</i>	0.925	0.573	1.000	1.000
<b>LPS10</b>	<i>NKAP</i>	0.923	0.171	1.000	1.000
<b>LPS10</b>	<i>NR3C1</i>	1.080	0.049	1.000	1.000
<b>LPS10</b>	<i>PDE4A</i>	0.977	0.964	1.000	1.000
<b>LPS10</b>	<i>PDE4B</i>	1.634	0.236	1.000	1.000
<b>LPS10</b>	<i>PLA2G1B</i>	0.610	0.282	1.000	1.000

<b>LPS10</b>	<i>PLA2G2D</i>	<b>4.057</b>	<b>0.003</b>	1.000	1.000
<b>LPS10</b>	<i>PLA2G7</i>	0.974	0.808	1.000	1.000
<b>LPS10</b>	<i>PLCB2</i>	1.601	0.430	1.000	1.000
<b>LPS10</b>	<i>PLCD1</i>	0.993	0.956	1.000	1.000
<b>LPS10</b>	<i>PLCG2</i>	0.887	0.387	1.000	1.000
<b>LPS10</b>	<i>PTGER3</i>	1.060	0.931	1.000	1.000
<b>LPS10</b>	<i>PTGFR</i>	1.818	0.037	1.000	1.000
<b>LPS10</b>	<i>PTGIS</i>	1.306	0.649	1.000	1.000
<b>LPS10</b>	<i>PTGS1</i>	<b>2.589</b>	<b>0.002</b>	1.000	1.000
<b>LPS10</b>	<i>PTGS2</i>	<b>3.675</b>	<b>0.011</b>	1.000	1.000
<b>LPS10</b>	<i>SERPING1</i>	0.965	0.944	1.000	1.000
<b>LPS10</b>	<i>TBXASI</i>	1.199	0.509	1.000	1.000
<b>LPS10</b>	<i>TLR2</i>	2.395	0.419	1.000	1.000
<b>LPS10</b>	<i>TLR3</i>	1.693	0.258	1.000	1.000
<b>LPS10</b>	<i>TLR4</i>	<b>2.226</b>	<b>0.014</b>	1.000	1.000
<b>LPS10</b>	<i>TNF</i>	0.925	0.573	1.000	1.000
<b>LPS10</b>	<i>TNFRSF1A</i>	1.214	0.410	1.000	1.000
<b>LPS10</b>	<i>TNFRSF1B</i>	1.901	0.000	1.000	1.000
<b>LPS10</b>	<i>TNFSF13B</i>	0.957	0.893	1.000	1.000
<b>LPS10</b>	<i>VCAM1</i>	<b>13.864</b>	<b>0.012</b>	1.000	1.000
<b>FV</b>	<i>ADRB1</i>	0.539	0.360	0.720	0.603
<b>FV</b>	<i>ADRB2</i>	0.680	0.335	3.116	0.074
<b>FV</b>	<i>ALOX5</i>	0.758	0.294	1.019	0.968
<b>FV</b>	<i>ANXA1</i>	0.832	0.198	0.582	0.085
<b>FV</b>	<i>ANXA5</i>	0.796	0.083	0.809	0.310
<b>FV</b>	<i>BDKRB1</i>	0.722	0.540	0.528	0.214
<b>FV</b>	<i>C1R</i>	0.658	0.343	0.339	0.086
<b>FV</b>	<i>C1S</i>	0.670	0.310	0.527	0.470
<b>FV</b>	<i>C2</i>	0.748	0.552	0.278	0.064

<b>FV</b>	<i>C3</i>	0.900	0.678	<b>0.033</b>	<b>0.000</b>
<b>FV</b>	<i>C5</i>	0.687	0.052	1.545	0.169
<b>FV</b>	<i>C6</i>	0.676	0.583	1.656	0.436
<b>FV</b>	<i>C7</i>	0.713	0.286	0.568	0.062
<b>FV</b>	<i>C8A</i>	0.872	0.404	0.943	0.581
<b>FV</b>	<i>C8B</i>	0.872	0.404	0.943	0.581
<b>FV</b>	<i>CACNA2D1</i>	0.868	0.212	1.175	0.056
<b>FV</b>	<i>CACNB4</i>	1.008	0.975	0.628	0.070
<b>FV</b>	<i>CASP1</i>	0.653	0.389	<b>0.091</b>	<b>0.003</b>
<b>FV</b>	<i>CASP3</i>	0.777	0.688	0.666	0.424
<b>FV</b>	<i>CCL11</i>	0.872	0.404	0.943	0.581
<b>FV</b>	<i>CCL19</i>	1.914	0.274	0.527	0.274
<b>FV</b>	<i>CCL2</i>	0.749	0.113	<b>0.047</b>	<b>0.000</b>
<b>FV</b>	<i>CD40</i>	0.913	0.782	<b>0.432</b>	<b>0.046</b>
<b>FV</b>	<i>CD40LG</i>	0.872	0.404	0.943	0.581
<b>FV</b>	<i>CD46</i>	0.817	0.005	0.786	0.004
<b>FV</b>	<i>CD55</i>	0.714	0.576	0.444	0.195
<b>FV</b>	<i>CD59</i>	0.886	0.323	1.193	0.125
<b>FV</b>	<i>CES1</i>	0.859	0.797	3.813	0.056
<b>FV</b>	<i>CFB</i>	0.912	0.763	0.353	0.026
<b>FV</b>	<i>CFH</i>	0.889	0.526	0.708	0.039
<b>FV</b>	<i>CFP</i>	0.992	0.954	1.359	0.113
<b>FV</b>	<i>CHUK</i>	0.849	0.158	0.997	0.942
<b>FV</b>	<i>CRP</i>	0.872	0.404	0.943	0.581
<b>FV</b>	<i>CST3</i>	0.953	0.778	0.972	0.702
<b>FV</b>	<i>CXCL12</i>	0.829	0.716	0.556	0.185
<b>FV</b>	<i>DUSP1</i>	1.046	0.918	0.638	0.248
<b>FV</b>	<i>FASLG</i>	0.872	0.404	0.943	0.581
<b>FV</b>	<i>HPGD</i>	0.872	0.793	1.484	0.374

<b>FV</b>	<i>ICAM</i>	0.868	0.255	<b>0.219</b>	<b>0.000</b>
<b>FV</b>	<i>IL13</i>	0.872	0.404	0.943	0.581
<b>FV</b>	<i>IL1B</i>	0.872	0.404	<b>0.020</b>	<b>0.000</b>
<b>FV</b>	<i>IL1R2</i>	0.900	0.776	<b>0.274</b>	<b>0.042</b>
<b>FV</b>	<i>IL1RL1</i>	0.844	0.612	1.225	0.526
<b>FV</b>	<i>IL2RA</i>	1.092	0.740	1.614	0.167
<b>FV</b>	<i>IL2RG</i>	0.883	0.279	0.768	0.059
<b>FV</b>	<i>IL-6</i>	0.987	0.948	<b>0.292</b>	<b>0.012</b>
<b>FV</b>	<i>IL-6R</i>	0.780	0.000	1.013	0.901
<b>FV</b>	<i>IL-8</i>	0.420	0.238	<b>0.013</b>	<b>0.012</b>
<b>FV</b>	<i>IRF3</i>	1.002	0.988	0.845	0.074
<b>FV</b>	<i>ITGAL</i>	0.990	0.867	0.971	0.618
<b>FV</b>	<i>ITGAM</i>	1.094	0.834	1.323	0.405
<b>FV</b>	<i>ITGB1</i>	0.908	0.368	1.202	0.033
<b>FV</b>	<i>ITGB2</i>	0.899	0.728	1.049	0.846
<b>FV</b>	<i>KLKI</i>	1.013	0.979	<b>2.344</b>	<b>0.030</b>
<b>FV</b>	<i>KLKB1</i>	0.872	0.404	0.943	0.581
<b>FV</b>	<i>KNG1</i>	0.872	0.404	0.943	0.581
<b>FV</b>	<i>LEP</i>	0.872	0.404	0.943	0.581
<b>FV</b>	<i>LTA4H</i>	0.970	0.454	1.135	0.434
<b>FV</b>	<i>MAPK1</i>	0.815	0.263	0.983	0.850
<b>FV</b>	<i>MAPK14</i>	0.853	0.096	0.998	0.976
<b>FV</b>	<i>MAPK3</i>	0.926	0.407	0.915	0.308
<b>FV</b>	<i>MAPK8</i>	0.857	0.103	0.991	0.918
<b>FV</b>	<i>MC2R</i>	0.872	0.404	0.943	0.581
<b>FV</b>	<i>MTOR</i>	0.856	0.693	1.774	0.121
<b>FV</b>	<i>NFKB1</i>	0.860	0.475	0.562	0.074
<b>FV</b>	<i>NFKB2</i>	0.872	0.404	0.943	0.581
<b>FV</b>	<i>NKAP</i>	0.846	0.016	0.916	0.128

<b>FV</b>	<i>NR3C1</i>	0.772	0.022	0.715	0.020
<b>FV</b>	<i>PDE4A</i>	1.212	0.661	1.241	0.570
<b>FV</b>	<i>PDE4B</i>	0.754	0.538	0.462	0.105
<b>FV</b>	<i>PLA2G1B</i>	0.957	0.920	1.570	0.155
<b>FV</b>	<i>PLA2G2D</i>	0.872	0.404	<b>0.215</b>	<b>0.003</b>
<b>FV</b>	<i>PLA2G7</i>	0.889	0.530	0.913	0.585
<b>FV</b>	<i>PLCB2</i>	0.947	0.920	0.592	0.337
<b>FV</b>	<i>PLCD1</i>	0.966	0.763	0.972	0.758
<b>FV</b>	<i>PLCG2</i>	1.093	0.503	1.232	0.018
<b>FV</b>	<i>PTGER3</i>	0.652	0.567	0.615	0.297
<b>FV</b>	<i>PTGFR</i>	0.725	0.193	<b>0.399</b>	<b>0.008</b>
<b>FV</b>	<i>PTGIS</i>	1.126	0.857	0.862	0.735
<b>FV</b>	<i>PTGS1</i>	0.817	0.144	<b>0.316</b>	<b>0.001</b>
<b>FV</b>	<i>PTGS2</i>	0.919	0.708	<b>0.250</b>	<b>0.012</b>
<b>FV</b>	<i>SERPING1</i>	1.048	0.845	1.086	0.862
<b>FV</b>	<i>TBXASI</i>	0.986	0.959	0.822	0.506
<b>FV</b>	<i>TLR2</i>	1.333	0.600	0.556	0.559
<b>FV</b>	<i>TLR3</i>	0.910	0.831	0.538	0.111
<b>FV</b>	<i>TLR4</i>	0.775	0.327	<b>0.348</b>	<b>0.011</b>
<b>FV</b>	<i>TNF</i>	0.872	0.404	0.943	0.581
<b>FV</b>	<i>TNFRSF1A</i>	1.107	0.636	0.912	0.455
<b>FV</b>	<i>TNFRSF1B</i>	1.078	0.743	0.567	0.105
<b>FV</b>	<i>TNFSF13B</i>	1.122	0.726	1.172	0.125
<b>FV</b>	<i>VCAM1</i>	0.940	0.886	<b>0.068</b>	<b>0.010</b>
<b>FV+LPS10</b>	<i>ADRB1</i>	0.656	0.180	0.877	0.571
<b>FV+LPS10</b>	<i>ADRB2</i>	<b>0.286</b>	<b>0.034</b>	1.310	0.544
<b>FV+LPS10</b>	<i>ALOX5</i>	0.742	0.118	0.997	0.994
<b>FV+LPS10</b>	<i>ANXA1</i>	1.405	0.060	0.984	0.944
<b>FV+LPS10</b>	<i>ANXA5</i>	0.819	0.037	0.833	0.358

<b>FV+LPS10</b>	<i>BDKRB1</i>	0.309	0.054	<b>0.226</b>	<b>0.010</b>
<b>FV+LPS10</b>	<i>C1R</i>	1.853	0.118	0.953	0.915
<b>FV+LPS10</b>	<i>C1S</i>	1.578	0.522	1.243	0.825
<b>FV+LPS10</b>	<i>C2</i>	<b>2.469</b>	<b>0.030</b>	0.919	0.815
<b>FV+LPS10</b>	<i>C3</i>	<b>32.160</b>	<b>0.000</b>	1.170	0.439
<b>FV+LPS10</b>	<i>C5</i>	<b>0.459</b>	<b>0.040</b>	1.033	0.916
<b>FV+LPS10</b>	<i>C6</i>	0.232	0.055	0.567	0.204
<b>FV+LPS10</b>	<i>C7</i>	0.975	0.929	0.776	0.298
<b>FV+LPS10</b>	<i>C8A</i>	1.072	0.704	1.159	0.357
<b>FV+LPS10</b>	<i>C8B</i>	1.072	0.704	1.159	0.357
<b>FV+LPS10</b>	<i>CACNA2DI</i>	0.813	0.128	1.101	0.327
<b>FV+LPS10</b>	<i>CACNB4</i>	1.964	0.057	1.224	0.014
<b>FV+LPS10</b>	<i>CASP1</i>	<b>5.223</b>	<b>0.033</b>	0.730	0.184
<b>FV+LPS10</b>	<i>CASP3</i>	0.760	0.671	0.651	0.424
<b>FV+LPS10</b>	<i>CCL11</i>	1.072	0.704	1.159	0.357
<b>FV+LPS10</b>	<i>CCL19</i>	2.785	0.157	0.767	0.663
<b>FV+LPS10</b>	<i>CCL2</i>	<b>14.383</b>	<b>0.000</b>	0.905	0.364
<b>FV+LPS10</b>	<i>CD40</i>	1.522	0.205	0.720	0.107
<b>FV+LPS10</b>	<i>CD40LG</i>	1.072	0.704	1.159	0.357
<b>FV+LPS10</b>	<i>CD46</i>	1.003	0.973	0.965	0.651
<b>FV+LPS10</b>	<i>CD55</i>	0.765	0.528	<b>0.476</b>	<b>0.000</b>
<b>FV+LPS10</b>	<i>CD59</i>	0.735	0.054	0.989	0.866
<b>FV+LPS10</b>	<i>CES1</i>	0.543	0.289	2.408	0.133
<b>FV+LPS10</b>	<i>CFB</i>	<b>2.325</b>	<b>0.046</b>	0.900	0.291
<b>FV+LPS10</b>	<i>CFH</i>	0.906	0.592	0.722	0.041
<b>FV+LPS10</b>	<i>CFP</i>	0.792	0.044	1.085	0.383
<b>FV+LPS10</b>	<i>CHUK</i>	0.891	0.282	1.047	0.437
<b>FV+LPS10</b>	<i>CRP</i>	1.072	0.704	1.159	0.357
<b>FV+LPS10</b>	<i>CST3</i>	0.746	0.255	0.760	0.242

<b>FV+LPS10</b>	<i>CXCL12</i>	1.254	0.607	0.842	0.388
<b>FV+LPS10</b>	<i>DUSP1</i>	0.839	0.618	0.512	0.000
<b>FV+LPS10</b>	<i>FASLG</i>	1.072	0.704	1.159	0.357
<b>FV+LPS10</b>	<i>HPGD</i>	<b>0.195</b>	<b>0.039</b>	<b>0.331</b>	<b>0.000</b>
<b>FV+LPS10</b>	<i>ICAM</i>	<b>3.705</b>	<b>0.001</b>	0.935	0.555
<b>FV+LPS10</b>	<i>IL13</i>	1.072	0.704	1.159	0.357
<b>FV+LPS10</b>	<i>IL1B</i>	<b>12.806</b>	<b>0.021</b>	0.293	0.090
<b>FV+LPS10</b>	<i>IL1R2</i>	1.009	0.976	<b>0.307</b>	<b>0.033</b>
<b>FV+LPS10</b>	<i>IL1RL1</i>	<b>0.441</b>	<b>0.044</b>	0.641	0.097
<b>FV+LPS10</b>	<i>IL2RA</i>	0.687	0.263	1.016	0.962
<b>FV+LPS10</b>	<i>IL2RG</i>	1.083	0.307	0.941	0.418
<b>FV+LPS10</b>	<i>IL-6</i>	<b>3.461</b>	<b>0.008</b>	1.024	0.535
<b>FV+LPS10</b>	<i>IL-6R</i>	0.624	0.015	0.810	0.150
<b>FV+LPS10</b>	<i>IL-8</i>	15.366	0.017	<b>0.458</b>	<b>0.001</b>
<b>FV+LPS10</b>	<i>IRF3</i>	0.870	0.461	0.733	0.122
<b>FV+LPS10</b>	<i>ITGAL</i>	1.046	0.471	1.026	0.650
<b>FV+LPS10</b>	<i>ITGAM</i>	0.911	0.795	1.102	0.529
<b>FV+LPS10</b>	<i>ITGB1</i>	0.735	0.053	0.973	0.628
<b>FV+LPS10</b>	<i>ITGB2</i>	0.824	0.459	0.961	0.804
<b>FV+LPS10</b>	<i>KLK1</i>	0.967	0.946	<b>2.237</b>	<b>0.016</b>
<b>FV+LPS10</b>	<i>KLKB1</i>	1.072	0.704	1.159	0.357
<b>FV+LPS10</b>	<i>KNG1</i>	1.072	0.704	1.159	0.357
<b>FV+LPS10</b>	<i>LEP</i>	1.072	0.704	1.159	0.357
<b>FV+LPS10</b>	<i>LTA4H</i>	0.924	0.289	1.080	0.626
<b>FV+LPS10</b>	<i>MAPK1</i>	1.027	0.888	1.237	0.202
<b>FV+LPS10</b>	<i>MAPK14</i>	0.908	0.301	1.063	0.417
<b>FV+LPS10</b>	<i>MAPK3</i>	0.862	0.140	0.851	0.120
<b>FV+LPS10</b>	<i>MAPK8</i>	0.955	0.614	1.103	0.369
<b>FV+LPS10</b>	<i>MC2R</i>	1.540	0.231	1.665	0.185

<b>FV+LPS10</b>	<i>MTOR</i>	1.242	0.527	<b>2.574</b>	<b>0.022</b>
<b>FV+LPS10</b>	<i>NFKB1</i>	1.583	0.023	1.035	0.871
<b>FV+LPS10</b>	<i>NFKB2</i>	1.072	0.704	1.159	0.357
<b>FV+LPS10</b>	<i>NKAP</i>	0.928	0.158	1.006	0.908
<b>FV+LPS10</b>	<i>NR3C1</i>	1.065	0.567	0.986	0.895
<b>FV+LPS10</b>	<i>PDE4A</i>	0.742	0.544	0.760	0.528
<b>FV+LPS10</b>	<i>PDE4B</i>	<b>3.361</b>	<b>0.044</b>	<b>2.057</b>	<b>0.010</b>
<b>FV+LPS10</b>	<i>PLA2G1B</i>	1.213	0.638	1.990	0.014
<b>FV+LPS10</b>	<i>PLA2G2D</i>	<b>3.466</b>	<b>0.003</b>	0.854	0.443
<b>FV+LPS10</b>	<i>PLA2G7</i>	0.895	0.357	0.919	0.092
<b>FV+LPS10</b>	<i>PLCB2</i>	1.288	0.614	0.804	0.643
<b>FV+LPS10</b>	<i>PLCD1</i>	0.705	0.044	0.709	0.017
<b>FV+LPS10</b>	<i>PLCG2</i>	0.980	0.886	1.105	0.292
<b>FV+LPS10</b>	<i>PTGER3</i>	0.851	0.811	0.803	0.424
<b>FV+LPS10</b>	<i>PTGFR</i>	1.680	0.055	0.924	0.617
<b>FV+LPS10</b>	<i>PTGIS</i>	0.699	0.562	0.535	0.102
<b>FV+LPS10</b>	<i>PTGS1</i>	1.516	0.030	0.586	0.002
<b>FV+LPS10</b>	<i>PTGS2</i>	1.527	0.075	<b>0.416</b>	<b>0.008</b>
<b>FV+LPS10</b>	<i>SERPING1</i>	1.091	0.749	1.131	0.802
<b>FV+LPS10</b>	<i>TBXASI</i>	1.355	0.557	1.130	0.809
<b>FV+LPS10</b>	<i>TLR2</i>	3.591	0.090	1.499	0.675
<b>FV+LPS10</b>	<i>TLR3</i>	2.324	0.121	1.373	0.062
<b>FV+LPS10</b>	<i>TLR4</i>	1.469	0.154	0.660	0.109
<b>FV+LPS10</b>	<i>TNF</i>	1.072	0.704	1.159	0.357
<b>FV+LPS10</b>	<i>TNFRSF1A</i>	1.225	0.378	1.009	0.935
<b>FV+LPS10</b>	<i>TNFRSF1B</i>	1.112	0.365	0.585	0.026
<b>FV+LPS10</b>	<i>TNFSF13B</i>	1.055	0.868	1.103	0.287
<b>FV+LPS10</b>	<i>VCAM1</i>	<b>6.110</b>	<b>0.024</b>	<b>0.441</b>	<b>0.001</b>

**Tabelle A5:** Detaillierte Ergebnisse des oxidativen Stressarrays

Stimulation		gegen Ko		gegen H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>		gegen	
		RQ	p-Wert	RQ	p-Wert	RQ	p-Wert
<b>Kontrolle</b>	<i>I8S</i>	1.000	1.000	0.048	0.485	0.048	0.482
<b>Kontrolle</b>	<i>ANGPTL7</i>	1.000	1.000	3.508	0.170	1.064	0.703
<b>Kontrolle</b>	<i>ANXA5</i>	1.000	1.000	2.214	0.073	1.963	0.082
<b>Kontrolle</b>	<i>APOE</i>	1.000	1.000	0.840	0.649	0.471	0.122
<b>Kontrolle</b>	<i>ATM</i>	1.000	1.000	1.063	0.755	0.999	0.997
<b>Kontrolle</b>	<i>ATOX1</i>	1.000	1.000	0.830	0.558	0.805	0.598
<b>Kontrolle</b>	<i>BAX</i>	1.000	1.000	0.775	0.371	0.487	0.056
<b>Kontrolle</b>	<i>CASPI</i>	1.000	1.000	2.022	0.108	0.056	0.154
<b>Kontrolle</b>	<i>CASP10</i>	1.000	1.000	2.687	0.506	0.876	0.717
<b>Kontrolle</b>	<i>CASP8</i>	1.000	1.000	2.472	0.062	1.160	0.646
<b>Kontrolle</b>	<i>CAT</i>	1.000	1.000	<b>0.024</b>	<b>0.000</b>	0.115	0.156
<b>Kontrolle</b>	<i>CCL21</i>	1.000	1.000	1.319	0.534	1.518	0.215
<b>Kontrolle</b>	<i>CCL4</i>	1.000	1.000	3.037	0.182	0.155	0.118
<b>Kontrolle</b>	<i>CCL5</i>	1.000	1.000	20.243	0.059	<b>0.077</b>	<b>0.047</b>
<b>Kontrolle</b>	<i>CCNC</i>	1.000	1.000	1.633	0.067	1.761	0.036
<b>Kontrolle</b>	<i>CCNG1</i>	1.000	1.000	1.089	0.639	0.980	0.920
<b>Kontrolle</b>	<i>CCS</i>	1.000	1.000	1.062	0.653	0.627	0.025
<b>Kontrolle</b>	<i>CHEK2</i>	1.000	1.000	1.064	0.905	0.835	0.730
<b>Kontrolle</b>	<i>CSF2</i>	1.000	1.000	1.829	0.113	<b>0.482</b>	<b>0.006</b>
<b>Kontrolle</b>	<i>CXCL10</i>	1.000	1.000	4.125	0.076	<b>0.000</b>	<b>0.003</b>
<b>Kontrolle</b>	<i>CYP1A1</i>	1.000	1.000	3.876	0.095	0.704	0.578
<b>Kontrolle</b>	<i>CYP2E1</i>	1.000	1.000	3.794	0.239	2.531	0.369
<b>Kontrolle</b>	<i>CYP7A1</i>	1.000	1.000	5.007	0.219	9.819	0.159
<b>Kontrolle</b>	<i>DDIT3</i>	1.000	1.000	0.821	0.663	0.354	0.117
<b>Kontrolle</b>	<i>DHCR24</i>	1.000	1.000	0.866	0.841	1.064	0.932
<b>Kontrolle</b>	<i>DNAJA1</i>	1.000	1.000	1.947	0.001	1.317	0.244

<b>Kontrolle</b>	<i>DUOX1</i>	1.000	1.000	1.308	0.347	1.606	0.412
<b>Kontrolle</b>	<i>DUOX2</i>	1.000	1.000	0.813	0.316	0.822	0.459
<b>Kontrolle</b>	<i>DUSP1</i>	1.000	1.000	1.673	0.137	0.501	0.095
<b>Kontrolle</b>	<i>EPHX2</i>	1.000	1.000	0.803	0.440	0.834	0.475
<b>Kontrolle</b>	<i>ERCC1</i>	1.000	1.000	0.988	0.927	0.858	0.530
<b>Kontrolle</b>	<i>FMO1</i>	1.000	1.000	<b>0.183</b>	<b>0.048</b>	1.427	0.324
<b>Kontrolle</b>	<i>GDF15</i>	1.000	1.000	2.170	0.059	0.659	0.461
<b>Kontrolle</b>	<i>GLRX2</i>	1.000	1.000	0.739	0.268	0.596	0.169
<b>Kontrolle</b>	<i>GLRX2</i>	1.000	1.000	0.977	0.932	0.794	0.433
<b>Kontrolle</b>	<i>GPX1</i>	1.000	1.000	1.230	0.347	0.551	0.074
<b>Kontrolle</b>	<i>GPX3</i>	1.000	1.000	1.797	0.173	0.837	0.654
<b>Kontrolle</b>	<i>GPX4</i>	1.000	1.000	0.876	0.413	0.946	0.783
<b>Kontrolle</b>	<i>GPX5</i>	1.000	1.000	5.101	0.150	3.402	0.229
<b>Kontrolle</b>	<i>GPX6</i>	1.000	1.000	2.664	0.379	2.677	0.371
<b>Kontrolle</b>	<i>GSR</i>	1.000	1.000	0.942	0.611	0.679	0.137
<b>Kontrolle</b>	<i>GSS</i>	1.000	1.000	0.980	0.910	0.732	0.164
<b>Kontrolle</b>	<i>GSTZ1</i>	1.000	1.000	1.620	0.097	1.653	0.083
<b>Kontrolle</b>	<i>GTF2I</i>	1.000	1.000	1.237	0.378	1.445	0.077
<b>Kontrolle</b>	<i>HMOX1</i>	1.000	1.000	0.924	0.673	<b>0.451</b>	<b>0.004</b>
<b>Kontrolle</b>	<i>HSF1</i>	1.000	1.000	1.038	0.749	0.629	0.015
<b>Kontrolle</b>	<i>HSPA1L</i>	1.000	1.000	1.089	0.830	<b>2.243</b>	<b>0.018</b>
<b>Kontrolle</b>	<i>HSPA4</i>	1.000	1.000	1.640	0.057	1.422	0.105
<b>Kontrolle</b>	<i>HSPA5</i>	1.000	1.000	1.231	0.411	0.812	0.457
<b>Kontrolle</b>	<i>HSPA8</i>	1.000	1.000	1.252	0.181	1.198	0.290
<b>Kontrolle</b>	<i>HSPD1</i>	1.000	1.000	1.092	0.385	0.925	0.408
<b>Kontrolle</b>	<i>HSPE1</i>	1.000	1.000	0.745	0.355	0.788	0.468
<b>Kontrolle</b>	<i>HSPH1</i>	1.000	1.000	1.946	0.028	1.702	0.074
<b>Kontrolle</b>	<i>KRT1</i>	1.000	1.000	3.794	0.239	2.531	0.369
<b>Kontrolle</b>	<i>LPO</i>	1.000	1.000	3.794	0.239	2.531	0.369

<b>Kontrolle</b>	<i>LTA</i>	1.000	1.000	1.252	0.493	0.416	0.081
<b>Kontrolle</b>	<i>MDM2</i>	1.000	1.000	<b>2.301</b>	<b>0.042</b>	1.214	0.633
<b>Kontrolle</b>	<i>MGST3</i>	1.000	1.000	0.934	0.740	0.878	0.584
<b>Kontrolle</b>	<i>MIF</i>	1.000	1.000	1.084	0.680	1.021	0.919
<b>Kontrolle</b>	<i>MSRA</i>	1.000	1.000	1.280	0.137	0.878	0.182
<b>Kontrolle</b>	<i>NCF1</i>	1.000	1.000	1.470	0.082	0.580	0.226
<b>Kontrolle</b>	<i>NCF2</i>	1.000	1.000	1.430	0.382	0.552	0.110
<b>Kontrolle</b>	<i>NFKB1</i>	1.000	1.000	1.562	0.020	0.582	0.015
<b>Kontrolle</b>	<i>NFKBIA</i>	1.000	1.000	2.462	0.129	<b>0.154</b>	<b>0.019</b>
<b>Kontrolle</b>	<i>NOS2</i>	1.000	1.000	0.744	0.286	<b>0.142</b>	<b>0.024</b>
<b>Kontrolle</b>	<i>NUDT1</i>	1.000	1.000	1.125	0.403	0.793	0.128
<b>Kontrolle</b>	<i>OXSRI</i>	1.000	1.000	0.846	0.646	0.762	0.475
<b>Kontrolle</b>	<i>PCNA</i>	1.000	1.000	0.951	0.936	0.979	0.970
<b>Kontrolle</b>	<i>PDLIM1</i>	1.000	1.000	1.701	0.262	2.059	0.160
<b>Kontrolle</b>	<i>PNKP</i>	1.000	1.000	0.623	0.172	<b>0.393</b>	<b>0.039</b>
<b>Kontrolle</b>	<i>POR</i>	1.000	1.000	0.586	0.354	0.348	0.136
<b>Kontrolle</b>	<i>PRDX1</i>	1.000	1.000	1.048	0.661	0.701	0.066
<b>Kontrolle</b>	<i>PRDX2</i>	1.000	1.000	0.571	0.292	0.457	0.177
<b>Kontrolle</b>	<i>PRDX3</i>	1.000	1.000	1.387	0.049	1.455	0.032
<b>Kontrolle</b>	<i>PRDX4</i>	1.000	1.000	0.156	0.057	0.128	0.069
<b>Kontrolle</b>	<i>PRDX5</i>	1.000	1.000	0.705	0.306	0.545	0.150
<b>Kontrolle</b>	<i>PRDX6</i>	1.000	1.000	1.079	0.629	0.875	0.233
<b>Kontrolle</b>	<i>PRNP</i>	1.000	1.000	1.021	0.754	0.906	0.306
<b>Kontrolle</b>	<i>PTGS1</i>	1.000	1.000	2.079	0.090	0.460	0.089
<b>Kontrolle</b>	<i>PTGS2</i>	1.000	1.000	<b>3.872</b>	<b>0.006</b>	1.036	0.929
<b>Kontrolle</b>	<i>RAD50</i>	1.000	1.000	2.030	0.058	1.069	0.811
<b>Kontrolle</b>	<i>SERBP1</i>	1.000	1.000	1.725	0.109	1.220	0.439
<b>Kontrolle</b>	<i>SERPINE1</i>	1.000	1.000	0.762	0.525	1.759	0.250
<b>Kontrolle</b>	<i>SOD1</i>	1.000	1.000	<b>0.198</b>	<b>0.043</b>	<b>0.212</b>	<b>0.049</b>

<b>Kontrolle</b>	<i>SOD2</i>	1.000	1.000	1.380	0.190	<b>0.106</b>	<b>0.001</b>
<b>Kontrolle</b>	<i>STK25</i>	1.000	1.000	0.982	0.795	0.818	0.158
<b>Kontrolle</b>	<i>TNFRSF1A</i>	1.000	1.000	1.056	0.736	0.637	0.062
<b>Kontrolle</b>	<i>TNFSF10</i>	1.000	1.000	25.465	0.161	1.304	0.163
<b>Kontrolle</b>	<i>TP53</i>	1.000	1.000	1.244	0.312	0.650	0.116
<b>Kontrolle</b>	<i>TPO</i>	1.000	1.000	0.464	0.402	0.561	0.494
<b>Kontrolle</b>	<i>TXNRD1</i>	1.000	1.000	1.117	0.303	0.562	0.055
<b>Kontrolle</b>	<i>TXNRD2</i>	1.000	1.000	0.856	0.597	0.766	0.488
<b>Kontrolle</b>	<i>UNG</i>	1.000	1.000	0.716	0.306	0.620	0.137
<b>FV</b>	<i>I8S</i>	29.671	0.448	1.430	0.443	1.430	0.573
<b>FV</b>	<i>ANGPTL7</i>	0.746	0.758	2.618	0.405	0.794	0.808
<b>FV</b>	<i>ANXA5</i>	<b>0.364</b>	<b>0.035</b>	0.805	0.435	0.714	0.288
<b>FV</b>	<i>APOE</i>	1.050	0.914	0.882	0.721	0.495	0.118
<b>FV</b>	<i>ATM</i>	0.796	0.378	0.846	0.414	0.795	0.355
<b>FV</b>	<i>ATOX1</i>	0.707	0.567	0.587	0.379	0.569	0.376
<b>FV</b>	<i>BAX</i>	0.728	0.313	0.564	0.069	<b>0.355</b>	<b>0.014</b>
<b>FV</b>	<i>CASP1</i>	0.289	0.428	0.861	0.301	<b>0.016</b>	<b>0.013</b>
<b>FV</b>	<i>CASP10</i>	0.426	0.060	0.775	0.511	<b>0.373</b>	<b>0.033</b>
<b>FV</b>	<i>CASP8</i>	0.432	0.136	1.068	0.873	0.501	0.183
<b>FV</b>	<i>CAT</i>	1.122	0.863	0.026	0.079	0.129	0.126
<b>FV</b>	<i>CCL21</i>	0.741	0.311	0.977	0.954	1.124	0.619
<b>FV</b>	<i>CCL4</i>	0.600	0.477	1.823	0.319	<b>0.093</b>	<b>0.025</b>
<b>FV</b>	<i>CCL5</i>	<b>0.032</b>	<b>0.041</b>	0.657	0.565	<b>0.002</b>	<b>0.033</b>
<b>FV</b>	<i>CCNC</i>	0.555	0.069	0.906	0.655	0.977	0.903
<b>FV</b>	<i>CCNG1</i>	0.747	0.554	0.813	0.668	0.732	0.533
<b>FV</b>	<i>CCS</i>	0.726	0.293	0.771	0.371	0.455	0.067
<b>FV</b>	<i>CHEK2</i>	1.394	0.446	1.483	0.367	1.164	0.695
<b>FV</b>	<i>CSF2</i>	0.558	0.094	1.021	0.949	<b>0.269</b>	<b>0.012</b>
<b>FV</b>	<i>CXCL10</i>	<b>0.082</b>	<b>0.025</b>	0.337	0.141	<b>0.000</b>	<b>0.017</b>

<b>FV</b>	<i>CYP1A1</i>	0.273	0.111	1.057	0.912	<b>0.192</b>	<b>0.048</b>
<b>FV</b>	<i>CYP2E1</i>	0.623	0.657	2.363	0.259	1.576	0.501
<b>FV</b>	<i>CYP7A1</i>	0.118	0.104	0.592	0.377	1.161	0.889
<b>FV</b>	<i>DDIT3</i>	0.951	0.889	0.781	0.477	<b>0.337</b>	<b>0.015</b>
<b>FV</b>	<i>DHCR24</i>	1.306	0.714	1.131	0.543	1.390	0.285
<b>FV</b>	<i>DNAJA1</i>	0.590	0.331	1.149	0.770	0.777	0.618
<b>FV</b>	<i>DUOX1</i>	0.418	0.054	0.547	0.094	0.672	0.473
<b>FV</b>	<i>DUOX2</i>	0.999	0.995	0.813	0.230	0.821	0.457
<b>FV</b>	<i>DUSP1</i>	0.409	0.142	0.684	0.429	0.205	0.051
<b>FV</b>	<i>EPHX2</i>	0.856	0.775	0.687	0.501	0.714	0.536
<b>FV</b>	<i>ERCCI</i>	0.691	0.267	0.683	0.256	0.593	0.168
<b>FV</b>	<i>FMO1</i>	2.807	0.187	0.515	0.352	4.005	0.105
<b>FV</b>	<i>GDF15</i>	<b>0.23</b>	<b>0.048</b>	0.499	0.164	<b>0.152</b>	<b>0.034</b>
<b>FV</b>	<i>GLRX2</i>	0.786	0.703	0.755	0.083	0.610	0.154
<b>FV</b>	<i>GLRX2</i>	1.022	0.929	0.768	0.673	0.624	0.498
<b>FV</b>	<i>GPX1</i>	0.803	0.432	0.987	0.960	<b>0.443</b>	<b>0.041</b>
<b>FV</b>	<i>GPX3</i>	0.556	0.166	0.998	0.995	0.465	0.079
<b>FV</b>	<i>GPX4</i>	0.864	0.625	0.756	0.362	0.817	0.513
<b>FV</b>	<i>GPX5</i>	0.463	0.449	2.363	0.259	1.576	0.501
<b>FV</b>	<i>GPX6</i>	0.465	0.444	1.239	0.807	1.245	0.695
<b>FV</b>	<i>GSR</i>	0.833	0.427	0.785	0.300	0.565	0.080
<b>FV</b>	<i>GSS</i>	0.504	0.245	0.494	0.237	0.369	0.137
<b>FV</b>	<i>GSTZ1</i>	0.677	0.216	1.097	0.693	1.120	0.640
<b>FV</b>	<i>GTF2I</i>	0.648	0.192	0.802	0.498	0.937	0.816
<b>FV</b>	<i>HMOX1</i>	0.538	0.267	0.497	0.223	0.243	0.074
<b>FV</b>	<i>HSF1</i>	0.809	0.478	0.839	0.558	0.509	0.097
<b>FV</b>	<i>HSPA1L</i>	1.231	0.472	1.340	0.521	<b>2.761</b>	<b>0.027</b>
<b>FV</b>	<i>HSPA4</i>	0.622	0.056	1.020	0.817	0.885	0.255
<b>FV</b>	<i>HSPA5</i>	0.669	0.306	0.823	0.550	0.543	0.141

<b>FV</b>	<i>HSPA8</i>	0.676	0.258	0.847	0.578	0.810	0.498
<b>FV</b>	<i>HSPD1</i>	0.867	0.614	0.947	0.840	0.802	0.449
<b>FV</b>	<i>HSPE1</i>	0.995	0.989	0.741	0.371	0.784	0.478
<b>FV</b>	<i>HSPH1</i>	0.538	0.043	1.047	0.814	0.916	0.706
<b>FV</b>	<i>KRT1</i>	0.364	0.337	1.380	0.377	0.920	0.791
<b>FV</b>	<i>LPO</i>	0.364	0.337	1.380	0.377	0.920	0.791
<b>FV</b>	<i>LTA</i>	0.661	0.293	0.828	0.621	0.275	0.034
<b>FV</b>	<i>MDM2</i>	0.371	0.183	0.853	0.795	0.450	0.269
<b>FV</b>	<i>MGST3</i>	0.754	0.631	0.704	0.564	0.662	0.509
<b>FV</b>	<i>MIF</i>	1.301	0.411	1.411	0.332	1.329	0.373
<b>FV</b>	<i>MSRA</i>	1.893	0.337	2.423	0.222	1.662	0.425
<b>FV</b>	<i>NCF1</i>	0.681	0.324	1.001	0.998	0.395	0.100
<b>FV</b>	<i>NCF2</i>	0.463	0.177	0.663	0.379	<b>0.256</b>	<b>0.034</b>
<b>FV</b>	<i>NFKBI</i>	0.503	0.029	0.785	0.220	<b>0.293</b>	<b>0.007</b>
<b>FV</b>	<i>NFKBIA</i>	0.401	0.123	0.986	0.902	<b>0.062</b>	<b>0.002</b>
<b>FV</b>	<i>NOS2</i>	1.385	0.238	1.031	0.833	0.196	0.102
<b>FV</b>	<i>NUDT1</i>	0.637	0.268	0.716	0.364	0.505	0.179
<b>FV</b>	<i>OXSR1</i>	0.968	0.938	0.819	0.534	0.737	0.385
<b>FV</b>	<i>PCNA</i>	1.343	0.617	1.278	0.507	1.315	0.251
<b>FV</b>	<i>PDLIM1</i>	0.55	0.213	0.936	0.846	1.133	0.730
<b>FV</b>	<i>PNKP</i>	4.477	0.058	2.787	0.144	1.760	0.333
<b>FV</b>	<i>POR</i>	2.787	0.223	1.632	0.481	0.970	0.958
<b>FV</b>	<i>PRDX1</i>	0.779	0.439	0.816	0.506	0.546	0.161
<b>FV</b>	<i>PRDX2</i>	1.115	0.868	0.637	0.490	0.509	0.339
<b>FV</b>	<i>PRDX3</i>	0.554	0.204	0.769	0.438	0.807	0.515
<b>FV</b>	<i>PRDX4</i>	5.773	0.152	0.901	0.879	0.739	0.676
<b>FV</b>	<i>PRDX5</i>	1.149	0.802	0.810	0.693	0.626	0.437
<b>FV</b>	<i>PRDX6</i>	0.831	0.395	0.897	0.612	0.728	0.242
<b>FV</b>	<i>PRNP</i>	0.833	0.374	0.851	0.424	0.755	0.233

<b>FV</b>	<i>PTGS1</i>	0.605	0.445	1.257	0.708	0.278	0.125
<b>FV</b>	<i>PTGS2</i>	0.384	0.360	1.487	0.676	0.398	0.379
<b>FV</b>	<i>RAD50</i>	0.745	0.592	1.512	0.452	0.797	0.671
<b>FV</b>	<i>SERBP1</i>	0.374	0.195	0.645	0.467	0.456	0.284
<b>FV</b>	<i>SERPINE1</i>	0.910	0.861	0.693	0.476	1.600	0.379
<b>FV</b>	<i>SOD1</i>	3.123	0.115	0.618	0.244	0.661	0.317
<b>FV</b>	<i>SOD2</i>	0.575	0.423	0.794	0.700	0.061	0.063
<b>FV</b>	<i>STK25</i>	0.802	0.599	0.787	0.576	0.656	0.384
<b>FV</b>	<i>TNFRSF1A</i>	0.823	0.493	0.869	0.596	0.524	0.170
<b>FV</b>	<i>TNFSF10</i>	0.906	0.810	23.070	0.165	1.181	0.695
<b>FV</b>	<i>TP53</i>	0.713	0.168	0.888	0.328	<b>0.464</b>	<b>0.044</b>
<b>FV</b>	<i>TPO</i>	2.329	0.368	1.081	0.790	1.307	0.532
<b>FV</b>	<i>TXNRD1</i>	0.586	0.338	0.654	0.405	0.329	0.128
<b>FV</b>	<i>TXNRD2</i>	0.915	0.875	0.783	0.664	0.701	0.553
<b>FV</b>	<i>UNG</i>	1.923	0.166	1.377	0.440	1.192	0.639
<b>100H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	<i>I8S</i>	20.755	0.485	1.000	1.000	1.001	0.999
<b>100H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	<i>ANGPTL7</i>	0.285	0.170	1.000	1.000	0.303	0.180
<b>100H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	<i>ANXA5</i>	0.452	0.073	1.000	1.000	0.887	0.511
<b>100H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	<i>APOE</i>	1.190	0.649	1.000	1.000	0.561	0.077
<b>100H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	<i>ATM</i>	0.941	0.755	1.000	1.000	0.940	0.729
<b>100H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	<i>ATOX1</i>	1.205	0.558	1.000	1.000	0.970	0.924
<b>100H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	<i>BAX</i>	1.290	0.371	1.000	1.000	0.629	0.101
<b>100H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	<i>CASPI</i>	0.372	0.506	1.000	1.000	<b>0.021</b>	<b>0.017</b>
<b>100H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	<i>CASP10</i>	0.495	0.108	1.000	1.000	0.433	0.067
<b>100H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	<i>CASP8</i>	0.405	0.062	1.000	1.000	<b>0.469</b>	<b>0.016</b>
<b>100H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	<i>CAT</i>	<b>42.553</b>	<b>0.000</b>	1.000	1.000	4.898	0.221
<b>100H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	<i>CCL21</i>	0.758	0.534	1.000	1.000	1.151	0.747
<b>100H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	<i>CCL4</i>	0.329	0.182	1.000	1.000	<b>0.051</b>	<b>0.002</b>
<b>100H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	<i>CCL5</i>	0.049	0.059	1.000	1.000	<b>0.004</b>	<b>0.004</b>

<b>100H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	<i>CCNC</i>	0.612	0.067	1.000	1.000	1.078	0.666
<b>100H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	<i>CCNG1</i>	0.919	0.639	1.000	1.000	0.900	0.610
<b>100H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	<i>CCS</i>	0.941	0.653	1.000	1.000	0.590	0.006
<b>100H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	<i>CHEK2</i>	0.940	0.905	1.000	1.000	0.785	0.638
<b>100H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	<i>CSF2</i>	0.547	0.113	1.000	1.000	<b>0.264</b>	<b>0.018</b>
<b>100H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	<i>CXCL10</i>	0.242	0.076	1.000	1.000	<b>0.000</b>	<b>0.000</b>
<b>100H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	<i>CYP1A1</i>	0.258	0.095	1.000	1.000	<b>0.182</b>	<b>0.039</b>
<b>100H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	<i>CYP2E1</i>	0.264	0.239	1.000	1.000	0.667	0.078
<b>100H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	<i>CYP7A1</i>	0.200	0.219	1.000	1.000	1.961	0.551
<b>100H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	<i>DDIT3</i>	1.217	0.663	1.000	1.000	0.431	0.079
<b>100H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	<i>DHCR24</i>	1.155	0.841	1.000	1.000	1.229	0.464
<b>100H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	<i>DNAJAI</i>	0.513	0.001	1.000	1.000	0.676	0.145
<b>100H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	<i>DUOX1</i>	0.764	0.347	1.000	1.000	1.228	0.683
<b>100H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	<i>DUOX2</i>	1.229	0.316	1.000	1.000	1.010	0.967
<b>100H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	<i>DUSP1</i>	0.598	0.137	1.000	1.000	<b>0.299</b>	<b>0.024</b>
<b>100H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	<i>EPHX2</i>	1.246	0.440	1.000	1.000	1.039	0.847
<b>100H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	<i>ERCC1</i>	1.012	0.927	1.000	1.000	0.868	0.531
<b>100H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	<i>FMO1</i>	<b>5.453</b>	<b>0.048</b>	1.000	1.000	<b>7.781</b>	<b>0.016</b>
<b>100H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	<i>GDF15</i>	0.461	0.059	1.000	1.000	0.304	0.107
<b>100H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	<i>GLRX2</i>	1.353	0.268	1.000	1.000	0.813	0.028
<b>100H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	<i>GLRX2</i>	1.023	0.932	1.000	1.000	0.807	0.456
<b>100H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	<i>GPX1</i>	0.813	0.347	1.000	1.000	<b>0.448</b>	<b>0.007</b>
<b>100H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	<i>GPX3</i>	0.556	0.173	1.000	1.000	<b>0.466</b>	<b>0.074</b>
<b>100H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	<i>GPX4</i>	1.142	0.413	1.000	1.000	1.080	0.642
<b>100H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	<i>GPX5</i>	0.196	0.150	1.000	1.000	0.667	0.078
<b>100H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	<i>GPX6</i>	0.375	0.379	1.000	1.000	1.005	0.995
<b>100H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	<i>GSR</i>	1.061	0.611	1.000	1.000	0.720	0.193
<b>100H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	<i>GSS</i>	1.021	0.910	1.000	1.000	0.747	0.113
<b>100H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	<i>GSTZ1</i>	0.617	0.097	1.000	1.000	1.020	0.844

<b>100H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	<i>GTF2I</i>	0.808	0.378	1.000	1.000	1.168	0.533
<b>100H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	<i>HMOX1</i>	1.083	0.673	1.000	1.000	<b>0.489</b>	<b>0.042</b>
<b>100H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	<i>HSF1</i>	0.963	0.749	1.000	1.000	0.606	0.017
<b>100H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	<i>HSPA1L</i>	0.918	0.830	1.000	1.000	2.060	0.157
<b>100H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	<i>HSPA4</i>	0.610	0.057	1.000	1.000	0.868	0.097
<b>100H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	<i>HSPA5</i>	0.813	0.411	1.000	1.000	0.660	0.103
<b>100H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	<i>HSPA8</i>	0.799	0.181	1.000	1.000	0.957	0.697
<b>100H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	<i>HSPD1</i>	0.916	0.385	1.000	1.000	0.847	0.055
<b>100H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	<i>HSPE1</i>	1.343	0.355	1.000	1.000	1.059	0.775
<b>100H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	<i>HSPH1</i>	0.514	0.028	1.000	1.000	0.875	0.529
<b>100H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	<i>KRT1</i>	0.264	0.239	1.000	1.000	0.667	0.078
<b>100H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	<i>LPO</i>	0.264	0.239	1.000	1.000	0.667	0.078
<b>100H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	<i>LTA</i>	0.799	0.493	1.000	1.000	<b>0.332</b>	<b>0.045</b>
<b>100H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	<i>MDM2</i>	0.435	0.042	1.000	1.000	0.528	0.183
<b>100H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	<i>MGST3</i>	1.071	0.740	1.000	1.000	0.940	0.710
<b>100H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	<i>MIF</i>	0.922	0.680	1.000	1.000	0.942	0.591
<b>100H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	<i>MSRA</i>	0.782	0.137	1.000	1.000	0.686	0.072
<b>100H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	<i>NCF1</i>	0.680	0.082	1.000	1.000	0.395	0.086
<b>100H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	<i>NCF2</i>	0.699	0.382	1.000	1.000	0.386	0.080
<b>100H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	<i>NFKB1</i>	0.640	0.020	1.000	1.000	<b>0.373</b>	<b>0.002</b>
<b>100H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	<i>NFKBIA</i>	0.406	0.129	1.000	1.000	<b>0.062</b>	<b>0.002</b>
<b>100H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	<i>NOS2</i>	1.343	0.286	1.000	1.000	0.190	0.055
<b>100H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	<i>NUDT1</i>	0.889	0.403	1.000	1.000	0.705	0.036
<b>100H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	<i>OXSRI</i>	1.182	0.646	1.000	1.000	0.900	0.445
<b>100H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	<i>PCNA</i>	1.051	0.936	1.000	1.000	1.029	0.938
<b>100H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	<i>PDLIM1</i>	0.588	0.262	1.000	1.000	1.211	0.608
<b>100H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	<i>PNKP</i>	1.606	0.172	1.000	1.000	0.631	0.043
<b>100H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	<i>POR</i>	1.707	0.354	1.000	1.000	0.594	0.025
<b>100H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	<i>PRDX1</i>	0.954	0.661	1.000	1.000	0.669	0.048

<b>100H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	<i>PRDX2</i>	1.750	0.292	1.000	1.000	0.799	0.385
<b>100H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	<i>PRDX3</i>	0.721	0.049	1.000	1.000	1.049	0.640
<b>100H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	<i>PRDX4</i>	6.408	0.057	1.000	1.000	0.820	0.100
<b>100H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	<i>PRDX5</i>	1.419	0.306	1.000	1.000	0.773	0.368
<b>100H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	<i>PRDX6</i>	0.927	0.629	1.000	1.000	0.811	0.235
<b>100H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	<i>PRNP</i>	0.980	0.754	1.000	1.000	0.888	0.199
<b>100H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	<i>PTGS1</i>	0.481	0.090	1.000	1.000	<b>0.221</b>	<b>0.038</b>
<b>100H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	<i>PTGS2</i>	<b>0.258</b>	<b>0.006</b>	1.000	1.000	0.268	0.079
<b>100H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	<i>RAD50</i>	0.493	0.058	1.000	1.000	0.527	0.045
<b>100H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	<i>SERBP1</i>	0.580	0.109	1.000	1.000	0.708	0.057
<b>100H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	<i>SERPINE1</i>	1.313	0.525	1.000	1.000	<b>2.309</b>	<b>0.023</b>
<b>100H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	<i>SOD1</i>	<b>5.054</b>	<b>0.043</b>	1.000	1.000	1.070	0.883
<b>100H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	<i>SOD2</i>	0.725	0.190	1.000	1.000	<b>0.077</b>	<b>0.002</b>
<b>100H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	<i>STK25</i>	1.018	0.795	1.000	1.000	0.833	0.188
<b>100H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	<i>TNFRSF1A</i>	0.947	0.736	1.000	1.000	0.603	0.005
<b>100H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	<i>TNFSF10</i>	0.039	0.161	1.000	1.000	0.051	0.183
<b>100H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	<i>TP53</i>	0.804	0.312	1.000	1.000	0.522	0.002
<b>100H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	<i>TPO</i>	2.154	0.402	1.000	1.000	1.209	0.635
<b>100H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	<i>TXNRD1</i>	0.895	0.303	1.000	1.000	0.503	0.032
<b>100H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	<i>TXNRD2</i>	1.169	0.597	1.000	1.000	0.895	0.696
<b>100H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	<i>UNG</i>	1.396	0.306	1.000	1.000	0.865	0.559
<b>FV+100H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	<i>I8S</i>	24.936	0.466	1.201	0.366	1.202	0.736
<b>FV+100H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	<i>ANGPTL7</i>	<b>0.176</b>	<b>0.015</b>	0.618	0.519	<b>0.188</b>	<b>0.009</b>
<b>FV+100H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	<i>ANXA5</i>	<b>0.397</b>	<b>0.037</b>	0.878	0.437	0.779	0.283
<b>FV+100H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	<i>APOE</i>	1.066	0.858	0.896	0.555	0.502	0.053
<b>FV+100H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	<i>ATM</i>	0.802	0.315	0.853	0.155	0.801	0.275
<b>FV+100H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	<i>ATOXI</i>	1.361	0.361	1.129	0.300	1.096	0.771
<b>FV+100H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	<i>BAX</i>	1.488	0.196	1.153	0.505	0.725	0.214
<b>FV+100H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	<i>CASPI</i>	0.480	0.612	0.923	0.073	<b>0.027</b>	<b>0.018</b>

<b>FV+100H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	<i>CASP10</i>	0.457	0.088	1.289	0.753	0.400	0.056
<b>FV+100H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	<i>CASP8</i>	<b>0.387</b>	<b>0.045</b>	0.957	0.808	<b>0.449</b>	<b>0.017</b>
<b>FV+100H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	<i>CAT</i>	<b>44.886</b>	<b>0.001</b>	1.055	0.710	5.166	0.224
<b>FV+100H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	<i>CCL21</i>	0.493	0.076	0.650	0.351	0.748	0.324
<b>FV+100H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	<i>CCL4</i>	0.542	0.394	1.647	0.372	<b>0.084</b>	<b>0.019</b>
<b>FV+100H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	<i>CCL5</i>	<b>0.035</b>	<b>0.044</b>	0.700	0.166	<b>0.003</b>	<b>0.003</b>
<b>FV+100H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	<i>CCNC</i>	0.582	0.044	0.950	0.756	1.024	0.830
<b>FV+100H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	<i>CCNG1</i>	0.879	0.548	0.957	0.834	0.862	0.525
<b>FV+100H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	<i>CCS</i>	0.967	0.792	1.027	0.803	0.606	0.005
<b>FV+100H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	<i>CHEK2</i>	0.761	0.631	0.810	0.705	0.636	0.427
<b>FV+100H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	<i>CSF2</i>	0.611	0.271	1.117	0.797	0.294	0.057
<b>FV+100H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	<i>CXCL10</i>	0.290	0.304	1.196	0.861	<b>0.000</b>	<b>0.008</b>
<b>FV+100H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	<i>CYP1A1</i>	0.274	0.104	1.061	0.383	<b>0.193</b>	<b>0.044</b>
<b>FV+100H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	<i>CYP2E1</i>	0.377	0.350	1.429	0.119	0.953	0.819
<b>FV+100H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	<i>CYP7A1</i>	0.243	0.209	1.217	0.660	2.387	0.458
<b>FV+100H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	<i>DDIT3</i>	1.004	0.992	0.825	0.600	<b>0.355</b>	<b>0.011</b>
<b>FV+100H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	<i>DHCR24</i>	0.919	0.906	0.796	0.326	0.978	0.938
<b>FV+100H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	<i>DNAJAI</i>	<b>0.464</b>	<b>0.001</b>	0.904	0.094	0.611	0.099
<b>FV+100H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	<i>DUOX1</i>	0.670	0.208	0.877	0.403	1.076	0.879
<b>FV+100H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	<i>DUOX2</i>	1.049	0.853	0.854	0.548	0.862	0.619
<b>FV+100H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	<i>DUSP1</i>	0.518	0.093	0.866	0.183	<b>0.259</b>	<b>0.023</b>
<b>FV+100H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	<i>EPHX2</i>	1.106	0.708	0.887	0.612	0.922	0.673
<b>FV+100H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	<i>ERCCI</i>	1.049	0.716	1.037	0.452	0.900	0.631
<b>FV+100H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	<i>FMO1</i>	<b>3.002</b>	<b>0.038</b>	0.551	0.234	<b>4.284</b>	<b>0.021</b>
<b>FV+100H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	<i>GDF15</i>	0.584	0.355	1.268	0.665	0.385	0.212
<b>FV+100H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	<i>GLRX2</i>	1.720	0.107	1.271	0.042	0.767	0.048
<b>FV+100H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	<i>GLRX2</i>	0.966	0.899	0.944	0.501	1.026	0.922
<b>FV+100H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	<i>GPX1</i>	0.841	0.410	1.034	0.846	<b>0.463</b>	<b>0.006</b>
<b>FV+100H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	<i>GPX3</i>	0.477	0.107	0.857	0.630	<b>0.399</b>	<b>0.046</b>

<b>FV+100H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	<i>GPX4</i>	1.032	0.844	0.904	0.324	0.976	0.890
<b>FV+100H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	<i>GPX5</i>	0.280	0.217	1.429	0.119	0.953	0.819
<b>FV+100H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	<i>GPX6</i>	0.327	0.319	0.87	0.857	0.875	0.616
<b>FV+100H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	<i>GSR</i>	1.080	0.540	1.018	0.769	0.733	0.203
<b>FV+100H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	<i>GSS</i>	1.076	0.710	1.054	0.735	0.787	0.206
<b>FV+100H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	<i>GSTZ1</i>	0.599	0.092	0.971	0.685	0.991	0.922
<b>FV+100H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	<i>GTF2I</i>	0.626	0.002	0.774	0.307	0.904	0.496
<b>FV+100H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	<i>HMOX1</i>	1.262	0.279	1.165	0.529	0.570	0.069
<b>FV+100H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	<i>HSF1</i>	0.859	0.103	0.892	0.338	0.541	0.011
<b>FV+100H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	<i>HSPA1L</i>	0.595	0.196	0.648	0.381	1.334	0.425
<b>FV+100H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	<i>HSPA4</i>	0.548	0.036	0.899	0.528	0.78	0.208
<b>FV+100H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	<i>HSPA5</i>	0.533	0.069	0.655	0.084	<b>0.433</b>	<b>0.015</b>
<b>FV+100H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	<i>HSPA8</i>	0.825	0.249	1.033	0.741	0.989	0.930
<b>FV+100H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	<i>HSPD1</i>	0.825	0.106	0.900	0.154	0.763	0.003
<b>FV+100H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	<i>HSPE1</i>	1.449	0.268	1.079	0.520	1.142	0.493
<b>FV+100H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	<i>HSPH1</i>	<b>0.488</b>	<b>0.040</b>	0.950	0.680	0.831	0.365
<b>FV+100H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	<i>KRT1</i>	0.397	0.373	1.507	0.292	1.005	0.986
<b>FV+100H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	<i>LPO</i>	0.377	0.350	1.429	0.119	0.953	0.819
<b>FV+100H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	<i>LTA</i>	0.681	0.320	0.853	0.710	<b>0.283</b>	<b>0.035</b>
<b>FV+100H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	<i>MDM2</i>	0.458	0.103	1.053	0.895	0.556	0.251
<b>FV+100H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	<i>MGST3</i>	0.957	0.840	0.893	0.429	0.840	0.363
<b>FV+100H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	<i>MIF</i>	0.872	0.509	0.945	0.517	0.890	0.365
<b>FV+100H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	<i>MSRA</i>	0.664	0.010	0.850	0.268	0.583	0.003
<b>FV+100H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	<i>NCF1</i>	0.880	0.356	1.294	0.155	0.510	0.167
<b>FV+100H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	<i>NCF2</i>	0.972	0.939	1.390	0.513	0.537	0.201
<b>FV+100H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	<i>NFKB1</i>	0.653	0.025	1.020	0.814	<b>0.380</b>	<b>0.003</b>
<b>FV+100H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	<i>NFKBIA</i>	0.438	0.141	1.078	0.644	<b>0.067</b>	<b>0.001</b>
<b>FV+100H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	<i>NOS2</i>	1.205	0.598	0.897	0.731	<b>0.170</b>	<b>0.023</b>
<b>FV+100H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	<i>NUDT1</i>	0.902	0.506	1.014	0.921	0.716	0.067

<b>FV+100H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	<i>OXSR1</i>	1.088	0.810	0.921	0.412	0.829	0.184
<b>FV+100H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	<i>PCNA</i>	1.128	0.868	1.073	0.905	1.104	0.855
<b>FV+100H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	<i>PDLIM1</i>	0.501	0.178	0.852	0.672	1.032	0.937
<b>FV+100H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	<i>PNKP</i>	1.549	0.201	0.964	0.723	0.609	0.046
<b>FV+100H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	<i>POR</i>	1.772	0.329	1.038	0.551	0.617	0.032
<b>FV+100H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	<i>PRDX1</i>	1.221	0.287	1.279	0.216	0.856	0.434
<b>FV+100H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	<i>PRDX2</i>	1.533	0.393	0.876	0.215	0.700	0.214
<b>FV+100H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	<i>PRDX3</i>	0.629	0.013	0.873	0.256	0.916	0.145
<b>FV+100H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	<i>PRDX4</i>	<b>5.807</b>	<b>0.049</b>	0.906	0.799	0.743	0.502
<b>FV+100H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	<i>PRDX5</i>	1.382	0.336	0.974	0.803	0.753	0.329
<b>FV+100H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	<i>PRDX6</i>	0.802	0.132	0.866	0.406	0.702	0.041
<b>FV+100H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	<i>PRNP</i>	0.96	0.644	0.981	0.792	0.871	0.195
<b>FV+100H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	<i>PTGS1</i>	0.450	0.062	0.935	0.676	<b>0.207</b>	<b>0.022</b>
<b>FV+100H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	<i>PTGS2</i>	<b>0.256</b>	<b>0.024</b>	0.992	0.982	0.265	0.059
<b>FV+100H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	<i>RAD50</i>	<b>0.417</b>	<b>0.043</b>	0.847	0.156	<b>0.446</b>	<b>0.033</b>
<b>FV+100H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	<i>SERBP1</i>	0.495	0.071	0.854	0.023	0.604	0.032
<b>FV+100H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	<i>SERPINE1</i>	1.050	0.908	0.800	0.254	1.847	0.036
<b>FV+100H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	<i>SOD1</i>	<b>6.319</b>	<b>0.050</b>	1.250	0.532	1.338	0.452
<b>FV+100H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	<i>SOD2</i>	0.600	0.085	0.828	0.186	<b>0.064</b>	<b>0.004</b>
<b>FV+100H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	<i>STK25</i>	0.949	0.497	0.932	0.123	0.776	0.103
<b>FV+100H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	<i>TNFRSF1A</i>	0.813	0.389	0.858	0.468	0.518	0.052
<b>FV+100H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	<i>TNFSF10</i>	<b>0.007</b>	<b>0.001</b>	0.166	0.350	<b>0.008</b>	<b>0.000</b>
<b>FV+100H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	<i>TP53</i>	0.726	0.182	0.903	0.233	<b>0.472</b>	<b>0.001</b>
<b>FV+100H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	<i>TPO</i>	1.472	0.677	0.684	0.593	0.826	0.796
<b>FV+100H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	<i>TXNRD1</i>	0.882	0.283	0.985	0.902	<b>0.495</b>	<b>0.029</b>
<b>FV+100H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	<i>TXNRD2</i>	1.207	0.531	1.033	0.499	0.925	0.780
<b>FV+100H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	<i>UNG</i>	1.387	0.312	0.993	0.981	0.860	0.536
<b>LPS10</b>	<i>I8S</i>	20.744	0.482	0.999	0.999	1.000	1.000
<b>LPS10</b>	<i>ANGPTL7</i>	0.940	0.703	3.298	0.180	1.000	1.000

<b>LPS10</b>	<i>ANXA5</i>	0.509	0.082	1.128	0.511	1.000	1.000
<b>LPS10</b>	<i>APOE</i>	2.123	0.122	1.783	0.077	1.000	1.000
<b>LPS10</b>	<i>ATM</i>	1.001	0.997	1.064	0.729	1.000	1.000
<b>LPS10</b>	<i>ATOXI</i>	1.242	0.598	1.031	0.924	1.000	1.000
<b>LPS10</b>	<i>BAX</i>	2.052	0.056	1.591	0.101	1.000	1.000
<b>LPS10</b>	<i>CASPI</i>	17.792	0.154	2.309	0.067	1.000	1.000
<b>LPS10</b>	<i>CASP10</i>	1.142	0.717	<b>47.810</b>	<b>0.017</b>	1.000	1.000
<b>LPS10</b>	<i>CASP8</i>	0.862	0.646	<b>2.132</b>	<b>0.016</b>	1.000	1.000
<b>LPS10</b>	<i>CAT</i>	8.688	0.156	0.204	0.221	1.000	1.000
<b>LPS10</b>	<i>CCL21</i>	0.659	0.215	0.869	0.747	1.000	1.000
<b>LPS10</b>	<i>CCL4</i>	6.448	0.118	<b>19.580</b>	<b>0.002</b>	1.000	1.000
<b>LPS10</b>	<i>CCL5</i>	<b>13.070</b>	<b>0.047</b>	<b>264.577</b>	<b>0.004</b>	1.000	1.000
<b>LPS10</b>	<i>CCNC</i>	0.568	0.036	0.927	0.666	1.000	1.000
<b>LPS10</b>	<i>CCNG1</i>	1.020	0.920	1.111	0.610	1.000	1.000
<b>LPS10</b>	<i>CCS</i>	1.596	0.025	1.695	0.006	1.000	1.000
<b>LPS10</b>	<i>CHEK2</i>	1.197	0.730	1.274	0.638	1.000	1.000
<b>LPS10</b>	<i>CSF2</i>	<b>2.074</b>	<b>0.006</b>	<b>3.794</b>	<b>0.018</b>	1.000	1.000
<b>LPS10</b>	<i>CXCL10</i>	<b>4702.486</b>	<b>0.003</b>	<b>19397.572</b>	<b>0.000</b>	1.000	1.000
<b>LPS10</b>	<i>CYP1A1</i>	1.421	0.578	<b>5.506</b>	<b>0.039</b>	1.000	1.000
<b>LPS10</b>	<i>CYP2E1</i>	0.395	0.369	1.499	0.078	1.000	1.000
<b>LPS10</b>	<i>CYP7A1</i>	0.102	0.159	0.510	0.551	1.000	1.000
<b>LPS10</b>	<i>DDIT3</i>	2.825	0.117	2.320	0.079	1.000	1.000
<b>LPS10</b>	<i>DHCR24</i>	0.940	0.932	0.814	0.464	1.000	1.000
<b>LPS10</b>	<i>DNAJ1A1</i>	0.759	0.244	1.478	0.145	1.000	1.000
<b>LPS10</b>	<i>DUOX1</i>	0.623	0.412	0.815	0.683	1.000	1.000
<b>LPS10</b>	<i>DUOX2</i>	1.217	0.459	0.990	0.967	1.000	1.000
<b>LPS10</b>	<i>DUSP1</i>	1.998	0.095	<b>3.343</b>	<b>0.024</b>	1.000	1.000
<b>LPS10</b>	<i>EPHX2</i>	1.199	0.475	0.962	0.847	1.000	1.000
<b>LPS10</b>	<i>ERCCI</i>	1.166	0.530	1.152	0.531	1.000	1.000

<b>LPS10</b>	<i>FMO1</i>	0.701	0.324	<b>0.129</b>	<b>0.016</b>	1.000	1.000
<b>LPS10</b>	<i>GDF15</i>	1.518	0.461	3.293	0.107	1.000	1.000
<b>LPS10</b>	<i>GLRX2</i>	1.677	0.169	1.239	0.456	1.000	1.000
<b>LPS10</b>	<i>GLRX2</i>	1.259	0.433	1.230	0.028	1.000	1.000
<b>LPS10</b>	<i>GPX1</i>	1.814	0.074	<b>2.231</b>	<b>0.007</b>	1.000	1.000
<b>LPS10</b>	<i>GPX3</i>	1.195	0.654	2.148	0.074	1.000	1.000
<b>LPS10</b>	<i>GPX4</i>	1.057	0.783	0.926	0.642	1.000	1.000
<b>LPS10</b>	<i>GPX5</i>	0.294	0.229	1.499	0.078	1.000	1.000
<b>LPS10</b>	<i>GPX6</i>	0.374	0.371	0.995	0.995	1.000	1.000
<b>LPS10</b>	<i>GSR</i>	1.473	0.137	1.389	0.193	1.000	1.000
<b>LPS10</b>	<i>GSS</i>	1.366	0.164	1.338	0.113	1.000	1.000
<b>LPS10</b>	<i>GSTZ1</i>	0.605	0.083	0.980	0.844	1.000	1.000
<b>LPS10</b>	<i>GTF2I</i>	0.692	0.077	0.856	0.533	1.000	1.000
<b>LPS10</b>	<i>HMOX1</i>	<b>2.215</b>	<b>0.004</b>	<b>2.046</b>	<b>0.042</b>	1.000	1.000
<b>LPS10</b>	<i>HSF1</i>	1.589	0.015	1.649	0.017	1.000	1.000
<b>LPS10</b>	<i>HSPA1L</i>	<b>0.446</b>	<b>0.018</b>	0.486	0.157	1.000	1.000
<b>LPS10</b>	<i>HSPA4</i>	0.703	0.105	1.153	0.097	1.000	1.000
<b>LPS10</b>	<i>HSPA5</i>	1.231	0.457	1.515	0.103	1.000	1.000
<b>LPS10</b>	<i>HSPA8</i>	0.835	0.290	1.045	0.697	1.000	1.000
<b>LPS10</b>	<i>HSPD1</i>	1.081	0.408	1.180	0.055	1.000	1.000
<b>LPS10</b>	<i>HSPE1</i>	1.269	0.468	0.945	0.775	1.000	1.000
<b>LPS10</b>	<i>HSPH1</i>	0.588	0.074	1.143	0.529	1.000	1.000
<b>LPS10</b>	<i>KRT1</i>	0.395	0.369	1.499	0.078	1.000	1.000
<b>LPS10</b>	<i>LPO</i>	0.395	0.369	1.499	0.078	1.000	1.000
<b>LPS10</b>	<i>LTA</i>	2.406	0.081	<b>3.012</b>	<b>0.045</b>	1.000	1.000
<b>LPS10</b>	<i>MDM2</i>	0.824	0.633	1.896	0.183	1.000	1.000
<b>LPS10</b>	<i>MGST3</i>	1.139	0.584	1.064	0.710	1.000	1.000
<b>LPS10</b>	<i>MIF</i>	0.979	0.919	1.062	0.591	1.000	1.000
<b>LPS10</b>	<i>MSRA</i>	1.139	0.182	1.458	0.072	1.000	1.000

<b>LPS10</b>	<i>NCF1</i>	1.724	0.226	2.535	0.086	1.000	1.000
<b>LPS10</b>	<i>NCF2</i>	1.811	0.110	2.589	0.080	1.000	1.000
<b>LPS10</b>	<i>NFKB1</i>	1.718	0.015	<b>2.683</b>	<b>0.002</b>	1.000	1.000
<b>LPS10</b>	<i>NFKBIA</i>	<b>6.503</b>	<b>0.019</b>	<b>16.011</b>	<b>0.002</b>	1.000	1.000
<b>LPS10</b>	<i>NOS2</i>	<b>7.066</b>	<b>0.024</b>	5.26	0.055	1.000	1.000
<b>LPS10</b>	<i>NUDT1</i>	1.261	0.128	1.418	0.036	1.000	1.000
<b>LPS10</b>	<i>OXSRI</i>	1.313	0.475	1.111	0.445	1.000	1.000
<b>LPS10</b>	<i>PCNA</i>	1.022	0.970	0.972	0.938	1.000	1.000
<b>LPS10</b>	<i>PDLIM1</i>	0.486	0.160	0.826	0.608	1.000	1.000
<b>LPS10</b>	<i>PNKP</i>	<b>2.544</b>	<b>0.039</b>	1.584	0.043	1.000	1.000
<b>LPS10</b>	<i>POR</i>	2.874	0.136	1.683	0.025	1.000	1.000
<b>LPS10</b>	<i>PRDX1</i>	1.427	0.066	1.495	0.048	1.000	1.000
<b>LPS10</b>	<i>PRDX2</i>	2.189	0.177	1.251	0.385	1.000	1.000
<b>LPS10</b>	<i>PRDX3</i>	0.687	0.032	0.953	0.640	1.000	1.000
<b>LPS10</b>	<i>PRDX4</i>	7.815	0.069	1.220	0.100	1.000	1.000
<b>LPS10</b>	<i>PRDX5</i>	1.835	0.150	1.293	0.368	1.000	1.000
<b>LPS10</b>	<i>PRDX6</i>	1.142	0.233	1.232	0.235	1.000	1.000
<b>LPS10</b>	<i>PRNP</i>	1.103	0.306	1.126	0.199	1.000	1.000
<b>LPS10</b>	<i>PTGS1</i>	2.176	0.089	<b>4.523</b>	<b>0.038</b>	1.000	1.000
<b>LPS10</b>	<i>PTGS2</i>	0.965	0.929	3.737	0.079	1.000	1.000
<b>LPS10</b>	<i>RAD50</i>	0.935	0.811	1.898	0.045	1.000	1.000
<b>LPS10</b>	<i>SERBP1</i>	0.819	0.439	1.413	0.057	1.000	1.000
<b>LPS10</b>	<i>SERPINE1</i>	0.569	0.250	<b>0.433</b>	<b>0.023</b>	1.000	1.000
<b>LPS10</b>	<i>SOD1</i>	<b>4.724</b>	<b>0.049</b>	0.935	0.883	1.000	1.000
<b>LPS10</b>	<i>SOD2</i>	<b>9.408</b>	<b>0.001</b>	<b>12.985</b>	<b>0.002</b>	1.000	1.000
<b>LPS10</b>	<i>STK25</i>	1.223	0.158	1.201	0.188	1.000	1.000
<b>LPS10</b>	<i>TNFRSF1A</i>	1.570	0.062	1.658	0.005	1.000	1.000
<b>LPS10</b>	<i>TNFSF10</i>	0.767	0.163	19.528	0.183	1.000	1.000
<b>LPS10</b>	<i>TP53</i>	1.539	0.116	1.915	0.002	1.000	1.000

<b>LPS10</b>	<i>TPO</i>	1.782	0.494	0.827	0.635	1.000	1.000
<b>LPS10</b>	<i>TXNRD1</i>	1.781	0.055	1.989	0.032	1.000	1.000
<b>LPS10</b>	<i>TXNRD2</i>	1.305	0.488	1.117	0.696	1.000	1.000
<b>LPS10</b>	<i>UNG</i>	1.614	0.137	1.156	0.559	1.000	1.000
<b>FV+10LPS</b>	<i>I8S</i>	30.753	0.446	1.482	0.148	1.482	0.499
<b>FV+10LPS</b>	<i>ANGPTL7</i>	0.996	0.964	3.494	0.171	1.059	0.714
<b>FV+10LPS</b>	<i>ANXA5</i>	0.483	0.082	1.069	0.331	0.948	0.763
<b>FV+10LPS</b>	<i>APOE</i>	2.080	0.135	1.747	0.044	0.980	0.928
<b>FV+10LPS</b>	<i>ATM</i>	1.190	0.415	1.266	0.083	1.189	0.379
<b>FV+10LPS</b>	<i>ATOXI</i>	1.471	0.278	1.221	0.134	1.184	0.601
<b>FV+10LPS</b>	<i>BAX</i>	1.878	0.086	1.456	0.182	0.915	0.739
<b>FV+10LPS</b>	<i>CASPI</i>	2.715	0.502	1.254	0.391	0.153	0.081
<b>FV+10LPS</b>	<i>CASP10</i>	0.620	0.220	<b>7.297</b>	<b>0.013</b>	0.543	0.121
<b>FV+10LPS</b>	<i>CASP8</i>	0.602	0.242	1.489	0.270	0.698	0.317
<b>FV+10LPS</b>	<i>CAT</i>	1.455	0.402	<b>0.034</b>	<b>0.007</b>	0.167	0.147
<b>FV+10LPS</b>	<i>CCL21</i>	0.719	0.272	0.948	0.895	1.091	0.712
<b>FV+10LPS</b>	<i>CCL4</i>	4.900	0.121	<b>14.879</b>	<b>0.005</b>	0.760	0.422
<b>FV+10LPS</b>	<i>CCL5</i>	0.827	0.713	<b>16.734</b>	<b>0.026</b>	<b>0.063</b>	<b>0.014</b>
<b>FV+10LPS</b>	<i>CCNC</i>	0.618	0.075	1.008	0.957	1.087	0.416
<b>FV+10LPS</b>	<i>CCNG1</i>	0.940	0.676	1.023	0.878	0.921	0.648
<b>FV+10LPS</b>	<i>CCS</i>	1.360	0.124	1.445	0.074	0.852	0.320
<b>FV+10LPS</b>	<i>CHEK2</i>	0.642	0.478	0.683	0.533	0.536	0.326
<b>FV+10LPS</b>	<i>CSF2</i>	0.938	0.905	1.716	0.402	0.452	0.302
<b>FV+10LPS</b>	<i>CXCL10</i>	<b>10.796</b>	<b>0.032</b>	<b>44.534</b>	<b>0.001</b>	<b>0.002</b>	<b>0.001</b>
<b>FV+10LPS</b>	<i>CYP1A1</i>	0.386	0.164	1.496	0.066	0.272	0.055
<b>FV+10LPS</b>	<i>CYP2E1</i>	0.374	0.347	1.418	0.196	0.946	0.821
<b>FV+10LPS</b>	<i>CYP7A1</i>	0.177	0.196	0.885	0.626	1.735	0.613
<b>FV+10LPS</b>	<i>DDIT3</i>	3.410	0.142	2.801	0.067	1.207	0.326
<b>FV+10LPS</b>	<i>DHCR24</i>	0.919	0.908	0.796	0.450	0.978	0.947

<b>FV+10LPS</b>	<i>DNAJA1</i>	0.731	0.145	1.423	0.123	0.963	0.873
<b>FV+10LPS</b>	<i>DUOX1</i>	0.876	0.659	1.146	0.582	1.407	0.527
<b>FV+10LPS</b>	<i>DUOX2</i>	1.296	0.275	1.054	0.804	1.065	0.810
<b>FV+10LPS</b>	<i>DUSP1</i>	<b>3.409</b>	<b>0.028</b>	<b>5.704</b>	<b>0.000</b>	1.706	0.137
<b>FV+10LPS</b>	<i>EPHX2</i>	1.157	0.612	0.929	0.771	0.966	0.871
<b>FV+10LPS</b>	<i>ERCCI</i>	1.511	0.065	1.493	0.067	1.296	0.317
<b>FV+10LPS</b>	<i>FMO1</i>	0.663	0.217	0.122	0.076	0.947	0.853
<b>FV+10LPS</b>	<i>GDF15</i>	1.730	0.053	<b>3.753</b>	<b>0.017</b>	1.140	0.804
<b>FV+10LPS</b>	<i>GLRX2</i>	2.003	0.100	1.481	0.256	0.785	0.087
<b>FV+10LPS</b>	<i>GLRX2</i>	0.988	0.964	0.965	0.718	1.195	0.630
<b>FV+10LPS</b>	<i>GPX1</i>	<b>3.017</b>	<b>0.044</b>	<b>3.710</b>	<b>0.003</b>	1.663	0.016
<b>FV+10LPS</b>	<i>GPX3</i>	0.663	0.286	1.193	0.538	0.555	0.120
<b>FV+10LPS</b>	<i>GPX4</i>	1.501	0.067	1.315	0.066	1.420	0.113
<b>FV+10LPS</b>	<i>GPX5</i>	0.278	0.213	1.418	0.196	0.946	0.821
<b>FV+10LPS</b>	<i>GPX6</i>	0.431	0.420	1.149	0.876	1.155	0.818
<b>FV+10LPS</b>	<i>GSR</i>	1.709	0.136	1.610	0.179	1.160	0.639
<b>FV+10LPS</b>	<i>GSS</i>	1.435	0.128	1.405	0.091	1.050	0.780
<b>FV+10LPS</b>	<i>GSTZ1</i>	0.708	0.174	1.148	0.189	1.171	0.201
<b>FV+10LPS</b>	<i>GTF2I</i>	0.712	0.098	0.881	0.611	1.029	0.874
<b>FV+10LPS</b>	<i>HMOX1</i>	2.199	0.452	2.031	0.482	0.993	0.993
<b>FV+10LPS</b>	<i>HSF1</i>	2.175	0.188	2.258	0.172	1.369	0.515
<b>FV+10LPS</b>	<i>HSPA1L</i>	0.647	0.304	0.705	0.495	1.452	0.369
<b>FV+10LPS</b>	<i>HSPA4</i>	0.652	0.082	1.069	0.220	0.927	0.282
<b>FV+10LPS</b>	<i>HSPA5</i>	1.582	0.333	1.947	0.196	1.285	0.561
<b>FV+10LPS</b>	<i>HSPA8</i>	1.108	0.624	1.388	0.159	1.328	0.205
<b>FV+10LPS</b>	<i>HSPD1</i>	1.175	0.422	1.283	0.246	1.087	0.647
<b>FV+10LPS</b>	<i>HSPE1</i>	1.435	0.278	1.069	0.554	1.131	0.517
<b>FV+10LPS</b>	<i>HSPH1</i>	0.592	0.064	1.153	0.321	1.008	0.964
<b>FV+10LPS</b>	<i>KRT1</i>	0.374	0.347	1.418	0.196	0.946	0.821

<b>FV+10LPS</b>	<i>LPO</i>	0.374	0.347	1.418	0.196	0.946	0.821
<b>FV+10LPS</b>	<i>LTA</i>	1.224	0.500	1.532	0.307	0.509	0.140
<b>FV+10LPS</b>	<i>MDM2</i>	<b>0.437</b>	<b>0.030</b>	1.005	0.986	0.530	0.179
<b>FV+10LPS</b>	<i>MGST3</i>	1.124	0.569	1.050	0.581	0.987	0.931
<b>FV+10LPS</b>	<i>MIF</i>	0.924	0.719	1.002	0.986	0.944	0.710
<b>FV+10LPS</b>	<i>MSRA</i>	1.041	0.877	1.331	0.333	0.913	0.723
<b>FV+10LPS</b>	<i>NCF1</i>	1.008	0.963	1.482	0.095	0.585	0.229
<b>FV+10LPS</b>	<i>NCF2</i>	1.878	0.179	2.685	0.093	1.037	0.930
<b>FV+10LPS</b>	<i>NFKB1</i>	<b>2.149</b>	<b>0.006</b>	<b>3.357</b>	<b>0.001</b>	1.251	0.135
<b>FV+10LPS</b>	<i>NFKBIA</i>	<b>4.626</b>	<b>0.038</b>	<b>11.39</b>	<b>0.026</b>	0.711	0.287
<b>FV+10LPS</b>	<i>NOS2</i>	<b>5.681</b>	<b>0.006</b>	<b>4.229</b>	<b>0.012</b>	0.804	0.563
<b>FV+10LPS</b>	<i>NUDT1</i>	1.613	0.208	1.815	0.146	1.280	0.456
<b>FV+10LPS</b>	<i>OXSRI</i>	1.517	0.309	1.284	0.181	1.155	0.420
<b>FV+10LPS</b>	<i>PCNA</i>	0.650	0.562	0.619	0.442	0.636	0.440
<b>FV+10LPS</b>	<i>PDLIM1</i>	0.365	0.077	0.621	0.166	0.752	0.390
<b>FV+10LPS</b>	<i>PNKP</i>	<b>2.712</b>	<b>0.039</b>	1.688	0.139	1.066	0.822
<b>FV+10LPS</b>	<i>POR</i>	2.619	0.153	1.534	0.217	0.911	0.750
<b>FV+10LPS</b>	<i>PRDX1</i>	1.377	0.270	1.443	0.223	0.965	0.892
<b>FV+10LPS</b>	<i>PRDX2</i>	2.225	0.178	1.271	0.049	1.016	0.945
<b>FV+10LPS</b>	<i>PRDX3</i>	0.654	0.017	0.907	0.387	0.951	0.356
<b>FV+10LPS</b>	<i>PRDX4</i>	<b>7.477</b>	<b>0.045</b>	1.167	0.246	0.957	0.667
<b>FV+10LPS</b>	<i>PRDX5</i>	2.099	0.084	1.479	0.073	1.144	0.636
<b>FV+10LPS</b>	<i>PRDX6</i>	1.084	0.393	1.169	0.340	0.949	0.434
<b>FV+10LPS</b>	<i>PRNP</i>	1.315	0.271	1.343	0.248	1.192	0.445
<b>FV+10LPS</b>	<i>PTGS1</i>	0.659	0.195	1.369	0.211	<b>0.303</b>	<b>0.024</b>
<b>FV+10LPS</b>	<i>PTGS2</i>	0.757	0.713	2.930	0.232	0.784	0.756
<b>FV+10LPS</b>	<i>RAD50</i>	0.641	0.153	1.301	0.056	0.686	0.148
<b>FV+10LPS</b>	<i>SERBP1</i>	0.742	0.277	1.279	0.133	0.905	0.522
<b>FV+10LPS</b>	<i>SERPINE1</i>	0.569	0.345	0.433	0.164	1.000	1.000

<b>FV+10LPS</b>	<i>SOD1</i>	1.043	0.933	<b>0.206</b>	<b>0.022</b>	<b>0.221</b>	<b>0.029</b>
<b>FV+10LPS</b>	<i>SOD2</i>	<b>5.241</b>	<b>0.012</b>	<b>7.234</b>	<b>0.021</b>	0.557	0.124
<b>FV+10LPS</b>	<i>STK25</i>	1.536	0.114	1.508	0.135	1.256	0.321
<b>FV+10LPS</b>	<i>TNFRSF1A</i>	1.276	0.252	1.347	0.130	0.813	0.241
<b>FV+10LPS</b>	<i>TNFSF10</i>	0.593	0.017	15.105	0.209	0.773	0.167
<b>FV+10LPS</b>	<i>TP53</i>	1.708	0.358	2.126	0.234	1.110	0.838
<b>FV+10LPS</b>	<i>TPO</i>	2.165	0.398	1.005	0.984	1.215	0.632
<b>FV+10LPS</b>	<i>TXNRD1</i>	1.353	0.335	1.512	0.222	0.760	0.401
<b>FV+10LPS</b>	<i>TXNRD2</i>	1.611	0.188	1.378	0.088	1.234	0.493
<b>FV+10LPS</b>	<i>UNG</i>	1.621	0.137	1.161	0.529	1.005	0.975

**Tabelle A6:** Detaillierte Ergebnisse des Angiogenesearrays

Stimulation		gegen Ko		gegen $\text{KoCl}_2$	
		RQ	p-Wert	RQ	p-Wert
Kontrolle	<i>I8S</i>	1.000	1.000	4.939	0.174
Kontrolle	<i>AHR</i>	1.000	1.000	0.985	0.959
Kontrolle	<i>AMOT</i>	1.000	1.000	0.653	0.216
Kontrolle	<i>ANGPT1</i>	1.000	1.000	1.946	0.545
Kontrolle	<i>ANGPT2</i>	1.000	1.000	<b>0.192</b>	<b>0.003</b>
Kontrolle	<i>ANGPT4</i>	1.000	1.000	0.445	0.081
Kontrolle	<i>ANGPTL1</i>	1.000	1.000	0.875	0.613
Kontrolle	<i>ANGPTL2</i>	1.000	1.000	<b>0.285</b>	<b>0.009</b>
Kontrolle	<i>ANGPTL3</i>	1.000	1.000	1.257	0.547
Kontrolle	<i>ANGPTL4</i>	1.000	1.000	2.499	0.250
Kontrolle	<i>BEST1</i>	1.000	1.000	1.304	0.323
Kontrolle	<i>BMP4</i>	1.000	1.000	0.548	0.259
Kontrolle	<i>CCL2</i>	1.000	1.000	0.472	0.140
Kontrolle	<i>CCL5</i>	1.000	1.000	2.381	0.563

<b>Kontrolle</b>	<i>CD44</i>	1.000	1.000	0.816	0.402
<b>Kontrolle</b>	<i>CDH1</i>	1.000	1.000	0.538	0.230
<b>Kontrolle</b>	<i>CDH2</i>	1.000	1.000	0.920	0.816
<b>Kontrolle</b>	<i>CDH5</i>	1.000	1.000	0.556	0.164
<b>Kontrolle</b>	<i>CDO1</i>	1.000	1.000	0.517	0.212
<b>Kontrolle</b>	<i>CHGA</i>	1.000	1.000	0.781	0.270
<b>Kontrolle</b>	<i>COL4A2</i>	1.000	1.000	15.501	0.350
<b>Kontrolle</b>	<i>COL4A3</i>	1.000	1.000	0.445	0.102
<b>Kontrolle</b>	<i>CSF2</i>	1.000	1.000	1.202	0.735
<b>Kontrolle</b>	<i>CSF3</i>	1.000	1.000	0.902	0.735
<b>Kontrolle</b>	<i>CXCL10</i>	1.000	1.000	0.444	0.152
<b>Kontrolle</b>	<i>CXCL11</i>	1.000	1.000	0.447	0.179
<b>Kontrolle</b>	<i>CXCL12</i>	1.000	1.000	0.388	0.227
<b>Kontrolle</b>	<i>CXCL2</i>	1.000	1.000	1.114	0.719
<b>Kontrolle</b>	<i>DCT</i>	1.000	1.000	0.490	0.305
<b>Kontrolle</b>	<i>EFEMP1</i>	1.000	1.000	0.481	0.110
<b>Kontrolle</b>	<i>ENPP2</i>	1.000	1.000	0.263	0.095
<b>Kontrolle</b>	<i>EPHB2</i>	1.000	1.000	1.184	0.761
<b>Kontrolle</b>	<i>F2</i>	1.000	1.000	0.813	0.300
<b>Kontrolle</b>	<i>FADS1</i>	1.000	1.000	0.491	0.223
<b>Kontrolle</b>	<i>FBLN5</i>	1.000	1.000	0.604	0.294
<b>Kontrolle</b>	<i>FGF2</i>	1.000	1.000	0.815	0.436
<b>Kontrolle</b>	<i>FGFR2</i>	1.000	1.000	0.637	0.101
<b>Kontrolle</b>	<i>FLT1</i>	1.000	1.000	<b>0.256</b>	<b>0.049</b>
<b>Kontrolle</b>	<i>FNI</i>	1.000	1.000	0.443	0.066
<b>Kontrolle</b>	<i>FRZB</i>	1.000	1.000	0.375	0.101
<b>Kontrolle</b>	<i>FST</i>	1.000	1.000	<b>0.116</b>	<b>0.004</b>
<b>Kontrolle</b>	<i>GJA1</i>	1.000	1.000	0.544	0.054
<b>Kontrolle</b>	<i>GRAMD3</i>	1.000	1.000	0.592	0.168

<b>Kontrolle</b>	<i>GRN</i>	1.000	1.000	0.876	0.453
<b>Kontrolle</b>	<i>HEY1</i>	1.000	1.000	1.366	0.317
<b>Kontrolle</b>	<i>IFNB1</i>	1.000	1.000	1.150	0.842
<b>Kontrolle</b>	<i>IFNG</i>	1.000	1.000	0.549	0.096
<b>Kontrolle</b>	<i>IL12A</i>	1.000	1.000	0.751	0.552
<b>Kontrolle</b>	<i>ITGAV</i>	1.000	1.000	0.654	0.176
<b>Kontrolle</b>	<i>ITGB3</i>	1.000	1.000	0.787	0.609
<b>Kontrolle</b>	<i>KDR</i>	1.000	1.000	0.455	0.327
<b>Kontrolle</b>	<i>KIT</i>	1.000	1.000	<b>0.273</b>	<b>0.029</b>
<b>Kontrolle</b>	<i>LAMP2</i>	1.000	1.000	0.628	0.225
<b>Kontrolle</b>	<i>LEP</i>	1.000	1.000	0.665	0.509
<b>Kontrolle</b>	<i>LYVE1</i>	1.000	1.000	0.665	0.509
<b>Kontrolle</b>	<i>MDK</i>	1.000	1.000	0.832	0.661
<b>Kontrolle</b>	<i>MET</i>	1.000	1.000	0.706	0.301
<b>Kontrolle</b>	<i>MITF</i>	1.000	1.000	0.455	0.252
<b>Kontrolle</b>	<i>MMP2</i>	1.000	1.000	1.439	0.749
<b>Kontrolle</b>	<i>MYRIP</i>	1.000	1.000	0.560	0.324
<b>Kontrolle</b>	<i>NRP1</i>	1.000	1.000	1.692	0.635
<b>Kontrolle</b>	<i>NRP2</i>	1.000	1.000	0.526	0.087
<b>Kontrolle</b>	<i>PDGFRB</i>	1.000	1.000	0.807	0.556
<b>Kontrolle</b>	<i>PECAM1</i>	1.000	1.000	0.675	0.433
<b>Kontrolle</b>	<i>PLG</i>	1.000	1.000	0.828	0.814
<b>Kontrolle</b>	<i>PMEL</i>	1.000	1.000	0.233	0.157
<b>Kontrolle</b>	<i>PRL</i>	1.000	1.000	0.447	0.179
<b>Kontrolle</b>	<i>PROK1</i>	1.000	1.000	0.665	0.509
<b>Kontrolle</b>	<i>PROX1</i>	1.000	1.000	0.677	0.342
<b>Kontrolle</b>	<i>RBP1</i>	1.000	1.000	1.771	0.574
<b>Kontrolle</b>	<i>RDH10</i>	1.000	1.000	0.825	0.202
<b>Kontrolle</b>	<i>RDH11</i>	1.000	1.000	0.472	0.101

<b>Kontrolle</b>	<i>RPE65</i>	1.000	1.000	0.950	0.842
<b>Kontrolle</b>	<i>SERPINC1</i>	1.000	1.000	0.589	0.283
<b>Kontrolle</b>	<i>SERPINF1</i>	1.000	1.000	0.387	0.106
<b>Kontrolle</b>	<i>SFRP5</i>	1.000	1.000	0.669	0.306
<b>Kontrolle</b>	<i>SLC16A1</i>	1.000	1.000	0.782	0.550
<b>Kontrolle</b>	<i>SLC4A2</i>	1.000	1.000	0.547	0.175
<b>Kontrolle</b>	<i>TEK</i>	1.000	1.000	0.587	0.154
<b>Kontrolle</b>	<i>TGFA</i>	1.000	1.000	0.643	0.412
<b>Kontrolle</b>	<i>TGFB1</i>	1.000	1.000	1.001	0.999
<b>Kontrolle</b>	<i>THBS1</i>	1.000	1.000	1.009	0.984
<b>Kontrolle</b>	<i>TIMP2</i>	1.000	1.000	0.695	0.252
<b>Kontrolle</b>	<i>TNFSF15</i>	1.000	1.000	1.439	0.617
<b>Kontrolle</b>	<i>TNMD</i>	1.000	1.000	0.419	0.296
<b>Kontrolle</b>	<i>TNNI1</i>	1.000	1.000	1.010	0.984
<b>Kontrolle</b>	<i>TRPM3</i>	1.000	1.000	0.313	0.065
<b>Kontrolle</b>	<i>TTR</i>	1.000	1.000	0.364	0.082
<b>Kontrolle</b>	<i>TYR</i>	1.000	1.000	<b>0.165</b>	<b>0.028</b>
<b>Kontrolle</b>	<i>TYRP1</i>	1.000	1.000	0.530	0.387
<b>Kontrolle</b>	<i>VEGFA</i>	1.000	1.000	0.542	0.158
<b>Kontrolle</b>	<i>VEGFB</i>	1.000	1.000	0.522	0.187
<b>Kontrolle</b>	<i>VIM</i>	1.000	1.000	0.898	0.694
<b>FV</b>	<i>I8S</i>	0.032	0.071	0.157	0.105
<b>FV</b>	<i>AHR</i>	0.951	0.850	0.937	0.852
<b>FV</b>	<i>AMOT</i>	0.795	0.400	0.519	0.095
<b>FV</b>	<i>ANGPT1</i>	0.868	0.713	1.689	0.618
<b>FV</b>	<i>ANGPT2</i>	1.254	0.450	<b>0.240</b>	<b>0.016</b>
<b>FV</b>	<i>ANGPT4</i>	0.468	0.312	0.208	0.097
<b>FV</b>	<i>ANGPTL1</i>	0.488	0.075	<b>0.427</b>	<b>0.018</b>
<b>FV</b>	<i>ANGPTL2</i>	0.932	0.774	0.266	0.010

<b>FV</b>	<i>ANGPTL3</i>	0.357	0.070	0.449	0.108
<b>FV</b>	<i>ANGPTL4</i>	0.726	0.556	1.814	0.412
<b>FV</b>	<i>BEST1</i>	0.691	0.379	0.900	0.794
<b>FV</b>	<i>BMP4</i>	0.794	0.542	<b>0.435</b>	<b>0.008</b>
<b>FV</b>	<i>CCL2</i>	0.684	0.365	<b>0.323</b>	<b>0.008</b>
<b>FV</b>	<i>CCL5</i>	0.453	0.145	1.078	0.956
<b>FV</b>	<i>CD44</i>	0.735	0.179	0.599	0.095
<b>FV</b>	<i>CDH1</i>	0.663	0.338	0.356	0.101
<b>FV</b>	<i>CDH2</i>	0.758	0.297	0.697	0.311
<b>FV</b>	<i>CDH5</i>	0.618	0.229	<b>0.344</b>	<b>0.005</b>
<b>FV</b>	<i>CDO1</i>	1.016	0.970	0.525	0.025
<b>FV</b>	<i>CHGA</i>	0.797	0.169	0.622	0.075
<b>FV</b>	<i>COL4A2</i>	0.585	0.362	9.074	0.414
<b>FV</b>	<i>COL4A3</i>	0.997	0.993	<b>0.444</b>	<b>0.014</b>
<b>FV</b>	<i>CSF2</i>	0.663	0.234	0.797	0.676
<b>FV</b>	<i>CSF3</i>	0.819	0.519	0.739	0.405
<b>FV</b>	<i>CXCL10</i>	0.509	0.245	0.226	0.047
<b>FV</b>	<i>CXCL11</i>	0.657	0.416	<b>0.293</b>	<b>0.023</b>
<b>FV</b>	<i>CXCL12</i>	0.728	0.650	<b>0.283</b>	<b>0.038</b>
<b>FV</b>	<i>CXCL2</i>	0.559	0.161	0.623	0.272
<b>FV</b>	<i>DCT</i>	0.451	0.265	0.221	0.008
<b>FV</b>	<i>EFEMP1</i>	0.976	0.939	<b>0.469</b>	<b>0.011</b>
<b>FV</b>	<i>ENPP2</i>	1.208	0.724	<b>0.317</b>	<b>0.011</b>
<b>FV</b>	<i>EPHB2</i>	0.752	0.461	0.890	0.841
<b>FV</b>	<i>F2</i>	0.490	0.089	<b>0.399</b>	<b>0.041</b>
<b>FV</b>	<i>FADS1</i>	<b>0.370</b>	<b>0.050</b>	<b>0.182</b>	<b>0.044</b>
<b>FV</b>	<i>FBLN5</i>	0.894	0.677	0.540	0.226
<b>FV</b>	<i>FGF2</i>	0.812	0.568	0.662	0.32
<b>FV</b>	<i>FGFR2</i>	0.926	0.703	0.591	0.033

<b>FV</b>	<i>FLT1</i>	0.933	0.885	<b>0.239</b>	<b>0.015</b>
<b>FV</b>	<i>FN1</i>	0.865	0.549	0.383	0.080
<b>FV</b>	<i>FRZB</i>	0.921	0.845	<b>0.345</b>	<b>0.019</b>
<b>FV</b>	<i>FST</i>	1.914	0.101	<b>0.222</b>	<b>0.010</b>
<b>FV</b>	<i>GJA1</i>	0.978	0.866	0.532	0.006
<b>FV</b>	<i>GRAMD3</i>	1.139	0.659	0.674	0.134
<b>FV</b>	<i>GRN</i>	0.896	0.401	0.785	0.24
<b>FV</b>	<i>HEY1</i>	0.877	0.333	1.198	0.539
<b>FV</b>	<i>IFNB1</i>	0.195	0.188	0.224	0.038
<b>FV</b>	<i>IFNG</i>	0.609	0.124	<b>0.334</b>	<b>0.004</b>
<b>FV</b>	<i>IL12A</i>	0.862	0.738	0.647	0.225
<b>FV</b>	<i>ITGAV</i>	0.742	0.381	0.486	0.078
<b>FV</b>	<i>ITGB3</i>	0.918	0.831	0.723	0.391
<b>FV</b>	<i>KDR</i>	0.410	0.202	0.187	0.120
<b>FV</b>	<i>KIT</i>	0.630	0.252	<b>0.172</b>	<b>0.013</b>
<b>FV</b>	<i>LAMP2</i>	0.638	0.473	0.400	0.205
<b>FV</b>	<i>LEP</i>	0.657	0.416	0.437	0.162
<b>FV</b>	<i>LYVE1</i>	0.657	0.416	0.437	0.162
<b>FV</b>	<i>MDK</i>	0.717	0.085	0.597	0.286
<b>FV</b>	<i>MET</i>	1.057	0.863	0.747	0.203
<b>FV</b>	<i>MITF</i>	1.090	0.849	<b>0.496</b>	<b>0.018</b>
<b>FV</b>	<i>MMP2</i>	0.754	0.262	1.086	0.941
<b>FV</b>	<i>MYRIP</i>	0.899	0.725	0.503	0.269
<b>FV</b>	<i>NRP1</i>	0.762	0.482	1.289	0.811
<b>FV</b>	<i>NRP2</i>	0.814	0.385	0.429	0.100
<b>FV</b>	<i>PDGFRB</i>	0.949	0.835	0.766	0.401
<b>FV</b>	<i>PECAM1</i>	0.921	0.772	0.622	0.371
<b>FV</b>	<i>PLG</i>	0.702	0.498	0.582	0.512
<b>FV</b>	<i>PMEL</i>	1.097	0.914	0.256	0.135

<b>FV</b>	<i>PRL</i>	0.657	0.416	<b>0.293</b>	<b>0.023</b>
<b>FV</b>	<i>PROK1</i>	0.657	0.416	0.437	0.162
<b>FV</b>	<i>PROX1</i>	1.313	0.282	0.889	0.769
<b>FV</b>	<i>RBPI</i>	1.079	0.869	1.911	0.534
<b>FV</b>	<i>RDH10</i>	0.871	0.408	0.718	0.081
<b>FV</b>	<i>RDH11</i>	0.770	0.451	<b>0.363</b>	<b>0.026</b>
<b>FV</b>	<i>RPE65</i>	1.027	0.900	0.975	0.892
<b>FV</b>	<i>SERPINC1</i>	1.048	0.915	0.617	0.152
<b>FV</b>	<i>SERPINF1</i>	0.781	0.624	<b>0.302</b>	<b>0.034</b>
<b>FV</b>	<i>SFRP5</i>	0.818	0.325	0.547	0.168
<b>FV</b>	<i>SLC16A1</i>	0.854	0.646	0.668	0.225
<b>FV</b>	<i>SLC4A2</i>	0.693	0.347	<b>0.379</b>	<b>0.016</b>
<b>FV</b>	<i>TEK</i>	0.661	0.237	<b>0.388</b>	<b>0.009</b>
<b>FV</b>	<i>TGFA</i>	0.889	0.811	0.572	0.043
<b>FV</b>	<i>TGFB1</i>	0.857	0.373	0.858	0.848
<b>FV</b>	<i>THBS1</i>	0.850	0.264	0.857	0.732
<b>FV</b>	<i>TIMP2</i>	0.755	0.306	0.524	0.065
<b>FV</b>	<i>TNFSF15</i>	0.750	0.291	1.079	0.913
<b>FV</b>	<i>TNMD</i>	0.345	0.209	<b>0.145</b>	<b>0.038</b>
<b>FV</b>	<i>TNNI1</i>	0.530	0.280	0.535	0.094
<b>FV</b>	<i>TRPM3</i>	0.978	0.957	<b>0.306</b>	<b>0.031</b>
<b>FV</b>	<i>TTR</i>	0.722	0.448	<b>0.263</b>	<b>0.023</b>
<b>FV</b>	<i>TYR</i>	1.429	0.455	0.235	0.052
<b>FV</b>	<i>TYRP1</i>	0.969	0.933	0.514	0.347
<b>FV</b>	<i>VEGFA</i>	0.997	0.993	0.540	0.090
<b>FV</b>	<i>VEGFB</i>	0.793	0.531	0.414	0.077
<b>FV</b>	<i>VIM</i>	0.787	0.343	0.707	0.165
<b>150CoCl<sub>2</sub></b>	<i>I8S</i>	0.202	0.174	1.000	1.000
<b>150CoCl<sub>2</sub></b>	<i>AHR</i>	1.015	0.959	1.000	1.000

<b>150CoCl<sub>2</sub></b>	<i>AMOT</i>	1.532	0.216	1.000	1.000
<b>150CoCl<sub>2</sub></b>	<i>ANGPT1</i>	0.514	0.545	1.000	1.000
<b>150CoCl<sub>2</sub></b>	<i>ANGPT2</i>	<b>5.222</b>	<b>0.003</b>	1.000	1.000
<b>150CoCl<sub>2</sub></b>	<i>ANGPT4</i>	2.245	0.081	1.000	1.000
<b>150CoCl<sub>2</sub></b>	<i>ANGPTL1</i>	1.143	0.613	1.000	1.000
<b>150CoCl<sub>2</sub></b>	<i>ANGPTL2</i>	<b>3.508</b>	<b>0.009</b>	1.000	1.000
<b>150CoCl<sub>2</sub></b>	<i>ANGPTL3</i>	0.796	0.547	1.000	1.000
<b>150CoCl<sub>2</sub></b>	<i>ANGPTL4</i>	0.400	0.250	1.000	1.000
<b>150CoCl<sub>2</sub></b>	<i>BEST1</i>	0.767	0.323	1.000	1.000
<b>150CoCl<sub>2</sub></b>	<i>BMP4</i>	1.826	0.259	1.000	1.000
<b>150CoCl<sub>2</sub></b>	<i>CCL2</i>	2.118	0.140	1.000	1.000
<b>150CoCl<sub>2</sub></b>	<i>CCL5</i>	0.420	0.563	1.000	1.000
<b>150CoCl<sub>2</sub></b>	<i>CD44</i>	1.226	0.402	1.000	1.000
<b>150CoCl<sub>2</sub></b>	<i>CDH1</i>	1.860	0.230	1.000	1.000
<b>150CoCl<sub>2</sub></b>	<i>CDH2</i>	1.087	0.816	1.000	1.000
<b>150CoCl<sub>2</sub></b>	<i>CDH5</i>	1.798	0.164	1.000	1.000
<b>150CoCl<sub>2</sub></b>	<i>CDO1</i>	1.936	0.212	1.000	1.000
<b>150CoCl<sub>2</sub></b>	<i>CHGA</i>	1.281	0.270	1.000	1.000
<b>150CoCl<sub>2</sub></b>	<i>COL4A2</i>	0.065	0.350	1.000	1.000
<b>150CoCl<sub>2</sub></b>	<i>COL4A3</i>	2.248	0.102	1.000	1.000
<b>150CoCl<sub>2</sub></b>	<i>CSF2</i>	0.832	0.735	1.000	1.000
<b>150CoCl<sub>2</sub></b>	<i>CSF3</i>	1.109	0.735	1.000	1.000
<b>150CoCl<sub>2</sub></b>	<i>CXCL10</i>	2.252	0.152	1.000	1.000
<b>150CoCl<sub>2</sub></b>	<i>CXCL11</i>	2.238	0.179	1.000	1.000
<b>150CoCl<sub>2</sub></b>	<i>CXCL12</i>	2.577	0.227	1.000	1.000
<b>150CoCl<sub>2</sub></b>	<i>CXCL2</i>	0.898	0.719	1.000	1.000
<b>150CoCl<sub>2</sub></b>	<i>DCT</i>	2.043	0.305	1.000	1.000
<b>150CoCl<sub>2</sub></b>	<i>EFEMP1</i>	2.080	0.110	1.000	1.000
<b>150CoCl<sub>2</sub></b>	<i>ENPP2</i>	3.808	0.095	1.000	1.000

<b>150CoCl<sub>2</sub></b>	<i>EPHB2</i>	0.845	0.761	1.000	1.000
<b>150CoCl<sub>2</sub></b>	<i>F2</i>	1.230	0.300	1.000	1.000
<b>150CoCl<sub>2</sub></b>	<i>FADSI</i>	2.035	0.223	1.000	1.000
<b>150CoCl<sub>2</sub></b>	<i>FBLN5</i>	1.656	0.294	1.000	1.000
<b>150CoCl<sub>2</sub></b>	<i>FG FV</i>	1.227	0.436	1.000	1.000
<b>150CoCl<sub>2</sub></b>	<i>FGFR2</i>	1.569	0.101	1.000	1.000
<b>150CoCl<sub>2</sub></b>	<i>FLT1</i>	<b>3.903</b>	<b>0.049</b>	1.000	1.000
<b>150CoCl<sub>2</sub></b>	<i>FN1</i>	2.257	0.066	1.000	1.000
<b>150CoCl<sub>2</sub></b>	<i>FRZB</i>	2.667	0.101	1.000	1.000
<b>150CoCl<sub>2</sub></b>	<i>FST</i>	<b>8.638</b>	<b>0.004</b>	1.000	1.000
<b>150CoCl<sub>2</sub></b>	<i>GJA1</i>	1.838	0.054	1.000	1.000
<b>150CoCl<sub>2</sub></b>	<i>GRAMD3</i>	1.689	0.168	1.000	1.000
<b>150CoCl<sub>2</sub></b>	<i>GRN</i>	1.141	0.453	1.000	1.000
<b>150CoCl<sub>2</sub></b>	<i>HEYI</i>	0.732	0.317	1.000	1.000
<b>150CoCl<sub>2</sub></b>	<i>IFNB1</i>	0.869	0.842	1.000	1.000
<b>150CoCl<sub>2</sub></b>	<i>IFNG</i>	1.822	0.096	1.000	1.000
<b>150CoCl<sub>2</sub></b>	<i>IL12A</i>	1.332	0.552	1.000	1.000
<b>150CoCl<sub>2</sub></b>	<i>ITGAV</i>	1.528	0.176	1.000	1.000
<b>150CoCl<sub>2</sub></b>	<i>ITGB3</i>	1.270	0.609	1.000	1.000
<b>150CoCl<sub>2</sub></b>	<i>KDR</i>	2.196	0.327	1.000	1.000
<b>150CoCl<sub>2</sub></b>	<i>KIT</i>	<b>3.657</b>	<b>0.029</b>	1.000	1.000
<b>150CoCl<sub>2</sub></b>	<i>LAMP2</i>	1.593	0.225	1.000	1.000
<b>150CoCl<sub>2</sub></b>	<i>LEP</i>	1.503	0.509	1.000	1.000
<b>150CoCl<sub>2</sub></b>	<i>LYVE1</i>	1.503	0.509	1.000	1.000
<b>150CoCl<sub>2</sub></b>	<i>MDK</i>	1.202	0.661	1.000	1.000
<b>150CoCl<sub>2</sub></b>	<i>MET</i>	1.416	0.301	1.000	1.000
<b>150CoCl<sub>2</sub></b>	<i>MITF</i>	2.199	0.252	1.000	1.000
<b>150CoCl<sub>2</sub></b>	<i>MMP2</i>	0.695	0.749	1.000	1.000
<b>150CoCl<sub>2</sub></b>	<i>MYRIP</i>	1.786	0.324	1.000	1.000

<b>150CoCl<sub>2</sub></b>	<i>NRPI</i>	0.591	0.635	1.000	1.000
<b>150CoCl<sub>2</sub></b>	<i>NRP2</i>	1.900	0.087	1.000	1.000
<b>150CoCl<sub>2</sub></b>	<i>PDGFRB</i>	1.238	0.556	1.000	1.000
<b>150CoCl<sub>2</sub></b>	<i>PECAM1</i>	1.482	0.433	1.000	1.000
<b>150CoCl<sub>2</sub></b>	<i>PLG</i>	1.207	0.814	1.000	1.000
<b>150CoCl<sub>2</sub></b>	<i>PMEL</i>	4.287	0.157	1.000	1.000
<b>150CoCl<sub>2</sub></b>	<i>PRL</i>	2.238	0.179	1.000	1.000
<b>150CoCl<sub>2</sub></b>	<i>PROK1</i>	1.503	0.509	1.000	1.000
<b>150CoCl<sub>2</sub></b>	<i>PROX1</i>	1.477	0.342	1.000	1.000
<b>150CoCl<sub>2</sub></b>	<i>RBP1</i>	0.565	0.574	1.000	1.000
<b>150CoCl<sub>2</sub></b>	<i>RDH10</i>	1.212	0.202	1.000	1.000
<b>150CoCl<sub>2</sub></b>	<i>RDH11</i>	2.121	0.101	1.000	1.000
<b>150CoCl<sub>2</sub></b>	<i>RPE65</i>	1.053	0.842	1.000	1.000
<b>150CoCl<sub>2</sub></b>	<i>SERPINC1</i>	1.698	0.283	1.000	1.000
<b>150CoCl<sub>2</sub></b>	<i>SERPINF1</i>	2.584	0.106	1.000	1.000
<b>150CoCl<sub>2</sub></b>	<i>SFRP5</i>	1.495	0.306	1.000	1.000
<b>150CoCl<sub>2</sub></b>	<i>SLC16A1</i>	1.279	0.550	1.000	1.000
<b>150CoCl<sub>2</sub></b>	<i>SLC4A2</i>	1.827	0.175	1.000	1.000
<b>150CoCl<sub>2</sub></b>	<i>TEK</i>	1.705	0.154	1.000	1.000
<b>150CoCl<sub>2</sub></b>	<i>TGFA</i>	1.555	0.412	1.000	1.000
<b>150CoCl<sub>2</sub></b>	<i>TGFB1</i>	0.999	0.999	1.000	1.000
<b>150CoCl<sub>2</sub></b>	<i>THBS1</i>	0.991	0.984	1.000	1.000
<b>150CoCl<sub>2</sub></b>	<i>TIMP2</i>	1.439	0.252	1.000	1.000
<b>150CoCl<sub>2</sub></b>	<i>TNFSF15</i>	0.695	0.617	1.000	1.000
<b>150CoCl<sub>2</sub></b>	<i>TNMD</i>	2.385	0.296	1.000	1.000
<b>150CoCl<sub>2</sub></b>	<i>TNNI1</i>	0.990	0.984	1.000	1.000
<b>150CoCl<sub>2</sub></b>	<i>TRPM3</i>	3.192	0.065	1.000	1.000
<b>150CoCl<sub>2</sub></b>	<i>TTR</i>	2.746	0.082	1.000	1.000
<b>150CoCl<sub>2</sub></b>	<i>TYR</i>	<b>6.071</b>	<b>0.028</b>	1.000	1.000

<b>150CoCl<sub>2</sub></b>	<i>TYRP1</i>	1.885	0.387	1.000	1.000
<b>150CoCl<sub>2</sub></b>	<i>VEGFA</i>	1.845	0.158	1.000	1.000
<b>150CoCl<sub>2</sub></b>	<i>VEGFB</i>	1.915	0.187	1.000	1.000
<b>150CoCl<sub>2</sub></b>	<i>VIM</i>	1.113	0.694	1.000	1.000
<b>150CoCl<sub>2</sub>+FV</b>	<i>ANGPT2</i>	<b>2.304</b>	<b>0.009</b>	5.580	0.129
<b>150CoCl<sub>2</sub>+FV</b>	<i>I8S</i>	1.130	0.872	0.815	0.558
<b>150CoCl<sub>2</sub>+FV</b>	<i>AHR</i>	0.828	0.473	0.691	0.261
<b>150CoCl<sub>2</sub>+FV</b>	<i>AMOT</i>	1.059	0.808	1.711	0.610
<b>150CoCl<sub>2</sub>+FV</b>	<i>ANGPT1</i>	0.879	0.630	<b>0.441</b>	<b>0.004</b>
<b>150CoCl<sub>2</sub>+FV</b>	<i>ANGPT4</i>	1.044	0.930	0.465	0.196
<b>150CoCl<sub>2</sub>+FV</b>	<i>ANGPTL1</i>	0.602	0.235	0.527	0.144
<b>150CoCl<sub>2</sub>+FV</b>	<i>ANGPTL2</i>	1.770	0.051	0.505	0.026
<b>150CoCl<sub>2</sub>+FV</b>	<i>ANGPTL3</i>	1.062	0.839	1.334	0.368
<b>150CoCl<sub>2</sub>+FV</b>	<i>ANGPTL4</i>	0.505	0.385	1.262	0.784
<b>150CoCl<sub>2</sub>+FV</b>	<i>BEST1</i>	0.570	0.090	0.743	0.325
<b>150CoCl<sub>2</sub>+FV</b>	<i>BMP4</i>	1.015	0.965	0.556	0.038
<b>150CoCl<sub>2</sub>+FV</b>	<i>CCL2</i>	1.054	0.888	0.498	0.073
<b>150CoCl<sub>2</sub>+FV</b>	<i>CCL5</i>	0.429	0.132	1.021	0.987
<b>150CoCl<sub>2</sub>+FV</b>	<i>CD44</i>	0.857	0.441	0.699	0.175
<b>150CoCl<sub>2</sub>+FV</b>	<i>CDH1</i>	1.171	0.697	0.630	0.270
<b>150CoCl<sub>2</sub>+FV</b>	<i>CDH2</i>	0.793	0.365	0.729	0.362
<b>150CoCl<sub>2</sub>+FV</b>	<i>CDH5</i>	0.961	0.931	0.534	0.194
<b>150CoCl<sub>2</sub>+FV</b>	<i>CDO1</i>	1.397	0.513	0.722	0.366
<b>150CoCl<sub>2</sub>+FV</b>	<i>CHGA</i>	0.882	0.443	0.688	0.132
<b>150CoCl<sub>2</sub>+FV</b>	<i>COL4A2</i>	1.277	0.598	19.796	0.327
<b>150CoCl<sub>2</sub>+FV</b>	<i>COL4A3</i>	1.422	0.402	0.633	0.160
<b>150CoCl<sub>2</sub>+FV</b>	<i>CS FV</i>	1.492	0.260	1.794	0.379
<b>150CoCl<sub>2</sub>+FV</b>	<i>CSF3</i>	0.829	0.612	0.748	0.481
<b>150CoCl<sub>2</sub>+FV</b>	<i>CXCL10</i>	0.800	0.647	0.355	0.088

<b>150CoCl<sub>2</sub>+FV</b>	<i>CXCL11</i>	0.876	0.800	0.391	0.077
<b>150CoCl<sub>2</sub>+FV</b>	<i>CXCL12</i>	1.541	0.538	0.598	0.209
<b>150CoCl<sub>2</sub>+FV</b>	<i>CXCL2</i>	<b>0.465</b>	<b>0.008</b>	0.518	0.099
<b>150CoCl<sub>2</sub>+FV</b>	<i>DCT</i>	1.832	0.367	0.897	0.507
<b>150CoCl<sub>2</sub>+FV</b>	<i>EFEMP1</i>	1.166	0.624	0.561	0.007
<b>150CoCl<sub>2</sub>+FV</b>	<i>ENPP2</i>	2.531	0.179	0.665	0.371
<b>150CoCl<sub>2</sub>+FV</b>	<i>EPHB2</i>	0.748	0.544	0.885	0.847
<b>150CoCl<sub>2</sub>+FV</b>	<i>F2</i>	0.605	0.223	0.492	0.119
<b>150CoCl<sub>2</sub>+FV</b>	<i>FADS1</i>	1.002	0.997	0.493	0.306
<b>150CoCl<sub>2</sub>+FV</b>	<i>FBLN5</i>	0.931	0.737	0.562	0.245
<b>150CoCl<sub>2</sub>+FV</b>	<i>FGF2</i>	0.623	0.070	0.507	0.100
<b>150CoCl<sub>2</sub>+FV</b>	<i>FGFR2</i>	0.914	0.621	0.583	0.001
<b>150CoCl<sub>2</sub>+FV</b>	<i>FLT1</i>	1.244	0.628	0.319	0.037
<b>150CoCl<sub>2</sub>+FV</b>	<i>FNI</i>	0.908	0.683	0.402	0.088
<b>150CoCl<sub>2</sub>+FV</b>	<i>FRZB</i>	1.034	0.946	0.388	0.118
<b>150CoCl<sub>2</sub>+FV</b>	<i>FST</i>	<b>3.043</b>	<b>0.014</b>	<b>0.352</b>	<b>0.022</b>
<b>150CoCl<sub>2</sub>+FV</b>	<i>GJA1</i>	1.151	0.373	0.626	0.035
<b>150CoCl<sub>2</sub>+FV</b>	<i>GRAMD3</i>	1.294	0.424	0.767	0.271
<b>150CoCl<sub>2</sub>+FV</b>	<i>GRN</i>	1.151	0.178	1.008	0.957
<b>150CoCl<sub>2</sub>+FV</b>	<i>HEY1</i>	0.882	0.280	1.205	0.521
<b>150CoCl<sub>2</sub>+FV</b>	<i>IFNB1</i>	0.358	0.250	0.411	0.177
<b>150CoCl<sub>2</sub>+FV</b>	<i>IFNG</i>	0.674	0.344	0.370	0.076
<b>150CoCl<sub>2</sub>+FV</b>	<i>IL12A</i>	0.858	0.778	0.644	0.370
<b>150CoCl<sub>2</sub>+FV</b>	<i>ITGAV</i>	0.865	0.560	0.566	0.077
<b>150CoCl<sub>2</sub>+FV</b>	<i>ITGB3</i>	0.771	0.533	0.607	0.260
<b>150CoCl<sub>2</sub>+FV</b>	<i>KDR</i>	2.345	0.155	1.068	0.918
<b>150CoCl<sub>2</sub>+FV</b>	<i>KIT</i>	1.353	0.402	0.370	0.067
<b>150CoCl<sub>2</sub>+FV</b>	<i>LAMP2</i>	1.087	0.717	0.682	0.281
<b>150CoCl<sub>2</sub>+FV</b>	<i>LEP</i>	0.775	0.646	0.515	0.269

<b>150CoCl<sub>2</sub>+FV</b>	<i>LYVE1</i>	0.775	0.646	0.515	0.269
<b>150CoCl<sub>2</sub>+FV</b>	<i>MDK</i>	0.963	0.726	0.801	0.605
<b>150CoCl<sub>2</sub>+FV</b>	<i>MET</i>	0.956	0.891	0.675	0.156
<b>150CoCl<sub>2</sub>+FV</b>	<i>MITF</i>	1.469	0.464	0.668	0.135
<b>150CoCl<sub>2</sub>+FV</b>	<i>MMP2</i>	0.809	0.402	1.164	0.891
<b>150CoCl<sub>2</sub>+FV</b>	<i>MYRIP</i>	1.334	0.240	0.747	0.582
<b>150CoCl<sub>2</sub>+FV</b>	<i>NRP1</i>	0.777	0.549	1.314	0.798
<b>150CoCl<sub>2</sub>+FV</b>	<i>NRP2</i>	0.890	0.610	0.468	0.085
<b>150CoCl<sub>2</sub>+FV</b>	<i>PDGFRB</i>	1.100	0.709	0.888	0.687
<b>150CoCl<sub>2</sub>+FV</b>	<i>PECAM1</i>	1.046	0.871	0.706	0.476
<b>150CoCl<sub>2</sub>+FV</b>	<i>PLG</i>	0.804	0.689	0.666	0.612
<b>150CoCl<sub>2</sub>+FV</b>	<i>PMEL</i>	1.719	0.529	0.401	0.114
<b>150CoCl<sub>2</sub>+FV</b>	<i>PRL</i>	0.775	0.646	0.346	0.080
<b>150CoCl<sub>2</sub>+FV</b>	<i>PROK1</i>	0.775	0.646	0.515	0.269
<b>150CoCl<sub>2</sub>+FV</b>	<i>PROX1</i>	1.254	0.209	0.849	0.668
<b>150CoCl<sub>2</sub>+FV</b>	<i>RBP1</i>	1.020	0.953	1.806	0.562
<b>150CoCl<sub>2</sub>+FV</b>	<i>RDH10</i>	0.910	0.466	0.751	0.025
<b>150CoCl<sub>2</sub>+FV</b>	<i>RDH11</i>	0.997	0.993	0.470	0.054
<b>150CoCl<sub>2</sub>+FV</b>	<i>RPE65</i>	0.924	0.715	0.878	0.532
<b>150CoCl<sub>2</sub>+FV</b>	<i>SERPINC1</i>	1.193	0.742	0.703	0.445
<b>150CoCl<sub>2</sub>+FV</b>	<i>SERPINFI1</i>	1.228	0.687	0.475	0.181
<b>150CoCl<sub>2</sub>+FV</b>	<i>SFRP5</i>	0.868	0.616	0.580	0.225
<b>150CoCl<sub>2</sub>+FV</b>	<i>SLC16A1</i>	1.140	0.700	0.891	0.678
<b>150CoCl<sub>2</sub>+FV</b>	<i>SLC4A2</i>	1.049	0.890	0.574	0.076
<b>150CoCl<sub>2</sub>+FV</b>	<i>TEK</i>	0.662	0.374	0.388	0.087
<b>150CoCl<sub>2</sub>+FV</b>	<i>TGFA</i>	1.033	0.947	0.665	0.097
<b>150CoCl<sub>2</sub>+FV</b>	<i>TGFB1</i>	0.777	0.077	0.778	0.753
<b>150CoCl<sub>2</sub>+FV</b>	<i>THBS1</i>	0.596	0.187	0.602	0.349
<b>150CoCl<sub>2</sub>+FV</b>	<i>TIMP2</i>	0.875	0.587	0.608	0.099

<b>150CoCl<sub>2</sub>+FV</b>	<i>TNFSF15</i>	0.863	0.530	1.241	0.756
<b>150CoCl<sub>2</sub>+FV</b>	<i>TNMD</i>	0.852	0.857	0.357	0.237
<b>150CoCl<sub>2</sub>+FV</b>	<i>TNNI1</i>	1.443	0.493	1.458	0.237
<b>150CoCl<sub>2</sub>+FV</b>	<i>TRPM3</i>	1.502	0.365	0.471	0.106
<b>150CoCl<sub>2</sub>+FV</b>	<i>TTR</i>	1.200	0.642	0.437	0.087
<b>150CoCl<sub>2</sub>+FV</b>	<i>TYR</i>	2.555	0.101	0.421	0.164
<b>150CoCl<sub>2</sub>+FV</b>	<i>TYRP1</i>	1.424	0.398	0.756	0.663
<b>150CoCl<sub>2</sub>+FV</b>	<i>VEGFA</i>	0.980	0.951	0.531	0.082
<b>150CoCl<sub>2</sub>+FV</b>	<i>VEGFB</i>	0.999	0.998	0.522	0.126
<b>150CoCl<sub>2</sub>+FV</b>	<i>VIM</i>	0.856	0.510	0.769	0.241

## 7.2 Publikation dieser Dissertation

Experimental Eye Research 231 (2023) 109469

---



Contents lists available at ScienceDirect

**Experimental Eye Research**

journal homepage: [www.elsevier.com/locate/yexer](http://www.elsevier.com/locate/yexer)



Research article

Establishment of specific age-related macular degeneration relevant gene expression panels using porcine retinal pigment epithelium for assessing fucoidan bioactivity

Philipp Dörschmann <sup>a,\*<sup>1</sup></sup>, Hubeydullah Akkurt <sup>a,1</sup>, Georg Kopplin <sup>b</sup>, Maria Dalgaard Mikkelsen <sup>c</sup>, Anne S. Meyer <sup>c</sup>, Johann Roider <sup>a</sup>, Alexa Klettner <sup>a</sup>

<sup>a</sup> Kiel University, University Medical Center, Department of Ophthalmology, Arnold-Heller-Str. 3, Haus B2, 24105, Kiel, Germany  
<sup>b</sup> Alginor ASA, Haraldsgata 162, 5525, Haugesund, Norway  
<sup>c</sup> Technical University of Denmark, Søltofts Plads, 2800 Kgs. Lyngby, Denmark



---

**ARTICLE INFO**

**Keywords:** Age-related macular degeneration, Fucoidan, Gene expression, Inflammation, Angiogenesis, Oxidative stress, Porcine retinal pigment epithelium

**ABSTRACT**

**Purpose:** Age-related macular degeneration (AMD) is the leading cause of severe vision loss in industrialized nations. Important factors in pathogenesis are oxidative stress, inflammation, and, in the wet form of AMD, angiogenesis. Fucoidans, sulfated polysaccharides from brown algae, may have antioxidant, anti-inflammatory, and antiangiogenic effects. In this study, we established specific gene expression panels for inflammation, oxidative stress and angiogenesis in porcine retinal pigment epithelium (RPE), and investigated the effect of fucoidans on gene expression under different noxious agents.

**Methods:** Primary porcine RPE cells cultured for at least 14 days were used. Using viability assays with tetrazolium bromide and real-time polymerase chain reaction of marker genes, positive controls were established for appropriate concentrations and exposure times of selected noxious agents (lipopolysaccharide (LPS), H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, CoCl<sub>2</sub>). Three different AMD relevant gene panels specific for porcine RPE for inflammation, oxidative stress, and angiogenesis were established, and the influence of fucoidans (mainly *Fucus vesiculosus*; FV) on gene expression was investigated.

**Results:** The following was shown by gene expression analyses:

- (1) Inflammation panel: Expression of 18 genes was affected under LPS (three days). Among them, LPS increased genes for interleukin 1 receptor 2, interleukin 8, cyclooxygenase-2 and vascular cell adhesion protein 1 expression which were diminished when FV was present.
- (2) Oxidative stress panel: Under stimulation of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (one day) and LPS (one day), expression of a total of 15 genes was affected. LPS induced increase in genes for superoxide dismutase-1, C-X-C motif chemokine 10, and CC chemokine ligand-5 expression was not detected when FV was present.
- (3) Angiogenesis panel: Under stimulation with CoCl<sub>2</sub> (three days) expression of six genes was affected, with the increase of genes for angiopoietin 2, vascular endothelial growth factor receptor-1, and follistatin being diminished when FV was present.

**Conclusion:** Three specific gene expression panels for porcine RPE that map genes for three of the major pathological factors of AMD, inflammation, oxidative stress, and angiogenesis, were established. Further, we demonstrated that fucoidans can reduce stress related gene activation in all of these three major pathogenic pathways. This study is another indication that fucoidans can act on different pathomechanisms of AMD simultaneously, which provides further evidence for fucoidans as a possible drug for treatment and prevention of AMD.

---

\* Corresponding author.  
E-mail address: [philipp.duerschmann@uksh.de](mailto:philipp.duerschmann@uksh.de) (P. Dörschmann).

<sup>1</sup> joint first authorship.

<https://doi.org/10.1016/j.exer.2023.109469>  
Received 11 November 2022; Received in revised form 24 March 2023; Accepted 6 April 2023  
Available online 8 April 2023  
0014-4835/© 2023 Elsevier Ltd. All rights reserved.

## 1. Introduction

Age-related macular degeneration (AMD) is the main cause for severe vision loss and blindness of the elderly in industrialized nations, with increasing incidence (Bourne et al., 2018). The current global prevalence is 196 million affected people and is estimated to grow to 200 million by the year 2040. The disease can be divided in early and late stages. In the early stage, changes of the retinal pigment epithelium (RPE) and Bruch's membrane occur in the macular region, mainly in the form of accumulation of age-related drusen of different sizes (Zhang and Sivaprasad, 2021). Later, AMD may proceed to the late dry form in which the function of the RPE is hampered and degenerative changes occur, with geographical atrophies developing over time, or to the wet (exudative) form in which abundant vascular endothelial growth factor (VEGF) leads to outgrowing blood vessels and edema which may rupture the retina; the latter resulting in more rapid vision loss (Mitchell et al., 2010; Wong et al., 2014). Currently, the only treatment option available are anti-VEGF therapeutics for exudative AMD, which need to be injected into the eye on a regular basis, a burden for both patients and health care providers (Schmidt-Erfurth et al., 2014). The treatment slows down the progression of vision loss, but does not cure the disease. Hence, better options for treatment or prevention of the development of late forms are necessary.

AMD is mainly associated with aging, with genetic susceptibility and life style as contributing risk factors (Heesterbeek et al., 2020). Different pathological pathways contribute and interact with each other in AMD development, such as oxidative stress, angiogenesis, and inflammation (Datta et al., 2017; Miller, 2016; Shaw et al., 2016). The main tissues involved in the development of this degenerative disease are RPE, choroid, Bruch's membrane and the photoreceptors (Bhutto and Lutty, 2012). The RPE as the supportive layer for the photoreceptors has many functions (Strauss, 2005), including secretion of VEGF to penetrate the choroidal endothelium (Blasuwgeerts et al., 1999), protection against oxidative stress, e.g. by up regulation of antioxidative factors like nuclear factor erythroid-2 related factor 2 (NRF2) (Klettner, 2012), formation of the outer blood-retina barrier, regulation of the immune response and suppression of the complement system (Klettner and Roider, 2021). With ageing, oxidative defense capability decreases and hypoxia and other factors may increase VEGF secretion (Sachdeva et al., 2014; Faby et al., 2014). Also, proinflammatory activation of RPE via stimulation of toll-like receptors (TLR) has been suggested as another important factor for AMD development (Klettner and Roider, 2021; Datta et al., 2017).

An ideal drug against AMD would target all these factors, thereby preventing the progression in a multi-factorial way. Recent evidence suggest that fucoidans may have the potential to be such a drug. Fucoidans are sulfated fucose-containing polyaccharide-constituents of the cell wall of brown algae and have manifold biological activities, depending on the origin, extraction method and chemical properties (Dörschmann and Klettner, 2020; Pomin, 2016). In this study we utilize commercially available and pure fucoidans from Sigma-Aldrich from the species *Fucus vesiculosus* (FV). It was previously shown that fucoidans can reduce VEGF secretion and do not influence cell viability (Dörschmann et al., 2019a; Bitthau et al., 2019). Furthermore, fucoidans reduce the expression of VEGF and angiogenesis in Matrigel-endothelial outgrowth models (Dithmer et al., 2014). In other ocular cell models it also exhibits antioxidative effects (Dithmer et al., 2017; Dörschmann et al., 2021). In addition, it was shown that fucoidans decrease pro-inflammatory cytokine secretion (Dörschmann et al., 2023).

RPE cell culture derived from porcine material is an excellent model of human RPE cells and can mimic important aspects of AMD development (Schnichels et al., 2021). Furthermore, porcine eyes can be obtained as waste material from food production and therefore can be a way to reduce animal experiments, following the 3R principle (Diaz et al., 2020). The porcine eye is very similar to the human eye regarding anatomy, size, and retinal specification (both diurnal mammals)

(Middleton, 2010; Schnichels et al., 2021).

In this study, we aimed to establish three different gene expression panels for porcine retinal pigment epithelium (inflammation, oxidative stress, angiogenesis), each specifically designated for one of the pathological pathways of AMD. For each of these panels, genes were chosen that are hallmarks for the corresponding pathological pathway and/or are involved in the development of AMD, based on purchasable human gene arrays for age-related macular degeneration, angiogenesis, inflammation and toxicity. Genes of particular interest were chosen based on a AMD genome study from 2016 (Fritsche et al., 2016), RPE/choroid/retina relevant studies (Butler et al., 2021; Voigt et al., 2019) and based on proteins which have proven of interest in previous studies of our group (e.g. inflammatory cytokines *IL1B*, *IL6*, *CXCL8*, *TNF* (Dietrich et al., 2020) and VEGF and its receptor related gene *VEGFA*, *KDR* and *FLT1* (Dörschmann et al., 2020b)). Obviously, all human genes were changed to the corresponding porcine ones. To our knowledge, none of such gene expression panels exist currently for porcine RPE. These gene array panels can be used as a standard gene expression screening method for investigating potential AMD treatment and prevention drugs, in accordance with the 3R principle (replacement, reduction and refinement of animal experiments). Using these gene array panels, we found that fucoidans could ameliorate gene expression in all three major AMD pathological pathways, suggesting that fucoidans could be a promising compound for AMD prevention and/or treatment.

## 2. Methods

### 2.1. Cell culture

All experiments were conducted with primary porcine RPE cells, prepared from pig eyes as previously described (Klettner and Roider, 2021). In brief, adjacent tissue of the pig eye was removed, as well as cornea, iris, ciliary body, retina and the vitreous body. RPE was detached with trypsin/ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA, Pan-Biotech, Aidenbach, Germany; #P10-023100). Cells were cultivated in HyClone Dulbecco's Modified Eagle's Medium (DMEM, GE Healthcare, München, Germany; #SH30022.01) with 1% non-essential amino acids (Pan-Biotech; #P00-32100), 2.5% 4-(2-hydroxyethyl)-1-piperazineethanesulfonic acid (HEPES, Pan-Biotech; #P05-01100), 1% penicillin/streptomycin (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA; #P4333) and 10% fetal calf serum (LINARISblue, Wertheim-Bettingen, Germany; #SBP3119KYA). For each culture, cells were pooled from twelve eyes, seeded in 12-well or 24-well plates (Sarstedt, Nümbrecht, Germany; #03.3921 or #03.3922), and cultivated for two weeks until confluence. The usage of porcine eyes from waste material for experimental purposes was conducted in agreement with the animal welfare officer of the University of Kiel. According to the German animal welfare act (TierSchG), and is not considered to be animal research, but an alternative to the use of animals in research.

### 2.2. Stimulation

For cell viability assays, cells were stimulated with 1 or 10 µg/mL lipopolysaccharide (LPS, Merck, Darmstadt, Germany; #L4524), 10 or 100 µg/mL polyinosinic:polycytidyllic acid (poly I:C (PIC), Tocris Bioscience, Bristol, UK; #4227/10), 100, 200, 300, 500, 750 or 1000 µM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, 100, 200, or 300 µM tert-butyl hydroperoxide (TBHP, Merck; #014006), 20 µM Erastin (Sigma-Aldrich; #329600), or 25, 75, 100, 150, or 250 µM CoCl<sub>2</sub> (Sigma-Aldrich; #232696) for various time periods to induce inflammation, oxidative stress, or angiogenic signaling, respectively. From those, suitable concentrations of stressors were used in gene expression assays. Concerning fucoidan treatment, cells were stimulated with 50 µg/ml fucoidan (FV fucoidan) from *Fucus vesiculosus* (Sigma Aldrich; Cat-No: F5631, Lot #SLBT5471). Test concentrations are based on previous studies with best outcome in biological activities (Dietrich et al., 2020; Dörschmann et al., 2019a, 2019b; Klettner et al.,

2020). FV fucoidan was also used for the gene arrays. Additionally, we tested 50 µg/ml of the fucoidans Fuc1 and FucBB04, kindly provided by Alginor ASA (both *Laminaria hyperborea* (LH), 1550 kDa and >2000 kDa, respectively) and enzymatically extracted SL-P2 (*Saccharina latissima*), kindly proved by Technical University of Denmark (Nguyen et al., 2020), in gene expression assays. FV, Fuc1 and SL-P2 already displayed promising results in recent studies (Dörschmann et al. 2019b, 2020a, 2021, 2023) and FucBB04 was additionally tested as a new LH fucoidan, expected to show similar effects as the LH fucoidan Fuc1.

### 2.3. Cell viability

Cell viability was tested with thiazolyl blue tetrazolium bromide (MTT) assay (Riaa et al., 2004). In brief, media of treated cell cultures were discarded, cells were washed with phosphate-buffered saline (PBS, Pan Biotech; #P04-37500) and incubated with 0.5 mg/ml MTT (Sigma-Aldrich; #M2120) for 2 h at 37 °C. MTT was removed and cells dissolved in dimethyl sulfoxide (Carl Roth, Karlsruhe, Germany; #A994.1). Absorbance was assessed with the plate reader Elx800 (Biotek, Bad Friedrichshall, Germany) at 550 nm.

### 2.4. Quantitative polymerase chain reaction

After treatment of RPE, RNA was isolated with PureLink<sup>TM</sup> RNA Mini Kit (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA; #12103010A) as described in the manufacturer's instruction. Genomic DNA was digested with PureLink<sup>TM</sup> DNase Set (Thermo Fisher Scientific; #12105010). RNA was eluted with 20 µl RNase free water. Concentration and purity of RNA was assessed with NanoDrop<sup>TM</sup> One system (Thermo Fisher Scientific). The cDNA was transcribed by using 1.5 µg RNA per 25 µl for the High-Capacity cDNA Reverse Transcription Kit (Thermo Fisher Scientific; #4360014) without RNase inhibitor, according to the manual. The cDNA was used without further analysis for real-time polymerase chain reaction (qPCR) with TaqMan<sup>TM</sup> gene expression assays (dye label 5(6)-carboxyfluorescein-minor groove binder (FAM-MGB), passive reference dye carboxyrhodamine (ROX)) and TaqMan<sup>TM</sup> Fast Advanced Master Mix (both Thermo Fisher Scientific; #4331102 and #4444556), as described in the instructions for the master mix. For qPCR, the QuantStudio 3 system with Design and Analysis Software was used (Thermo Fisher Scientific). For establishment of positive controls for the gene panels, a selection of primers was used (*IL6*, *IL6*, *NKAP* for inflammation; *SOD1*, *GSS*, *CAT* for oxidative stress; *ANGPT2*, *VEGFA*, *TGFBI* for angiogenesis) and tested in triplicates on Microamp<sup>TM</sup> Fast Optical reaction microtiter plates (96 wells) (Thermo Fisher Scientific; #4346906). For the gene panels, self-designed gene array plates with 96 different gene expression assays per plate were used. The plates were based on pre-designed human gene panels of Thermo Fisher Scientific for AMD, inflammation, oxidative stress and angiogenesis; when human-corresponding porcine genes were not available, they were switched with other suitable porcine genes. Genes for positive controls were also included in the plates with three endogenous controls for each panel. A list of all genes and their full name per panel is depicted in the supplemental Figures (Figs. S1–S3) with endogenous controls marked grey. For normalization of gene expression the ΔΔCT method was used for evaluation (Livak and Schmittgen, 2001).  $\Delta CT$  (=  $CT$  (gene of interest) -  $CT$  (housekeeping gene)),  $\Delta\Delta CT$  (=  $\Delta CT$  (treated sample) -  $\Delta CT$  (untreated sample)) and relative fold gene expression level  $RQ$  (=  $2^{-\Delta\Delta CT}$ ) were determined with cloud software Thermo Fisher Connect with the  $RQ$  module (relative quantification). The  $RQ$  value represents the normalized (to endogenous control) and relative exponential gene expression compared to another condition. For example, an  $RQ$  of 2.0 means that this gene of this condition is two times more expressed than the reference group and 0.5 means it is two times less expressed than the reference group. Regarding  $RQ$  settings, Analysis Type was "Singleplex", confidence level was "off", limit by standard deviation was "1", Benjamin-Hochberg false discovery was "off", maximum allowed  $CT$

was "36" and include maximum  $CT$  in calculation was "on". Values of specific endogenous controls were used for normalization and depending on the biological question the control or stress control was set to "1.0".

### 2.5. Statistical analysis

All experiments were independently conducted at least three times. The Diagrams, mean values and standard deviation of cell viability data were generated with Microsoft Excel (Excel, 2010; Microsoft, Redmond, WA, USA) and qPCR data was evaluated with cloud software Thermo Fisher Connect, generating tables and volcano plots. Statistical analysis was performed with GraphPad Prism 9 (GraphPad Software, Inc., San Diego, CA, USA, 2021) for cell viability data and Thermo Fisher Connect for the PCR data. Regarding cell viability data, test for normality was conducted with Shapiro-Wilk test and significances were determined with one-sample t-test. PCR data was evaluated with t-test of Thermo Fisher Connect without Benjamini-Hochberg correction to avoid false-negative results. Data was described as significant with p values  $\leq 0.5$  and relevant with a  $RQ$  of  $\leq 0.5$  or  $\geq 2.0$ .

## 3. Results

### 3.1. Testing cell viability for appropriate noxious agent concentration

Cell viability was tested to identify appropriate noxious agents capable of activating a selection of genes that could be used as positive controls for the respective gene arrays. For this, already established agents were used and tested for appropriate stimulations times and concentrations based on former studies (Klettner et al., 2020; Dörschmann et al. 2019a, 2021; Rana et al., 2019). We used MTT assays in order to find the highest possible concentrations without relevant influence on cell viability and metabolic activity. All data was distributed normally (Shapiro-Wilk test) and one-sample t-test was conducted to test significances. Diagrams represent the mean value of three independent experiments with standard deviation and data was set in relation to the untreated control which was 100%. RPE cells were treated after preparation and cultivation for two weeks, until reaching confluence.

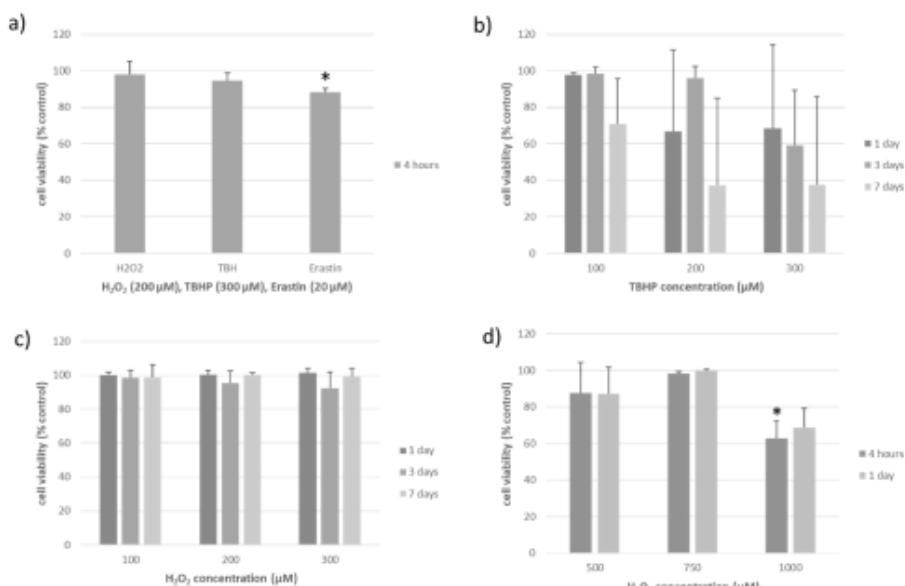
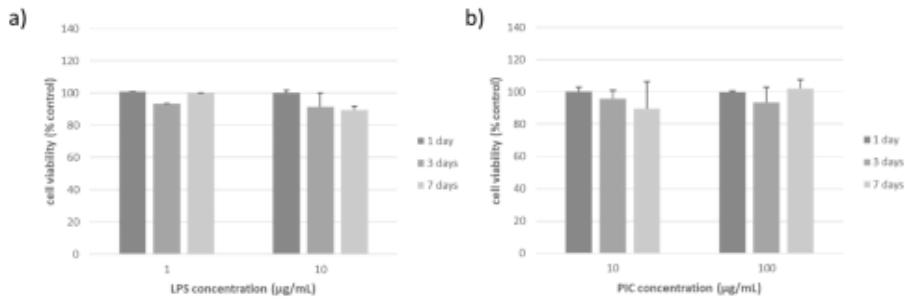
Regarding the inflammation panel, we tested 1 and 10 µg/ml LPS (Fig. 1a) as well as 10 and 100 µg/ml PIC (Fig. 1b) on primary porcine RPE cells for one, three and seven days. None of the pro-inflammatory agents showed significant effects on viability. So, for further experiments the highest tested concentrations and all time periods were suitable.

In the oxidative stress panel, RPE was stimulated with 200 µM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, 300 µM TBHP or 20 µM erastin for 4 h (Fig. 2a), 100, 200 or 300 µM TBHP for one, three and seven days (Fig. 2b), 100 and 200 or 300 µM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> for one, three and seven days (Fig. 2c) and with 500, 750 or 1000 µM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> for four and 24 h, respectively (Fig. 2d). None of the tested agents showed significant effects on viability except 20 µM erastin (4 h) and 1 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (4 h) which reduced cell viability to 80% ± 2% (p = 0.0152) and 65% ± 10% (p = 0.0333), respectively. We excluded 20 µM erastin and 1 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> from further testing.

Finally, for the angiogenesis panel, hypoxia-inducing CoCl<sub>2</sub> was tested in RPE. The cells were stimulated with 25, 75, 100, 150, or 250 µM CoCl<sub>2</sub> for one and three days, respectively (Fig. 3). None of the applied concentrations showed effects on viability except a modest reduction with 250 µM CoCl<sub>2</sub> after three days, which reduced cell viability to 87% ± 4% (p = 0.0444). We excluded this concentration from further testing.

### 3.2. Establishment of positive controls for gene arrays with gene expression assays

To establish gene arrays for AMD related factors, following positive

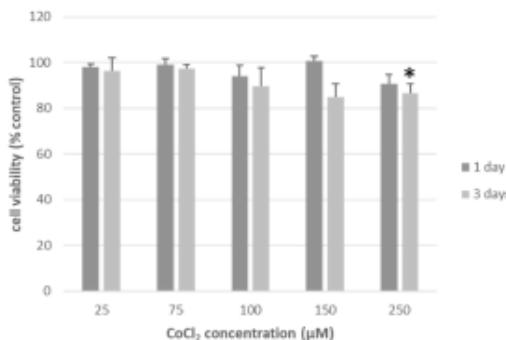


**Fig. 2. Cell viability under oxidative stress.** Primary porcine retinal pigment epithelium cells (RPE) were prepared and cultivated for two weeks until reaching confluence. Confluent cells were treated with 200 µM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, 300 µM tert-butyl hydroperoxide (TBHP), or 20 µM erastin, for 4 h (a), 100, 200, or 300 µM TBHP for one, three, and seven days (b), 100, 200, or 300 µM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> for one, three, and seven days (c) or with 500, 750, or 1000 µM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> for four and 24 h (d). Data was tested for normal distribution with Shapiro-Wilk test and was normally distributed. Data was calculated relative to the untreated control, set to 100%. One-sample t-test was conducted to test for significances. \*p ≤ 0.05; n = 3 (number of independent experiments).

control genes were selected: *IL6*, *IL8*, *NFKB1* as inflammation markers, *SOD1*, *GSS*, *CAT* as oxidative stress markers and *ANGPT2*, *VEGFA*, *TGFBI* as angiogenesis markers (Leung et al., 2009; Liu et al., 2020; Mlakar et al., 2012; Kim et al., 2021; Sreekumar et al., 2021; Oseira et al., 2015; Lazzara et al., 2020; Qin et al., 2020). The highest possible concentration of noxious agents without relevant influence on cell viability was chosen from the previous assays. Different stimulation times (one, three, seven days) was investigated to choose appropriate times for the gene arrays. The most suitable agent, in the right concentration and time frame, leading to highest possible gene activation, was chosen.

### 3.2.1. Establishment of positive controls for inflammation gene array

To establish the positive controls for the inflammation gene array, *GAPDH*, *ACTB* and *GUSB* were chosen as endogenous controls for *IL6* expression. Both LPS (1 and 10 µg/ml) and PIC (10 and 100 µg/ml) were tested independently for one, three and seven days. The RQ values and significances are given in Table 1. Already on day 1, 10 µg/ml LPS and 100 µg/ml PIC increased *IL6* expression significantly. On day 3, all tested agents increased gene expression except for 100 µg/ml PIC, with 10 µg/ml LPS leading to an extremely high relative fold gene expression level of 194. On day 7, no significant data was achieved, possibly because of a manifestation of defense mechanisms of the RPE cells.



**Fig. 3. Cell viability under hypoxia.** Primary porcine retinal pigment epithelium cells (RPE) were prepared and cultivated for two weeks until reaching confluence and treated with 25, 75, 100, 150 or 250  $\mu\text{M}$  CoCl<sub>2</sub> for one and three days. Data was tested for normal distribution with Shapiro-Wilk test and was normally distributed. Data was calculated relative to the untreated control, set to 100%. One-sample t-test was conducted to test for significances. \*p  $\leq 0.05$ ; n = 3 (number of independent experiments).

Hence, for assessment of the remaining two genes, the 7-day experiment was excluded.

The *ACTB* control was found not suitable, since it was slightly influenced by pro-inflammatory activation (data not shown), therefore, only *GUSB* and *GAPDH* were used for further experiments.

*IL6* and *NKAP* expression was investigated in RPE cells after stimulation with LPS and PIC for 1 and 3 days (Table 2). After day 1, *IL6* expression was increased by 1  $\mu\text{g}/\text{mL}$  LPS, while *NKAP* expression was decreased. Furthermore, 100  $\mu\text{g}/\text{mL}$  PIC increased *IL6* expression significantly after one day. In addition, on day 3, 1  $\mu\text{g}/\text{mL}$  LPS increased *IL6* expression, while 10  $\mu\text{g}/\text{mL}$  LPS increased both *IL6* and *NKAP* expression significantly. Stimulation with LPS at a concentration of 10  $\mu\text{g}/\text{mL}$  for 3 days was chosen for further experiments.

In addition to using FV, two other fucoidans were tested to investigate possible anti-inflammatory effects (Table 3). These fucoidans already showed anti-inflammatory properties regarding inflammatory cytokine reduction in pretests (Dörschmann et al., 2023). *GAPDH* and *GUSB* were used as endogenous gene controls. RQ values and significances were calculated separately against the untreated control and LPS control. As expected, 10  $\mu\text{g}/\text{mL}$  LPS increased *IL6* and *IL8* gene expression after three days, but unexpectedly did not affect *NKAP* expression. Treatment with FV fucoidan alone did not induce an increase in gene expression but reduced the LPS-induced increase of *IL6* from 40 to 26 (p = 0.000). Fuc1 and SL-F2 increased *IL6*, *IL8* and *NKAP*. When setting the LPS increased gene expression to 1, FV and Fuc1 significantly decreased *IL6* expression in the presence of LPS to 0.543 (p = 0.027) and 0.260 (p = 0.007), respectively, while SL-F2 decreased the expression not

significantly to 0.462 (p = 0.160), compared to stimulation with LPS alone. The expression of *IL6* showed a tendency to decrease by the presence of FV, Fuc1 and SL-F2, which did not reach significance, from 1 to 0.452 (p = 0.142), 0.630 (p = 0.330), and 0.462 (p = 0.160), respectively. *NKAP* expression displayed a modest but insignificant decrease from 1.000 to 0.042 (p = 0.369) for FV, and from 1.000 to 0.774 (p = 0.335) for Fuc1, while SL-F2 displayed an insignificant increase from 1.000 to 1.236 (p = 0.564). Taken together, only FV and Fuc1 displayed a significant decrease in LPS induced expression of *IL6*.

### 3.2.2. Establishment of positive controls for oxidative stress gene array

As positive controls for the oxidative stress gene array *CAT*, *GSS* and *SOD1* were tested, while *GAPDH*, *ACTB* and *GUSB* were used as endogenous controls. We stimulated RPE cell with 100–750  $\mu\text{M}$  H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, 200 or 300  $\mu\text{M}$  TBHP, 20  $\mu\text{M}$  erastin, 1 or 10  $\mu\text{g}/\text{mL}$  LPS as well as 100 or 150  $\mu\text{M}$  CoCl<sub>2</sub> for different time periods (Table 4). Primary RPE cells are highly resistant to oxidative stress, making this experiment challenging (Klettner, 2012). H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and TBHP were selected as direct agent, while erastin, LPS, and CoCl<sub>2</sub> were chosen as indirect agents. 300  $\mu\text{M}$  TBHP significantly increased *GSS* expression two times after 4 h (p = 0.035). Also, 100  $\mu\text{M}$  H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> increased *SOD1* expression significantly nearly 2.5 times (p = 0.029) after one day, which is quite interesting as the lowest H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> had the strongest effects. Since higher RQ values were desired for the positive control, LPS was used again to induce indirect oxidative stress by an inflammatory reaction, which was also used in other studies for this purpose (Ozal et al., 2010). The most effective results were achieved by using 10  $\mu\text{g}/\text{mL}$  LPS for one day, which significantly

**Table 2**

Testing *IL6* and *NKAP* as positive control genes. This table shows results of real-time polymerase chain reactions (qPCR) with gene expression assays from Thermo Fisher Scientific. Primary porcine retinal pigment epithelium was stimulated after reaching confluence (agents and stimulation time indicated). Data was evaluated with Thermo Fisher Connect according to the  $\Delta\Delta\text{CT}$  method. The bio group name, the target name, the time of stimulation, the relative fold gene expression level RQ and the p-value for testing significances (marked in bold, t-test) are shown. LPS1 = 1  $\mu\text{g}/\text{mL}$  lipopolysaccharide (LPS), LPS10 = 10  $\mu\text{g}/\text{mL}$  LPS, PIC10 = 10  $\mu\text{g}/\text{mL}$  polyinosinic:polycytidyllic acid (poly I:C (PIC)), PIC100 = 100  $\mu\text{g}/\text{mL}$  PIC, IL6 – gene for interleukin 6, NKAP – gene for NF- $\kappa$ B-activating protein, n = 3 number of independent experiments.

Bio Group Name	Target Name	1 day		3 days	
		RQ	P-Value	RQ	P-Value
control	<i>IL6</i>	1.000	1.000	1.000	1.000
control	<i>NKAP</i>	1.000	1.000	1.000	1.000
LPS1	<i>IL6</i>	<b>3.870</b>	<b>0.017</b>	<b>17.131</b>	<b>0.026</b>
LPS1	<i>NKAP</i>	<b>0.402</b>	<b>0.040</b>	1.498	0.582
LPS10	<i>IL6</i>	3.952	0.183	<b>35.007</b>	<b>0.000</b>
LPS10	<i>NKAP</i>	0.658	0.553	<b>3.022</b>	<b>0.010</b>
PIC10	<i>IL6</i>	2.136	0.170	4.171	0.107
PIC10	<i>NKAP</i>	0.714	0.655	2.007	0.149
PIC100	<i>IL6</i>	<b>6.684</b>	<b>0.002</b>	3.409	0.066
PIC100	<i>NKAP</i>	0.795	0.585	1.100	0.782

**Table 1**

Preliminary gene expression tests with *IL8*. This table shows results of real-time polymerase chain reactions (qPCR) with gene expression assays from Thermo Fisher Scientific. Primary porcine retinal pigment epithelium was stimulated after reaching confluence (agents and stimulation time indicated). Data was evaluated with Thermo Fisher Connect according to the  $\Delta\Delta\text{CT}$  method. The bio group name, the target name, the time of stimulation, the relative fold gene expression level RQ and the p-value for testing significances (marked in bold, t-test) are shown. LPS1 = 1  $\mu\text{g}/\text{mL}$  lipopolysaccharide (LPS), LPS10 = 10  $\mu\text{g}/\text{mL}$  LPS, PIC10 = 10  $\mu\text{g}/\text{mL}$  polyinosinic:polycytidyllic acid (poly I:C (PIC)), PIC100 = 100  $\mu\text{g}/\text{mL}$  PIC, IL8 – gene for interleukin 8, n = 3 number of independent experiments.

Bio Group Name	Target Name	1 day		3 days		7 days	
		RQ	P-Value	RQ	P-Value	RQ	P-Value
control	<i>IL8</i>	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000
LPS1	<i>IL8</i>	29.566	0.113	<b>62.585</b>	<b>0.001</b>	8.728	0.089
LPS10	<i>IL8</i>	<b>46.763</b>	<b>0.000</b>	<b>194.156</b>	<b>0.000</b>	18.111	0.077
PIC10	<i>IL8</i>	5.488	0.109	<b>12.212</b>	<b>0.012</b>	3.669	0.089
PIC100	<i>IL8</i>	23.016	0.025	1.191	0.931	9.320	0.082

**Table 3**

Pre-screening of fucoidans with inflammation relevant genes. This table shows results of real-time polymerase chain reactions (qPCR) with gene expression assays from Thermo Fisher Scientific. Primary porcine retinal pigment epithelium was stimulated after reaching confluence (agents indicated, stimulation time = three days). Data was evaluated with Thermo Fisher Connect according to the  $\Delta\Delta CT$  method. The bio group name, the target name, the relative fold gene expression level RQ and the p-value for testing significances (marked in bold, t-test) are shown. RQ and significances were calculated relatively to control and lipopolysaccharide (LPS) stress control. LPS10 = 10  $\mu$ g/mL LPS, Fuc1 = 1548.6 kDa fucoidan from *Laminaria hyperborea*, SL-F2 = fucoidan from *Saccharina latissima*, FV = fucoidan from *Fucus vesiculosus* (Sigma-Aldrich), IL6 = gene for interleukin 6, IL8 = gene for interleukin 8, NKAP = gene for NF- $\kappa$ B-activating protein, n = 3 number of independent experiments.

Bio Group Name	Target Name	vs. co		vs. LPS	
		RQ	P-Value	RQ	P-Value
control	IL6	1.000	1.000	<b>0.26</b>	<b>0.040</b>
control	IL8	1.000	1.000	<b>0.021</b>	<b>0.000</b>
control	NKAP	1.000	1.000	0.668	0.132
LPS10	IL6	<b>3.842</b>	<b>0.040</b>	1.000	1.000
LPS10	IL8	<b>48.108</b>	<b>0.000</b>	1.000	1.000
LPS10	NKAP	1.497	0.132	1.000	1.000
FV	IL6	0.854	0.671	<b>0.222</b>	<b>0.025</b>
FV	IL8	0.572	0.205	<b>0.012</b>	<b>0.000</b>
FV	NKAP	0.939	0.909	0.627	0.387
FV + LPS10	IL6	1.737	0.093	0.452	0.142
FV + LPS10	IL8	<b>26.104</b>	<b>0.000</b>	0.543	0.027
FV + LPS10	NKAP	1.261	0.400	0.842	0.369
Fuc1	IL6	<b>2.140</b>	<b>0.046</b>	0.557	0.253
Fuc1	IL8	<b>13.962</b>	<b>0.001</b>	<b>0.443</b>	<b>0.032</b>
Fuc1	NKAP	1.417	0.276	0.946	0.820
Fuc1+LPS10	IL6	<b>2.421</b>	<b>0.010</b>	0.63	0.33
Fuc1+LPS10	IL8	<b>12.883</b>	<b>0.001</b>	<b>0.268</b>	<b>0.007</b>
Fuc1+LPS10	NKAP	1.158	0.645	0.774	0.335
SL-F2	IL6	0.434	0.136	0.113	<b>0.008</b>
SL-F2	IL8	<b>7.432</b>	<b>0.001</b>	<b>0.154</b>	<b>0.000</b>
SL-F2	NKAP	<b>2.575</b>	<b>0.011</b>	1720	0.048
SL-F2+LPS10	IL6	1.774	0.144	0.462	0.160
SL-F2+LPS10	IL8	<b>32.214</b>	<b>0.000</b>	0.513	0.118
SL-F2+LPS10	NKAP	1.85	0.164	1236	0.564

increased CAT to 5.5 ( $p = 0.004$ ) and SOD1 to 0.2 ( $p = 0.001$ ) relative fold gene expression level compared to the control. We used 100  $\mu$ M H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and 10  $\mu$ g/mL LPS as direct and indirect oxidative stress agents for 1 day as best parameters for further experiments.

Furthermore, we tested three preselected fucoidans regarding possible antioxidative effects with the three selected genes (Table 5). FV and LH fucoidans had previously shown protective effects against oxidative stress (Dörschmann et al., 2019b; Dithmer et al., 2017). We used ACTB and GUSB as endogenous controls. RQ values and significances were calculated separately against untreated control and LPS control. We used 10  $\mu$ g/mL LPS and stimulated the cells for one day (best parameters of former tests). As expected, 10  $\mu$ g/mL LPS increased gene expression of CAT and SOD1 in comparison to the untreated control (RQ = 1.000). We tested 50  $\mu$ g/ml of FV, Fuc1 and FucBB04 fucoidan and none of them increased the expression of target genes, which implicates that they are not oxidative stress inducing on their own. Together with LPS, all fucoidans tested significantly reduced expression of CAT and SOD1. FV fucoidan reduced CAT and SOD1 expression to 0.209 ( $p = 0.017$ ) and 0.222 ( $p = 0.009$ ), respectively, compared to LPS alone (RQ set to 1.000). Also, together with LPS, the fucoidans Fuc1 and FucBB04 decreased the relative gene expression fold of CAT to 0.196 ( $p = 0.010$ ) and 0.279 ( $p = 0.004$ ) and SOD1 to 0.242 ( $p = 0.042$ ) and 0.206 ( $p = 0.023$ ), respectively, compared to LPS alone. This implicated anti-oxidative effects by all tested fucoidans.

### 3.2.3. Establishment of positive controls for angiogenesis gene array

As positive controls for the angiogenesis gene array the ANGPT2, TGFBI and VEGFA genes were tested and GAPDH, ACTB and GUSB were

**Table 4**

Testing CAT, GSS and SOD1 as positive control genes. This table shows results of real-time polymerase chain reactions (qPCR) with gene expression assays from Thermo Fisher Scientific. Primary porcine retinal pigment epithelium was stimulated after reaching confluence (agents indicated, stimulation time indicated). Data was evaluated with Thermo Fisher Connect according to the  $\Delta\Delta CT$  method. The stimulation time and bio group name, the target name, the relative fold gene expression level RQ and the p-value for testing significances (marked in bold, t-test) are shown. RQ and significances were calculated relatively to control for each stimulation time. CAT = gene for catalase, GSS = gene for glutathione synthetase, SOD1 = gene for superoxide dismutase 1, 100H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> = 100  $\mu$ M H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, 300H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> = 300  $\mu$ M H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, 500H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> = 500  $\mu$ M H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, 750H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> = 750  $\mu$ M H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, 200TBHP = 200  $\mu$ M tert-butylhydroperoxide (TBHP), 300TBHP = 300  $\mu$ M TBHP, 20Erastin = 20  $\mu$ M erastin, LPS1 = 1  $\mu$ g/mL lipopolysaccharide (LPS), LPS10 = 10  $\mu$ g/mL LPS, 100CoCl<sub>2</sub> = 100  $\mu$ M CoCl<sub>2</sub>, 150CoCl<sub>2</sub> = 150  $\mu$ M CoCl<sub>2</sub>, n = 3 number of independent experiments.

Time	Bio Group Name	Target Name	RQ	P-Value
4 h	control	CAT	1.000	1.000
4 h	control	GSS	1.000	1.000
4 h	control	SOD1	1.000	1.000
4 h	100H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	CAT	1.099	0.862
4 h	100H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	GSS	1.546	0.080
4 h	100H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	SOD1	1.413	0.643
4 h	300H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	CAT	1.403	0.566
4 h	300H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	GSS	0.655	0.208
4 h	300H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	SOD1	1.016	0.980
4 h	500H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	CAT	3.046	0.055
4 h	500H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	GSS	<b>2.054</b>	<b>0.035</b>
4 h	500H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	SOD1	1.543	0.263
4 h	750H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	CAT	1.819	0.201
4 h	750H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	GSS	0.859	0.775
4 h	750H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	SOD1	0.802	0.574
1 day	control	CAT	1.000	1.000
1 day	control	GSS	1.000	1.000
1 day	control	SOD1	1.000	1.000
1 day	100H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	CAT	1.842	0.489
1 day	100H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	GSS	1.742	0.456
1 day	100H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	SOD1	<b>2.475</b>	<b>0.029</b>
1 day	300H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	CAT	0.648	0.626
1 day	300H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	GSS	1.945	0.298
1 day	300H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	SOD1	0.889	0.865
1 day	500H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	CAT	1.428	0.125
1 day	500H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	GSS	1.247	0.562
1 day	500H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	SOD1	1.251	0.430
1 day	750H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	CAT	1.550	0.082
1 day	750H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	GSS	1.268	0.548
1 day	750H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	SOD1	1.422	0.254
1 day	200TBHP	CAT	0.833	0.368
1 day	200TBHP	GSS	1.169	0.650
1 day	200TBHP	SOD1	1.206	0.196
1 day	100CoCl <sub>2</sub>	CAT	1.825	0.056
1 day	100CoCl <sub>2</sub>	GSS	2.107	0.129
1 day	100CoCl <sub>2</sub>	SOD1	1.08	0.876
1 day	150CoCl <sub>2</sub>	CAT	1.287	0.505
1 day	150CoCl <sub>2</sub>	GSS	1.635	0.293
1 day	150CoCl <sub>2</sub>	SOD1	1.688	0.245
1 day	1LPS	CAT	1.113	0.833
1 day	1LPS	GSS	2.351	0.096
1 day	1LPS	SOD1	1.481	0.425
1 day	10LPS	CAT	<b>5.455</b>	<b>0.004</b>
1 day	10LPS	GSS	1.500	0.364
1 day	10LPS	SOD1	<b>8.221</b>	<b>0.001</b>
3 days	Control	CAT	1.000	1.000
3 days	Control	GSS	1.000	1.000
3 days	Control	SOD1	1.000	1.000
3 days	100H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	CAT	0.264	0.185
3 days	100H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	GSS	0.678	0.608
3 days	100H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	SOD1	0.239	0.169
3 days	300H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	CAT	0.393	0.167
3 days	300H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	GSS	0.822	0.749
3 days	300H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	SOD1	0.259	0.193

**Table 5**

Pre-screening of fucoidans with oxidative stress relevant genes. This table shows results of real-time polymerase chain reactions (qPCR) with gene expression assays from Thermo Fisher Scientific. Primary porcine retinal pigment epithelium was stimulated after reaching confluence (agents indicated, stimulation time = one day). Data was evaluated with Thermo Fisher Connect according to the  $\Delta\Delta CT$  method. The bio group name, the target name, the relative fold gene expression level RQ and the p-value for testing significances (marked in bold, t-test) are shown. RQ and significances were calculated relatively to control and lipopolysaccharide (LPS) stress control. CAT = gene for catalase, GSS = gene for glutathione synthetase, SOD1 = gene for superoxide dismutase 1, LPS10 = 10  $\mu$ g/mL LPS, Fuc1 = 1548.6 kDa fucoidan from *Laminaria hyperborea*, FucBB04 = >2000 kDa fucoidan from *Laminaria hyperborea*, FV = fucoidan from *Fucus vesiculosus* (Sigma-Aldrich), n = 3 number of independent experiments.

Bio Group Name	Target Name	vs. co		vs. LPS	
		RQ	P-Value	RQ	P-Value
control	CAT	1.000	1.000	<b>0.266</b>	<b>0.016</b>
control	GSS	1.000	1.000	0.659	0.261
control	SOD1	1.000	1.000	<b>0.171</b>	<b>0.004</b>
10LPS	CAT	<b>3.763</b>	<b>0.016</b>	1.000	1.000
10LPS	GSS	1.517	0.261	1.000	1.000
10LPS	SOD1	<b>5.831</b>	<b>0.004</b>	1.000	1.000
FV	CAT	1.177	0.751	0.313	0.051
FV	GSS	1.549	0.270	1.021	0.930
FV	SOD1	1.251	0.476	0.214	0.010
FV+10LPS	CAT	1.086	0.850	<b>0.289</b>	<b>0.017</b>
FV+10LPS	GSS	0.751	0.498	0.495	0.161
FV+10LPS	SOD1	1.292	0.462	<b>0.222</b>	<b>0.009</b>
E81	CAT	1.382	0.492	<b>0.367</b>	<b>0.044</b>
E81	GSS	0.908	0.787	0.599	0.053
E81	SOD1	1.171	0.585	<b>0.201</b>	<b>0.014</b>
Fuc1+10LPS	CAT	0.739	0.448	<b>0.196</b>	<b>0.010</b>
Fuc1+10LPS	GSS	1.036	0.954	0.683	0.506
Fuc1+10LPS	SOD1	1.414	0.487	<b>0.242</b>	<b>0.042</b>
FucBB04	CAT	0.891	0.790	0.237	0.011
FucBB04	GSS	1.347	0.437	0.888	0.615
FucBB04	SOD1	1.179	0.646	<b>0.202</b>	<b>0.008</b>
FucBB04 + 10LPS	CAT	1.051	0.902	0.279	0.004
FucBB04 + 10LPS	GSS	1.247	0.582	0.822	0.477
FucBB04 + 10LPS	SOD1	1.666	0.243	<b>0.286</b>	<b>0.023</b>

used as endogenous controls. LPS at concentrations of 1 and 10  $\mu$ g/mL and CoCl<sub>2</sub> at 100 and 150  $\mu$ M were tested for one and three days. The RQ values and significances are given in Table 6. LPS did not affect the expression of the target genes at any concentration or time point. CoCl<sub>2</sub> in both tested concentrations (100 and 150  $\mu$ M) increased the expression of ANGPT2 after three days of stimulation. Also, 150  $\mu$ M CoCl<sub>2</sub> resulted in a two-fold higher increase in ANGPT2 gene expression than 100  $\mu$ M CoCl<sub>2</sub>. Three days stimulation using 150  $\mu$ M CoCl<sub>2</sub> was chosen for further analysis. ACTB expression was not suitable as an endogenous control because it showed no stable expression under CoCl<sub>2</sub> treatment.

Furthermore, three preselected fucoidans were tested on the three selected genes (Table 7). FV and LH fucoidans already exhibited VEGF inhibiting or antiangiogenic effects before (Dithmer et al., 2014; Dörschmann et al., 2019a, 2019b). We used GAPDH and GUSB as endogenous controls. RQ values and significances were calculated separately against untreated control and CoCl<sub>2</sub> control. As expected, 150  $\mu$ M CoCl<sub>2</sub> increased gene expression of ANGPT2 due to its hypoxia inducing effect. CoCl<sub>2</sub> and FucBB04 together decreased TGFBI expression to 0.233 ( $p = 0.005$ ). Compared to CoCl<sub>2</sub> alone FV and CoCl<sub>2</sub> together decreased ANGPT2 expression to a RQ of 0.443 ( $p = 0.035$ ). Also, the two *Laminaria hyperborea* fucoidans Fuc1 and FucBB04 each with CoCl<sub>2</sub> together diminished the increase of ANGPT2 due to CoCl<sub>2</sub> stimulation to 0.167 ( $p = 0.022$ ) and 0.272 ( $p = 0.010$ ), respectively. These effects corresponds to the anti-VEGF effects described in former studies (Dörschmann et al., 2019a, 2019b). We continued with using FV fucoidan for the gene arrays.

**Table 6**

Preliminary gene expression tests with CoCl<sub>2</sub> and lipopolysaccharide (LPS). This table shows results of real-time polymerase chain reactions (qPCR) with gene expression assays from Thermo Fisher Scientific. Primary porcine retinal pigment epithelium was stimulated after reaching confluence (agents indicated and stimulation time indicated). Data was evaluated with Thermo Fisher Connect according to the  $\Delta\Delta CT$  method. The bio group name, the target name, the time of stimulation, the relative fold gene expression level RQ and the p-value for testing significances (marked in bold, t-test) are shown. LPS1 = 1  $\mu$ g/mL lipopolysaccharide (LPS), LPS10 = 10  $\mu$ g/mL LPS, 100CoCl<sub>2</sub> = 100  $\mu$ M CoCl<sub>2</sub>, 150CoCl<sub>2</sub> = 150  $\mu$ M CoCl<sub>2</sub>, ANGPT2 = gene for Angiopoietin 2, TGFB1 = gene for transforming growth factor beta 1, VEGFA = gene for vascular endothelial growth factor A, n = 3 number of independent experiments.

Bio Group Name	Target Name	1 day		3 days	
		RQ	P-Value	RQ	P-Value
control	ANGPT2	1.000	1.000	1.000	1.000
control	TGFB1	1.000	1.000	1.000	1.000
control	VEGFA	1.000	1.000	1.000	1.000
100CoCl <sub>2</sub>	ANGPT2	2.231	0.180	<b>2.572</b>	<b>0.005</b>
100CoCl <sub>2</sub>	TGFB1	0.971	0.921	0.623	0.181
100CoCl <sub>2</sub>	VEGFA	1.397	0.135	0.987	0.946
150CoCl <sub>2</sub>	ANGPT2	2.479	0.116	<b>4.540</b>	<b>0.004</b>
150CoCl <sub>2</sub>	TGFB1	0.699	0.368	0.769	0.480
150CoCl <sub>2</sub>	VEGFA	1.050	0.861	1.578	0.236
1LPS	ANGPT2	0.782	0.549	0.907	0.578
1LPS	TGFB1	1.203	0.406	0.913	0.748
1LPS	VEGFA	0.954	0.856	0.800	0.171
10LPS	ANGPT2	0.580	0.417	0.889	0.342
10LPS	TGFB1	0.837	0.668	1.201	0.646
10LPS	VEGFA	1.362	0.262	0.992	0.961

### 3.3. Establishment of the gene arrays

Three different gene panels were designed. For this, three 96 well plates were prepared with 96 different gene expression assays for porcine genes, chosen from the online catalogue of Thermo Fisher Scientific, including three endogenous controls each. The gene panels were based on preexisting human gene panels for AMD, inflammation, oxidative stress and angiogenesis. Certain genes were changed and non-existing porcine equivalents to human genes were replaced based on literature and our experience (Fritzsche et al., 2016; Voigt et al., 2019; Butler et al., 2021; Dörschmann et al., 2020b; Dietrich et al., 2020). We designed a gene panel for inflammation and complement system, a panel for toxicity and oxidative stress, as well as a panel for angiogenesis and typical RPE genes. The panel design, gene names, Assay ID's and endogenous controls are listed in Tables S1–S3. All results are depicted in Tables S4–S6. Due to economic limitations, we tested only one fucoidan on these panels, choosing the commercially available FV fucoidan.

#### 3.3.1. Testing fucoidan on inflammation gene array

After pretests with inflammation relevant gene expression assays, samples treated for three days with 10  $\mu$ g/mL LPS, 50  $\mu$ g/mL FV fucoidan, and LPS plus FV, respectively, were chosen for the array. The overall setup of the panel and all the data are depicted in the supplemental data (Tables S1 and S4). Volcano plot of the gene expression changes compared to the untreated control is shown in Fig. 4 and compared to LPS stimulation in Fig. 5. Endogenous controls were GAPDH, GUSB and HPRT1. Only gene expression changes with a p-value  $\leq 0.05$  and RQ below 0.5 and above 2.0 were considered as relevant. LPS significantly lowered genes ADRB2 and C5 and increased genes TLR4, CFB, C2, IL1R2, CCL19, PTGS2, PTGS1, IL6, PLA2G2D, ICAM-1, CASP1, VCAM1, IL8, CCL2, C3 and IL1B. Fucoidan FV by itself did not relevantly influence gene expression of any gene tested. When FV and LPS were applied together, several genes were lowered compared to LPS alone (BDKRB1, CD55, HPGD, IL1R2, IL6, PTGS2, VCAM1), while KLK1, MTOR, PDE4B were increased.

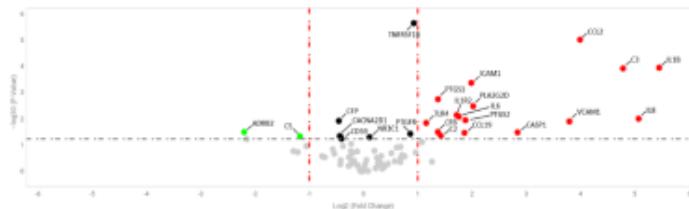
**Table 7**

Pre-screening of fucoidans on angiogenesis relevant genes. This table shows results of real-time polymerase chain reactions (qPCR) with gene expression assays from Thermo Fisher Scientific. Primary porcine retinal pigment epithelium was stimulated after reaching confluence (agents indicated, stimulation time = three days). Data was evaluated with Thermo Fisher Connect according to the  $\Delta\Delta CT$  method. The bio group name, the target name, the relative fold gene expression level RQ and the p-value for testing significance (marked in bold, t-test) are shown. RQ and significances were calculated relatively to control and  $150 \mu M CoCl_2$  stress control.  $150 \mu M CoCl_2$  =  $150 \mu M CoCl_2$ , FucI =  $1548.6 \text{ kDa}$  fucoidan from *Laminaria hyperborea*, FucBB04 =  $>2000 \text{ kDa}$  fucoidan from *Laminaria hyperborea*, FV = fucoidan from *Fucus vesiculosus* (Sigma-Aldrich), ANGPT2 = gene for Angiopoietin 2, TGFBI = gene for transforming growth factor beta 1, VEGFA = gene for vascular endothelial growth factor A; n = 3 number of independent experiments.

Bio Group Name	Target Name	vs. co		vs. CoCl <sub>2</sub>	
		RQ	P-Value	RQ	P-Value
control	ANGPT2	1.000	1.000	<b>0.124</b>	<b>0.001</b>
control	TGFBI	1.000	1.000	0.594	0.422
control	VEGFA	1.000	1.000	1.173	0.747
150CoCl <sub>2</sub>	ANGPT2	<b>8.079</b>	<b>0.001</b>	1.000	1.000
150CoCl <sub>2</sub>	TGFBI	1.683	0.422	1.000	1.000
150CoCl <sub>2</sub>	VEGFA	0.852	0.747	1.000	1.000
FV	ANGPT2	0.972	0.949	<b>0.120</b>	<b>0.001</b>
FV	TGFBI	1.484	0.082	0.882	0.832
FV	VEGFA	0.574	0.110	0.673	0.402
150CoCl <sub>2</sub> + FV	ANGPT2	<b>3.581</b>	<b>0.013</b>	<b>0.443</b>	<b>0.035</b>
150CoCl <sub>2</sub> + FV	TGFBI	0.470	0.324	0.279	0.178
150CoCl <sub>2</sub> + FV	VEGFA	0.976	0.952	1.145	0.784
FucL	ANGPT2	0.706	0.512	<b>0.087</b>	<b>0.003</b>
FucL	TGFBI	1.686	0.027	1.002	0.998
FucL	VEGFA	0.579	0.180	0.679	0.440
150CoCl <sub>2</sub> +FucL	ANGPT2	<b>1.350</b>	<b>0.573</b>	<b>0.167</b>	<b>0.022</b>
150CoCl <sub>2</sub> +FucL	TGFBI	1.267	0.362	0.753	0.644
150CoCl <sub>2</sub> +FucL	VEGFA	0.668	0.359	0.784	0.636
FucBB04	ANGPT2	1.187	0.654	<b>0.147</b>	<b>0.002</b>
FucBB04	TGFBI	1.143	0.451	0.679	0.532
FucBB04	VEGFA	1.017	0.964	1.193	0.711
150CoCl <sub>2</sub> +FucBB04	ANGPT2	2.199	0.072	<b>0.272</b>	<b>0.010</b>
150CoCl <sub>2</sub> +FucBB04	TGFBI	<b>2.283</b>	<b>0.005</b>	0.168	0.060
150CoCl <sub>2</sub> +FucBB04	VEGFA	0.711	0.297	0.835	0.682

### **3.3.2. Testing fucoidan in oxidative stress gene array**

Based on our pretests with oxidative stress, samples of cells treated for one day with 10  $\mu$ g/ml LPS, 50  $\mu$ g/ml FV fucoidan, 100  $\mu$ M H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, and LPS plus FV together as well as H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> plus FV together, were assessed in this gene array. The overall setup of the panel and all data are depicted in supplement (Tables S2 and S5). Volcano plots of the gene expression changes when stimulated with LPS or H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> compared to the control are shown in Figs. 6 and 8, and compared to LPS or H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> in Figs. 7 and 9, respectively. Endogenous controls were ACTB, GUSB and PGK1. Only gene expression changes with a p-value  $\leq$  0.05 and RQ below 0.5 and above 2.0 were considered relevant. The stress control 100  $\mu$ M H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> lowered gene expression of PTGS2 and MDM2 and increased CAT, FMO1, SOD1. FV fucoidan without additional stimulus increased PINK1 and lowered CXCL10, ANXA5, CCL5, QDF15, DUOX1



dent experiments). (For interpretation of the references to colour in this figure legend, the reader is referred to the Web version of this article.)

and *CASP10*. LPS increased *SOD2*, *CXCL10* (very high RQ of 4702), *HMOX1*, *CSFV*, *NFKBIA*, *NOS2*, *PNKP*, *CCL5*, *SOD1* and lowered *HSP90AB1*. Compared to the stress control LPS, FV + LPS lowered *CXCL10*, *CCL5*, *SOD1* and *PTGS1* while no gene expression was increased. Compared to stress control  $\text{H}_2\text{O}_2$ , FV plus  $\text{H}_2\text{O}_2$  showed no relevant effects.

### **3.3.3. Testing fucoidan in angiogenesis gene array**

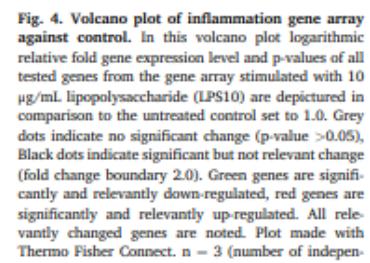
Based on our pretests with angiogenesis relevant gene expression, the chosen set-up was 150  $\mu$ M CoCl<sub>2</sub>, 50  $\mu$ g/ml FV fucoilan, and CoCl<sub>2</sub> plus FV, treated for three days. The overall setup of the panel and all the data are depicted in the supplement (Tables S3 and S6). Endogenous controls were GAPDH, GUSB and HPRT1. Only gene expression changes with a p-value  $\leq 0.05$  and RQ below 0.5 and above 2.0 are considered as relevant. A volcano plot of the gene expression changes compared to the untreated control is shown in Fig. 10. CoCl<sub>2</sub> significantly increased gene expression of *FLT1*, *KIT*, *ANGPTL2*, *ANGPT2*, *TYR* and *PST*. Compared to control, Fucoilan FV alone reduced expression of *FADS1* to 0.370 ( $p = 0.050$ ). If FV and CoCl<sub>2</sub> were applied to cells together, gene expressions of *ANGPT2*, *FLT1*, and *PST* were lowered compared to CoCl<sub>2</sub> alone (Fig. 11).

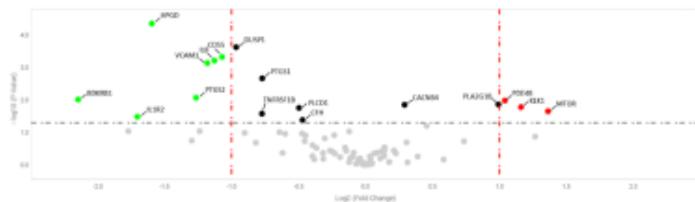
#### **4. Discussion**

Three porcine specific gene arrays for oxidative stress, inflammation, and angiogenesis were established. These panels can be used by the scientific community as fast screening methods for promising pharmaceutical and natural substances for diseases which include these pathogenic pathways, such as AMD. Also, the beneficial effects of fucoidans were confirmed on the gene expression level by showing its anti-inflammatory, antioxidative and antiangiogenic properties.

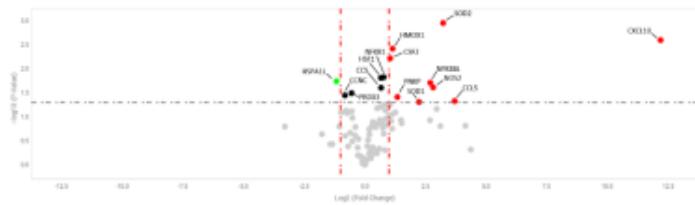
AMD is a multifactorial disease with different factors, including inflammation and oxidative stress, contributing to its development (Jadeja and Martin, 2021). In the wet form, angiogenesis, induced by excessively secreted VEGF, is the major pathogenic mechanism (Breslauer, 2009). Only the wet form is currently treatable (but not curable) by regularly injecting anti-VEGF therapeutics, which are applied after vision loss has already occurred (Schmidt-Erfurth et al., 2014). New therapeutics which target disease development and progression are highly warranted. In addition, appropriate testing models for screening of interesting agents that could prevent or treat AMD are needed. For ethical reasons, models that adhere to the 3R principle (reduce, refine/replace) to reduce animal suffering in research should be used whenever possible. With this study, porcine specific AMD relevant gene expression arrays in the field of inflammation, oxidative stress and angiogenesis, were implemented with the goal to develop screening arrays for new therapeutic substances like, but not limited to, fucoidans.

Fucoidan as sustainable promising marine sulfated polysaccharide, is derived from the cell wall of brown algae and can exhibit manifold bioactivities like antioxidative, anti-inflammatory and anticoagulant effects (Wang et al., 2019). Fucoidans was previously introduced as a potential compound for the treatment of AMD (Dörschmann and

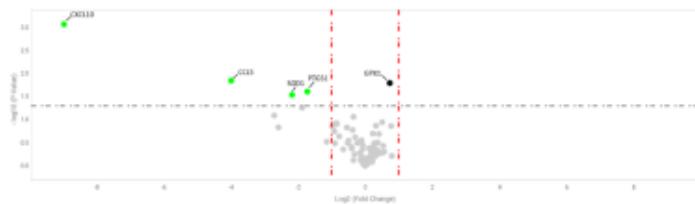




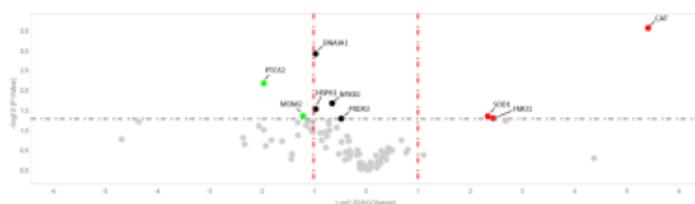
cantly and relevantly up-regulated. All relevantly changed genes are noted. Plot made with Thermo Fisher Connect.  $n = 3$  (number of independent experiments). (For interpretation of the references to colour in this figure legend, the reader is referred to the Web version of this article.)



(number of independent experiments). (For interpretation of the references to colour in this figure legend, the reader is referred to the Web version of this article.)



with Thermo Fisher Connect.  $n = 3$  (number of independent experiments). (For interpretation of the references to colour in this figure legend, the reader is referred to the Web version of this article.)



periments). (For interpretation of the references to colour in this figure legend, the reader is referred to the Web version of this article.)

Klettner, 2020; Klettner, 2016; Dithmer et al., 2014)). For example, commercially available and pure *Fucus vesiculosus* fucoidan has already showed promising results concerning oxidative stress protection, angiogenesis inhibition and anti-inflammatory activities in a protein-based assay (Dithmer et al., 2017; Dörschmann et al., 2019a) and manuscript submitted). Here, this fucoidan was tested for

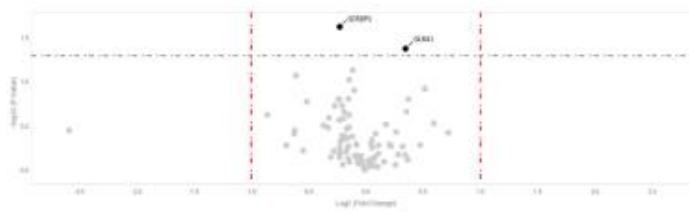
antioxidative, anti-inflammatory and anti-angiogenic activities on gene expression level and used as a reference concerning establishment of new assays, paving the way for testing other potential therapeutics, such as fucoidans from *Saccharina latissima* and *Laminaria hyperborea*, which also showed promising effects in former studies (Dörschmann et al., 2019a, 2019b, 2020a, 2023). They were included in pretesting and

**Fig. 5. Volcano plot of inflammation gene array against stress condition.** In this volcano plot logarithmic relative fold gene expression level and p-values of all tested genes from the gene array stimulated with 10 µg/ml. lipopolysaccharide (LPS10) and 50 µg/ml. *Fucus vesiculosus* fucoidan from Sigma-Aldrich (FV) are depicted in comparison to LPS alone set to 1.0. They are grey if they are not significantly changed (p-value boundary at 0.05). Grey dots indicate no significant change (p-value >0.05), Black dots indicate significant but not relevant change (fold change boundary 2.0). Green genes are significantly and relevantly down-regulated, red genes are significantly and relevantly up-regulated. All relevantly changed genes are noted. Plot made with Thermo Fisher Connect.  $n = 3$  (number of independent experiments). (For interpretation of the references to colour in this figure legend, the reader is referred to the Web version of this article.)

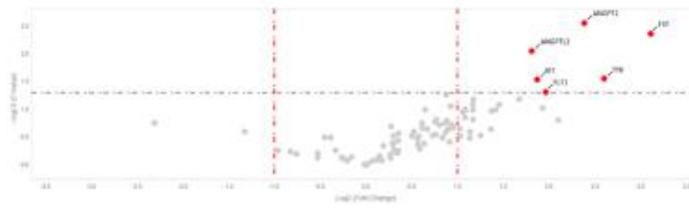
**Fig. 6. Volcano plot of oxidative stress gene array against control, stimulated with LPS.** In this volcano plot logarithmic relative fold gene expression level and p-values of all tested genes from the gene array stimulated with 10 µg/ml. LPS for one day are depicted in comparison to the untreated control set to 1.0. Grey dots indicate no significant change (p-value >0.05), Black dots indicate significant but not relevant change (fold change boundary 2.0). Green genes are significantly and relevantly down-regulated, red genes are significantly and relevantly up-regulated. All relevantly changed genes are noted. Plot made with Thermo Fisher Connect.  $n = 3$  (number of independent experiments). (For interpretation of the references to colour in this figure legend, the reader is referred to the Web version of this article.)

**Fig. 7. Volcano plot of oxidative stress gene array against lipopolysaccharide (LPS).** In this volcano plot logarithmic relative fold gene expression level and p-values of all tested genes from the gene array stimulated with 10 µg/ml. LPS and 50 µg/ml. *Fucus vesiculosus* fucoidan from Sigma-Aldrich (FV) are depicted in comparison to LPS alone set to 1.0. Grey dots indicate no significant change (p-value >0.05), Black dots indicate significant but not relevant change (fold change boundary 2.0). Green genes are significantly and relevantly down-regulated, red genes are significantly and relevantly up-regulated. All relevantly changed genes are noted. Plot made with Thermo Fisher Connect.  $n = 3$  (number of independent experiments). (For interpretation of the references to colour in this figure legend, the reader is referred to the Web version of this article.)

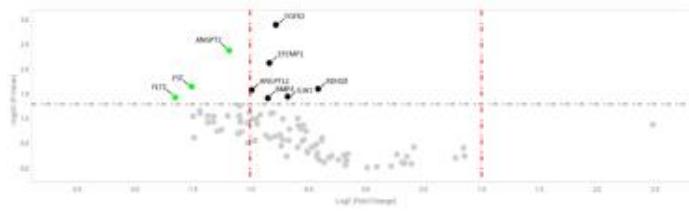
**Fig. 8. Volcano plot of oxidative stress gene array against control, stimulated with H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.** In this volcano plot logarithmic relative fold gene expression level and p-values of all tested genes from the gene array stimulated with 100 µM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> are depicted in comparison to untreated control set to 1.0. Grey dots indicate no significant change (p-value >0.05), Black dots indicate significant but not relevant change (fold change boundary 2.0). Green genes are significantly and relevantly down-regulated, red genes are significantly and relevantly up-regulated. All relevantly changed genes are noted. Plot made with Thermo Fisher Connect.  $n = 3$  (number of independent experiments). (For interpretation of the references to colour in this figure legend, the reader is referred to the Web version of this article.)



Connect. n = 3 (number of independent experiments). (For interpretation of the references to colour in this figure legend, the reader is referred to the Web version of this article.)



(For interpretation of the references to colour in this figure legend, the reader is referred to the Web version of this article.)



Fisher Connect. n = 3 (number of independent experiments). (For interpretation of the references to colour in this figure legend, the reader is referred to the Web version of this article.)

should be further evaluated in the established gene expression panels in further studies (Dörschmann et al., 2019b, 2020a). In previous studies, it was shown that fucoidans displayed the most efficient VEGF inhibition at a concentration 50 µg/ml fucoidan, therefore that was the concentration chosen for these study (Dörschmann et al., 2019b). Toxicity or antiproliferative effects of fucoidans on RPE cells were already excluded in the previous studies (Bittkau et al., 2019; Dörschmann et al. 2019b, 2020a).

The focus was on primary porcine RPE because it is an excellent model for human adult RPE (Klettner et al., 2020). Porcine eyes are much closer to human eyes concerning anatomy, genetic expression, circadian rhythm, and cellular morphology than mouse eyes (Schnichels et al., 2021; Middelton, 2010). Furthermore, the use of porcine eyes follows the 3R principle to reduce, refine and replace animal experimentation (Dirx et al., 2020), as they are byproducts of food production and available as waste materials. The widely used human ARPE-19 cell line was not used here, as ARPE-19 cells differ from RPE cells in many aspects, including gene expression (Markert et al., 2022; Schnichels et al., 2021). Three independently porcine gene arrays were designed based on human gene panels purchasable at Thermo Fisher Scientific. For each panel, three typical hallmarks were chosen as positive controls

and different concentrations of different noxious agents and stimulation times were tested to optimize parameters for the gene arrays.

In the inflammation and complement system-based array, IL6 and IL8 were established successfully as positive controls with 10 µg/ml LPS and 3 day as best parameters, while also NKAP shows a lesser, but still threefold increase. In previous studies, we have demonstrated that LPS induced the secretion IL6 and IL8 proteins in primary porcine RPE (Dietrich et al., 2020; Klettner et al., 2020) which act as pro-inflammatory cytokines, with IL-6 additionally displaying pro-angiogenic properties (Li et al., 2003). IL-6 and IL-8 are markers for chronic low-grade inflammation processes in geographic AMD (Krogh Nielsen et al., 2019). NKAP expresses NFκB Activating Protein, a transcription factor, which is considered to play a central role in the inflammatory activation (Duan et al., 2017) and autophagy (Yi et al., 2019). Inflammation, autophagy and polymorphisms of NKAP gene are considered as risk factors for AMD development (Xin et al., 2022). In this study, however, the increase in NKAP expression is relatively moderate in comparison to IL6 and IL8, which renders this gene as a less important marker for proinflammatory RPE stimulation. Regarding fucoidan testing, it was shown that not FV, but SL-F2 and Fucl, slightly increased the proinflammatory gene expression, and Fucl could decrease the LPS

**Fig. 9. Volcano plot of oxidative stress gene array against H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.** In this volcano plot logarithmic relative fold gene expression level and p-values of all tested genes from the gene array stimulated with 100 µM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and 50 µg/mL Fucus vesiculosus fucoidan from Sigma-Aldrich (FV) are depicted in comparison to just 100 µM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Grey dots indicate no significant change (p-value > 0.05), Black dots indicate significant but not relevant change (fold change boundary 2.0). Green genes are significantly and relevantly down-regulated, red genes are significantly and relevantly up-regulated. All relevantly changed genes are noted. Plot made with Thermo Fisher Connect. n = 3 (number of independent experiments).

**Fig. 10. Volcano plot of angiogenesis gene array against control.** In this volcano plot logarithmic relative fold gene expression level and p-values of all tested genes from the gene array stimulated with 150 µM CoCl<sub>2</sub> (150CoCl) are depicted in comparison to the untreated control set to 1.0. Grey dots indicate no significant change (p-value > 0.05), Black dots indicate significant but not relevant change (fold change boundary 2.0). Green genes are significantly and relevantly down-regulated, red genes are significantly and relevantly up-regulated. All relevantly changed genes are noted. Plot made with Thermo Fisher Connect. n = 3 (number of independent experiments).

**Fig. 11. Volcano plot of angiogenesis gene array against CoCl<sub>2</sub>.** In this volcano plot logarithmic relative fold gene expression level and p-values of all tested genes from the gene array stimulated with 150 µM CoCl<sub>2</sub> (150CoCl) and 50 µg/ml Fucus vesiculosus fucoidan from Sigma-Aldrich (FV) are depicted in comparison to CoCl<sub>2</sub> alone set to 1.0. Grey dots indicate no significant change (p-value > 0.05), Black dots indicate significant but not relevant change (fold change boundary 2.0). Green genes are significantly and relevantly down-regulated, red genes are significantly and relevantly up-regulated. All relevantly changed genes are noted. Plot made with Thermo Fisher Connect. n = 3 (number of independent experiments).

induced inflammation by reducing *IL6*. In the gene arrays, LPS in a concentration of 10 µg/ml was used for three days and could successfully increase inflammation relevant genes like *TLR4* (gene for toll-like receptor 4), *CFB* (gene for complement factor B), *IL6*, *IL8* and *IL1B* (gene for interleukin 1 beta). Also, *IL1R2*, *PTGS2* and *VCAM1* were increased. *IL1R2* codes for interleukin 1 receptor type 2 which acts as decoy receptor, inhibiting ligands from the interleukin 1 family, modulating the immune response. *PTGS2* expresses prostaglandin-endoperoxide synthase 2 or cyclooxygenase and is involved in prostaglandin biosynthesis and inflammation. *VCAM1* expresses vascular cell adhesion molecule 1, a cell surface sialoglycoprotein expressed by cytokine-activated endothelium and contributing to leukocyte-endothelial cell adhesion. The tested FV fucoidan could reduce *IL1R2*, *PTGS2*, *VCAM1* and *IL6* gene expression in comparison to LPS alone, which leads to the suggestion that this fucoidan reduced the inflammatory stress response and interferes specifically with TLR4 mediated pathways. This is in accordance with previous studies, which demonstrated a down regulation of the TLR4 pathway by FV fucoidan from Sigma-Aldrich in *in-vivo* experiments (Xue et al., 2019). Interestingly, on protein level fucoidan displayed a stronger effect on TLR3 induced proteins (induced by poly I:C) compared to the TLR4 pathway (manuscript submitted).

Regarding the oxidative stress panel, *CAT*, *GSS* and *SOD1* were tested as typical hallmarks of oxidative stress response. They encode a catalase, a glutathione synthetase, and superoxide dismutase 1, which are all involved in the glutathione and hydrogen peroxide related antioxidative first-line defense pathways (Ighodaro and Akinloye, 2010). These enzymes are down-stream products of the oxidative stress defense master regulator NRP2, and this regulator is down-regulated in pathologically degenerated RPE (Huang et al., 2022). Many oxidative agents with different stimulation times and concentrations were tested, as nearly all showed no relevant effects in the primary porcine RPE. This could be explained by the crucial role of RPE cells in antioxidative defense which renders them as already well equipped against oxidative stress (Klettner, 2012). TBHP increased *GSS* expression and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> increased *SOD1* expression but only to a small degree. Direct oxidative stress, as expected, is immediately eliminated by the RPE. LPS, however induces oxidative stress on an inflammation-based way and successfully increased *CAT* and *SOD1* expression. Indeed, *CAT* and *SOD1* exhibit anti-inflammatory activities (Fuchs and Milbradt, 1994). LPS seems to act more on the hydrogen peroxide pathway than the glutathione or ferroptosis pathway, as *GSS* was not increased. The tested fucoidans all showed similar effects by not influencing oxidative stress genes on their own but reducing the oxidative stress induction by LPS, confirming the antioxidative properties of FV and LH fucoidans (Dithmer et al., 2017; Dörschmann et al. 2019b, 2021). Our data support the notion that fucoidans exerts its oxidative stress protection rather on a cellular and gene based level than by scavenging of reactive oxygen species (Dithmer et al., 2017; Dörschmann et al., 2019a; Lahreen et al., 2019). Regarding the gene array, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> displayed moderate effects with some increase of *SOD1* and *CAT*. FV did not show protective effects here, again supporting that fucoidans displays no apparent radical scavenging (Lahreen et al., 2019). LPS, on the other hand, increased genes like *SOD1* and *SOD2*, *NOS2* (gene for nitric oxide synthase 2), *NFKBIA* (gene for nuclear factor 'kappa-light-chain-enhancer' of activated B-cells inhibitor alpha), *CXCL10* (gene for C-X-C motif chemokine ligand 10) and *CCL5* (gene for C-C motif chemokine ligand 5). All of them play vital roles in immune regulatory or oxidative stress response. FV fucoidan was able to decrease the LPS induced gene expression of *CXCL10*, *CCL5* and *SOD1* which proved again its antioxidative and anti-inflammatory activities. Chemokine inhibitor effects of fucoidans from LH were already demonstrated for *CXCL10* and *CCL5* in a Lepirudin-based human whole blood model (Kopplin et al., 2010). This chemokine reducing effects were also demonstrated for the TLR3 pathway with an extract from *Ascyphllum nodosum* in human primary bronchial epithelial cells (Dutot et al., 2019). Ryu and Chung (2016) also showed that fucoidan can reduce oxidative

stress by regulating gene expression of *SOD1* through NRP2 and extracellular-signal regulated kinases (ERK) pathway in HaCaT cells (Ryu and Chung, 2016). Taken together, fucoidans seem to interfere with chemotaxis of leukocytes and preventing inflammation and oxidative stress by interfering with TLR3 and TLR4 pathways. Considering the potential contribution of TLR activation in AMD development (Klettner and Roider, 2021), this underlines its potential beneficial effects against AMD development and progression.

Concerning angiogenesis and RPE function panel *ANGPT2*, *VEGFA* and *TGF $\beta$*  were tested which code for angiopoietin 2, vascular endothelial growth factor A and transforming growth factor beta as typical angiogenesis factors of differentiated RPE which influence each other in their expression (Nagineni et al., 2003; Loukovaara et al., 2013). Importantly, increased angiogenesis is a hallmark for wet AMD (Miller, 2016). Increased *ANGPT2* expression was achieved by CoCl<sub>2</sub>, which was used as positive control for the gene array. Angiopoietin plays vital roles in hypoxia-related increase of vessel growth (Lee et al., 2010). Remarkably, all tested fucoidans could reduce the increased expression of *ANGPT2* but not of *VEGFA* after stimulating with CoCl<sub>2</sub>. In previous studies antiangiogenic properties of fucoidans related to VEGF inhibition were demonstrated (Dörschmann et al. 2019a, 2023; Dithmer et al., 2014), but it seems that on gene level angiopoietin 2 is more relevantly influenced. The effect on VEGF and its receptors may be of steric hindrance resulting in blocking of VEGF signaling (Chen et al., 2016; Narasaki et al., 2008; Dörschmann et al. 2019a, 2019b). Indeed, the reduction of VEGF protein expression by fucoidan in RPE cells can also be explained by these mechanisms, as we have previously shown that VEGF expression in RPE cells is positively regulated by VEGFR-2 (Dithmer et al., 2014; Klettner et al., 2013). In the gene array, CoCl<sub>2</sub> could also increase *PLT1*, *KIT*, *ANGPTL2*, *TYR* and *FST*. These genes code for Fms Related Receptor Tyrosine Kinase 1 (VEGF receptor 1), KIT proto-oncogene receptor tyrosine kinase, angiopoietin Like 2, tyrosinase and follistatin. FV fucoidan reduced the gene for fatty acid desaturase 1, indicating an influence on the lipid metabolism of RPE. It also was capable to reduce the expression of *ANGPT2*, *PLT1* and *FST* increased by CoCl<sub>2</sub>. Our data clearly show that the effect of fucoidan on angiogenesis is not limited to VEGF. Follistatin is responsible for neutralization of TGF- $\beta$  related molecules and related to angiogenesis in ocular cells, acting as binding partner for angiogenic proteins and was found elevated in AMD eyes (Skeie et al., 2011). To our knowledge this study shows for the first time the inhibition of follistatin trough fucoidan in ocular cells.

Taken together, in this study we have established porcine specific gene expression panels for inflammation, oxidative stress, and angiogenesis, allowing a rapid screening of these three pathologically important pathways in primary RPE cells, which can also be used in and amended for other porcine cell models, expanding the possibilities of porcine models in ophthalmological research and contributing to the 3R principle. Furthermore, we have proven that fucoidans can positively influence the gene expression in three major pathological pathways, further supporting their potential in AMD treatment and prevention.

#### Data availability

I have attached all relevant data in the attach file step.

#### Acknowledgements

We would like to thank Kiel Marine Science (grant number: KI264270) and Helmut-Ecker-Stiftung (grant number: 01/20) for funding this exciting project.

#### Appendix A. Supplementary data

Supplementary data to this article can be found online at <https://doi.org/10.1016/j.exer.2023.109469>.

## References

- Bhutto, Imran, Lutty, Gerard, 2012. Understanding age-related macular degeneration (AMD). Relationships between the photoreceptor/retinal pigment epithelium/Bruch's membrane/choriocapillaris complex. *Mol. Aspect. Med.* 33 (4), 295–317. <https://doi.org/10.1016/j.mam.2012.04.005>.
- Bitkau, Kaya Saska, Dörschmann, Philipp, Blümel, Martina, Tasdemir, Deniz, Roider, Johann, Kleitner, Alexa, Alkan, Susanne, 2019. Comparison of the effects of fucoidans on the cell viability of tumor and non-tumor cell lines. *Mar. Drugs* 17 (8). <https://doi.org/10.3390/mud17080441>.
- Blaauwgeers, Harriët G.T., Holtkamp, Gertjan M., Rutten, Hugo, Wimmen, Antonella N., Koolwijk, Pieter, Partanen, Taina A., et al., 1999. Polarized vascular endothelial growth factor secretion by human retinal pigment epithelium and localization of vascular endothelial growth factor receptors on the inner choriocapillaris. *Am. J. Pathol.* 155 (2), 421–428. [https://doi.org/10.1016/S0002-9440\(10\)65138-3](https://doi.org/10.1016/S0002-9440(10)65138-3).
- Bourne, Rupert R.A., Jonas, Jost B., Bron, Alain M., Cicinelli, Maria Victoria, Das, Aditi, Flaxman, Seth R., et al., 2018. Prevalence and causes of vision loss in high-income countries and in Eastern and Central Europe in 2015. Magnitude, temporal trends and projections. *Br. J. Ophthalmol.* 102 (5), 575–585. <https://doi.org/10.1136/bjophthalmol-2017-311258>.
- Bressler, Susan B., 2009. Introduction. Understanding the role of angiogenesis and antiangiogenic agents in age-related macular degeneration. *Ophthalmology* 116 (10 Suppl. 1), S1–S7. <https://doi.org/10.1016/j.jophtha.2009.06.045>.
- Butler, Joe M., Sugharattanassithi, Wasu, Yang, Vit C., Parano, Luminita, 2021. RNA-seq analysis of ageing human retinal pigment epithelium. Unexpected up-regulation of visual cycle gene transcription. *J. Cell Mol. Med.* 25 (12), 5572–5585. <https://doi.org/10.1111/jcm.16569>.
- Chen, Huanjun, Cong, Qifei, Du, Zhenyun, Liao, Wenfeng, Zhang, Lei, Yao, Yanli, Ding, Kan, 2016. Sulfated fucoidan FP0852 inhibits lung cancer cell growth in vivo by disrupting angiogenesis via targeting VEGFR2/VEGF and blocking VEGFR2/Erk/VEGF signaling. *Cancer Lett.* 382 (1), 44–52. <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2016.08.020>.
- Datta, Sayantani, Camo, Marisol, Ebrahimi, Katayose, Wang, Lei, Handa, James T., 2017. The impact of oxidative stress and inflammation on RPE degeneration in non-neovascular AMD. *Prog. Retin. Eye Res.* 60, 201–218. <https://doi.org/10.1016/j.pter.2017.03.002>.
- Díaz, Lorena, Zambrano, Elena, Flores, María E., Contreras, Mariela, Crispín, José C., Alemany, Gabriela, et al., 2020. Ethical considerations in animal research. The principle of 3Rs. *Revista de investigación clínica : órgano del Hospital de Enfermedades de la Nutrición* 73 (4), 199–209. <https://doi.org/10.24875/RIC.20000380>.
- Dietrich, Luisa, Lucius, Ralph, Roider, Johann, Kleitner, Alexa, 2020. Interaction of inflammatory activated retinal pigment epithelium with retinal microglia and neuronal cells. *Exp. Eye Res.* 199, 108167. <https://doi.org/10.1016/j.exer.2020.108167>.
- Döthmer, Michaela, Fuchs, Sabine, Shi, Yang, Schmidt, Harald, Rüchert, Elisabeth, Roider, Johann, Kleitner, Alexa, 2014. Fucoidans reduce secretion and expression of vascular endothelial growth factor in the retinal pigment epithelium and reduces angiogenesis in vitro. *PLoS One* 9 (2), e89150. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0089150>.
- Döthmer, Michaela, Anna-Maria, Kirsch, Rüchert, Elisabeth, Fuchs, Sabine, Wang, Fanlu, Schmidt, Harald, et al., 2017. Fucoidan does not exert anti-tumorigenic effects on uveal melanoma cell lines. *Mar. Drugs* 15 (7). <https://doi.org/10.3390/mud15070193>.
- Dörschmann, Philipp, Klettner, Alexa, 2020. Fucoidans as potential therapeutics for age-related macular degeneration-current evidence from in vitro research. *Int. J. Mol. Sci.* 21 (23). <https://doi.org/10.3390/ijms21239272>.
- Dörschmann, Philipp, Bitkau, Kaya Saska, Neupane, Sandesh, Roider, Johann, Alkan, Susanne, Kleitner, Alexa, 2019a. Effects of fucoidans from five different Brown algae on oxidative stress and VEGF interference in ocular cells. *Mar. Drugs* 17 (5). <https://doi.org/10.3390/mud17050258>.
- Dörschmann, Philipp, Koppalin, Georg, Roider, Johann, Kleitner, Alexa, 2019b. Effects of sulfated fucans from *Laminaria hyperborea* regarding VEGF secretion, cell viability, and oxidative stress and correlation with molecular weight. *Mar. Drugs* 17 (10). <https://doi.org/10.3390/mud17100548>.
- Dörschmann, Philipp, Mikkelsen, Maris, Dalgaard, Thi, Nguyen, Thuan, Roider, Johann, Meyer, Anne S., Kleitner, Alexa, 2020a. Effects of a newly developed enzyme-assisted extraction method on the biological activities of fucoidans in ocular cells. *Mar. Drugs* 18 (6). <https://doi.org/10.3390/mud18060292>.
- Dörschmann, Philipp, Schmitz, Christina, Bitkau, Kaya Saska, Neupane, Sandesh, Synowitz, Michael, Roider, Johann, et al., 2020b. Evaluation of a Brown seaweed extract from *dictyosiphon foeniculaceus* as a potential therapeutic agent for the treatment of glioblastoma and uveal melanoma. *Mar. Drugs* 18 (12). <https://doi.org/10.3390/mud18120625>.
- Dörschmann, Philipp, Apitz, Sarah, Hellige, Inga, Neupane, Sandesh, Alkan, Susanne, Koppalin, Georg, et al., 2021. Evaluation of the effects of fucoidans from *Fucus vesiculosus* and *Laminaria hyperborea* against oxidative stress and iron-dependent cell death. *Mar. Drugs* 19 (10). <https://doi.org/10.3390/mud19100557>.
- Dörschmann, Philipp, Koppalin, Georg, Roider, Johann, Kleitner, Alexa, 2023. Interaction of high-molecular weight fucoidan from *Laminaria hyperborea* with natural functions of the retinal pigment epithelium. *Int. J. Mol. Sci.* 24 (3). <https://doi.org/10.3390/ijms24032232>.
- Duan, Xiaoxia, Guo, Shuang, Li, Jinlong, Wu, Liuzhong, Zhang, Yang, Li, Wei, et al., 2017. Acute arsenic exposure induces inflammatory responses and CD4+ T cell subpopulations differentiation in spleen and thymus with the involvement of MAPK, NF- $\kappa$ B, and Nrf2. *Mol. Immunol.* 81, 160–172. <https://doi.org/10.1016/j.molimm.2016.12.005>.
- Dutoit, M., Grassin-Delphy, S., Salvador, H., Breillo, M., Rat, P., Fagon, R., et al., 2019. A marine-sourced fucoidan solution inhibits Toll-like-receptor-3-induced cytokine release by human bronchial epithelial cells. *Int. J. Biol. Macromol.* 130, 429–436. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.02.115>.
- Faby, Hendrik, Hillenkamp, Jost, Roider, Johann, Kleitner, Alexa, 2014. Hyperthermia-induced upregulation of vascular endothelial growth factor in retinal pigment epithelial cells is regulated by mitogen-activated protein kinases. *Graefe's archive für klinische und experimentelle Ophthalmologie* 252 (11), 1737–1745. <https://doi.org/10.1007/s00417-014-2750-z>.
- Fritzsche, Lars G., Igls, Wilmar, Bailey, Jessica N., Cooke, Grassmann, Felix, Sengupta, Sebanti, Bragg-Gresham, Jennifer, L., et al., 2016. A large genome-wide association study of age-related macular degeneration highlights contributions of rare and common variants. *Nat. Genet.* 48 (2), 134–143. <https://doi.org/10.1038/ng.3448>.
- Fuchs, J., Milbradt, R., 1994. Antioxidant inhibition of skin inflammation induced by reactive oxidants. Evaluation of the redox couple dihydrodipone/lipoate. *Skin Pharmacol. : the official journal of the Skin Pharmacology Society* 7 (5), 278–284. <https://doi.org/10.1159/000211306>.
- Heesterbeek, Thomas J., Lorés-Motta, Laura, Hoyng, Carel B., Lechanteur, Yara T.E., den Hollander, Anneke, L., 2020. Risk factors for progression of age-related macular degeneration. *Ophthalmic Physiol. Opt. : the journal of the British College of Ophthalmic Opticians (Optometrists)* 40 (2), 140–170. <https://doi.org/10.1111/ope.12675>.
- Huang, Shuo, Liu, Chi-Hsia, Wang, Zhegian, Fu, Zhongjie, Britton, William R., Blomfield, Alexandra K., et al., 2022. REV-ERB $\alpha$  regulates age-related and oxidative stress-induced degeneration in retinal pigment epithelium via NRF2. *Redox Biol.* 51, 102261. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2022.102261>.
- Ighodaro, O.M., Akinyole, O.A., 2018. First line defence antioxidants-superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPX). Their fundamental role in the entire antioxidant defence grid. *Alexandria Journal of Medicine* 54 (4), 287–293. <https://doi.org/10.1016/j.ajmc.2017.09.001>.
- Jadeja, Ravirajash, N., Martin, Pamela M., 2021. Oxidative stress and inflammation in retinal degeneration. *Antioxidants* 10 (5). <https://doi.org/10.3390/antiox10050790>.
- Kim, Myung Hee, Kim, Do-Hun, Yang, Su Geun, Kim, Dae Yu, 2021. Improved effect of a mitochondria-targeted antioxidant on hydrogen peroxide-induced oxidative stress in human retinal pigment epithelium cells. *BMC pharmacology & toxicology* 22 (1), 7. <https://doi.org/10.1186/s40360-020-00471-w>.
- Kleitner, Alexa, 2012. Oxidative stress induced cellular signalling in RPE cells. *Front. Biosci. (Online)* 4 (2), 392–411. <https://doi.org/10.2741/275>.
- Kleitner, Alexa, 2020. RPE cell culture. In: Kleitner, A., Döthmer, S. (Eds.), *Retinal Pigment Epithelium in Health and Disease*. Springer Nature, pp. 295–306.
- Kleitner, Alexa, Roider, Johann, 2021. Retinal pigment epithelium expressed toll-like receptors and their potential role in age-related macular degeneration. *Int. J. Mol. Sci.* 22 (16). <https://doi.org/10.3390/ijms22168387>.
- Kleitner, Alexa, Westphues, Daniel, Lassen, Jens, Bursch, Sofia, Roider, Johann, 2013. Regulation of constitutive vascular endothelial growth factor secretion in retinal pigment epithelium/choroidal organ cultures. P38, nuclear factor  $\kappa$ B, and the vascular endothelial growth factor receptor-2/phosphatidylinositol 3 kinase pathway. *Mol. Vis.* 19, 281–291.
- Kleitner, Alexa, Brinkmann, Anna, Winkelmann, Katrin, Käckenmeister, Tom, Hildebrandt, Julia, Roider, Johann, 2020. Effect of long-term inflammation on viability and function of RPE cells. In: *Experimental Eye Research* 200, 108214. <https://doi.org/10.1016/j.exer.2020.108214>.
- Koppalin, Georg, Rokstad, Anne Mari, Melida, Hugo, Bulone, Vincent, Skjær, Bræk, Guðmund, Aachmann Finn, Lillelund, 2018. Structural characterization of fucoidans from *Laminaria hyperborea*. Assessment of coagulation and inflammatory properties and their structure-function relationships. *ACS Appl. Bio Mater.* 1 (6), 1880–1892. <https://doi.org/10.1021/acsm.biomater.8b00049c>.
- Lahrsen, Eric, Liewert, Inga, Alkan, Susanne, 2018. Gradual degradation of fucoidans from *Fucus vesiculosus* and its effect on structure, antioxidant and antiproliferative activities. In: *Carbohydrate Polymers* 192, pp. 208–216. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2018.03.056>.
- Lazzara, Francesca, Trostta, Maria Consiglia, Platania, Chiara Bianca Maria, D'Amico, Michele, Petrillo, Francesco, Galdiero, Marilena, et al., 2020. Stabilization of HIF-1 $\alpha$  in human retinal endothelial cells modulates expression of miRNAs and proangiogenic growth factors. *Front. Pharmacol.* 11, 1063. <https://doi.org/10.3389/fphar.2020.01063>.
- Lee, Seung-Jun, Lee, Choong-Kun, Kang, Seok, Park, Intae, Kim, Yoo Hyung, Kim, Seo Ki, et al., 2018. Angiopoietin-2 exacerbates cardiac hypoxia and inflammation after myocardial infarction. *J. Clin. Invest.* 128 (11), 5018–5033. <https://doi.org/10.1172/JCI99659>.
- Leung, Kar, Wah, Barnstable, Colin J., Tomblin-Tink, Joyce, 2009. Bacterial endotoxin activates retinal pigment epithelial cells and induces their degeneration through IL-6 and IL-8 autocrine signalling. *Mol. Immunol.* 46 (7), 1374–1386. <https://doi.org/10.1016/j.molimm.2008.12.001>.
- Li, Alhusa, Dubey, Seema, Varney, Michelle L., Dave, Bhavani J., Singh, Rakhee K., 2003. IL-8 directly enhanced endothelial cell survival, proliferation, and matrix metalloproteinases production and regulated angiogenesis. *J. Immunol.* 170 (6), 3369–3376. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.170.6.3369>, Baltimore, Md.: 1950.
- Liu, Min, Li, Weixia, Song, Fuxing, Zhang, Ling, Sun, Xianjun, 2020. Silencing of lncRNA MIAT alleviates LPS-induced pneumonia via regulating miR-147a/NKAP/NF- $\kappa$ B axis. *Aging* 12 (2), 2506–2518. <https://doi.org/10.19632/aging.2022284>.

- Livak, K.J., Schmittgen, T.D., 2001. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2<sup>-ΔΔCt</sup> Method. Methods (San Diego, Calif.) 25 (4), 402–408. <https://doi.org/10.1006/meth.2001.1262>.
- Loukovaara, Särpa, Robicic, Alexandra, Holopainen, Juha M., Lehti, Kaija, Pessi, Timo, Liinamaa, Johanna, et al., 2013. Ang-2 upregulation correlates with increased levels of MMP-9, VEGF, EPO and TGFβ1 in diabetic eyes undergoing vitrectomy. *Acta Ophthalmol.* 91 (6), 531–539. <https://doi.org/10.1111/j.1755-3766.2012.02473.x>.
- Markert, Elke K., Klein, Holger, Violett, Coralie, Rust, Werner, Strobel, Benjamin, Kauschke, Stefan G., et al., 2022. Transcriptional comparison of adult human primary Retinal Pigment Epithelium, human pluripotent stem cell-derived Retinal Pigment Epithelium, and ARPE19 cells. *Front. Cell Dev. Biol.* 10, 910040. <https://doi.org/10.3389/fcell.2022.910040>.
- Middleton, Sheldon, 2010. Forcing ophthalmology. *Vet. Clin. Food Anim. Pract.* 26 (3), 557–572. <https://doi.org/10.1016/j.vcfap.2010.09.002>.
- Miller, Joan W., 2016. Beyond VEGF—the weisenfeld lecture. *Investig. Ophthalmol. Vis. Sci.* 57 (15), 6911–6918. <https://doi.org/10.1167/iovs.16-21201>.
- Mitchell, Paul, Liew, Gerald, Gopinath, Bannini, Wong, Tien Y., 2018. Age-related macular degeneration. *Lancet* 392 (10153), 1147–1159. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(18\)31550-2](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(18)31550-2).
- Mlakar, Simona Jurkovic, Oredkar, Josko, Prezelj, Janez, Marc, Janja, 2012. Antioxidant enzymes GSR, SOD1, SOD2, and CAT gene variants and bone mineral density values in postmenopausal women. A genetic association analysis. *Menopause* 19 (3), 368–376. <https://doi.org/10.1089/gene.06013e3182255810>.
- Nagineni, Chandrasekharan N., Samuel, William, Nagineni, Sahrudaya, Pandhavaradhi, Komanduri, Wiggett, Barbara, Derrick, Barbara, Hoeks, John J., 2003. Transforming growth factor-beta induces expression of vascular endothelial growth factor in human retinal pigment epithelial cells. Involvement of mitogen-activated protein kinases. *J. Cell. Physiol.* 197 (3), 453–462. <https://doi.org/10.1002/jcp.10378>.
- Narasaki, Masashi, Segura, Marta, Tosato, Giovanna, 2008. Sulfated polysaccharides identified as inducers of neuropilin-1 internalization and functional inhibition of VEGF165 and semaphorin3A. *Blood* 111 (8), 4126–4136. <https://doi.org/10.1182/blood-2007-09-112474>.
- Nguyen, Thuan Thi, Mikkelsen, Maria Dalgaard, Traa, Vy, Nguyen, Ha, Trang, Vo Thi Dieu, Rhein-Knudsen, Nanna, Holck, Jesper, et al., 2020. Enzyme-assisted fucoxidin extraction from Brown macroalgae Fucus distichus subsp. evanescens and Saccharina latissima. *Mar. Drugs* 18 (6). <https://doi.org/10.3390/mdd18060296>.
- Nielsen, Krogh, Marie Subhi, Yousef, Molbeck, Christopher Rue, Falk, Mads Kriger, Nielsen, Mogens Holst, Svendsen, Torben Lykke, 2019. Systemic levels of interleukin-6 correlate with progression rate of geographic atrophy secondary to age-related macular degeneration. *Investig. Ophthalmol. Vis. Sci.* 60 (1), 202–208. <https://doi.org/10.1167/iovs.18-25878>.
- Osera, Cecilia, Martindale, Jennifer L., Amadio, Marialaura, Kim, Jiyoung, Yang, Xiaoling, Mozd, Christopher A., et al., 2015. Induction of VEGFA mRNA translation by CoCl2 mediated by HuR. *RNA Biol.* 12 (10), 1121–1130. <https://doi.org/10.1080/1547886.2015.1085276>.
- Ozal, S. Altan, Turkekul, Kader, Gurlu, Yusuf, Guclu, Hunde, Erdogan, Saat, 2018. Esculetin protects human retinal pigment epithelial cells from lipopolysaccharide-induced inflammation and cell death. *Curr. Eye Res.* 43 (9), 1169–1176. <https://doi.org/10.1080/02713683.2018.1481517>.
- Pomin, Vitor H., 2016. Dual and antagonistic therapeutic effects of sulfated glycans. *Bioorg. Med. Chem.* 24 (18), 3965–3971. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2016.07.037>.
- Qin, Shuang, Yi, Ming, Jiao, Dechao, Li, Anping, Wu, Kongming, 2020. Distinct roles of VEGFA and ANGPT2 in lung adenocarcinoma and squamous cell carcinoma. *J. Cancer* 11 (1), 153–167. <https://doi.org/10.7150/jca.34693>.
- Kumar, Rana Nishant, Singh, Priya, Koch, Biplob, 2019. CoCl2 simulated hypoxia induce cell proliferation and alter the expression pattern of hypoxia associated genes involved in angiogenesis and apoptosis. *Biol. Res.* 52 (1), 12. <https://doi.org/10.1186/s40659-019-0221-z>.
- Riss, Terry L., Moraver, Richard A., Niles, Andrew L., Duellman, Sarah, Benink, Hélène A., Worrell, Tracy J., Minor, Lisa, 2004. Assay Guidance Manual: Cell Viability Assays. Ryu, Min Ju, Chung, Ha Sook, 2016. Fucoxidin reduces oxidative stress by regulating the gene expression of HO-1 and SOD-1 through the Nrf2/ERK signaling pathway in HaCaT cells. *Mol. Med. Rep.* 14 (4), 3255–3260. <https://doi.org/10.3892/mmr.2016.5623>.
- Sachdeva, Mira M., Cano, Marisol, Handa, James T., 2014. Nrf2 signaling is impaired in the aging RPE given an oxidative insult. *Exp. Eye Res.* 119, 111–114. <https://doi.org/10.1016/j.exer.2013.10.024>.
- Schmidt-Erfurth, Ursula, Chong, Victor, Loewenstein, Anat, Larsen, Michael, Souied, Eric, Schlingemann, Reinier, et al., 2014. Guidelines for the management of neovascular age-related macular degeneration by the European Society of Retina Specialists (EURETINA). *Br. J. Ophthalmol.* 98 (9), 1144–1167. <https://doi.org/10.1136/bjophthalmol-2014-305702>.
- Schnichels, Sven, Paquet-Durand, Françoise, Löschner, Marina, Tsai, Teresa, Hurst, José, Joachim, Stephanie C., Kleitman, Alexa, 2021. Retina in a dish: Cell cultures, retinal explants and animal models for common diseases of the retina. *Prog. Retin. Eye Res.* 81, 100880. <https://doi.org/10.1016/j.preteyres.2020.100880>.
- Shaw, Peter S., Stiles, Travis, Douglas, Christopher, Ho, Daisy, Fan, Wei, Du, Hongjun, Xiao, Xu, 2016. Oxidative stress, innate immunity, and age-related macular degeneration. *AIMS molecular science* 3 (2), 196–221. <https://doi.org/10.3934/mosel.2016.2.196>.
- Skele, Jessica M., Zeng, Shemira, Failey, Elizabeth A., Mullins, Robert F., 2011. Angiogenin in age-related macular degeneration. *Mol. Vis.* 17, 576–582.
- Seekumar, Parameswaran G., Ferrelling, Deborah A., Kannan, Ram, 2021. Glutathione metabolism and the novel role of mitochondrial GSH in retinal degeneration. *Antioxidants* 10 (5). <https://doi.org/10.3390/antiox10050661>.
- Strauss, Olaf, 2005. The retinal pigment epithelium in visual function. *Physiol. Rev.* 85 (3), 845–881. <https://doi.org/10.1152/physrev.00021.2004>.
- Voigt, Andrew P., Mulfaul, Kelly, Mullins, Nathaniel K., Flammie-Wiese, Miles, J., Giacalone, Joseph C., Stone, Edwin M., et al., 2019. Single-cell transcriptomics of the human retinal pigment epithelium and choroid in health and macular degeneration. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 116 (48), 24100–24107. <https://doi.org/10.1073/pnas.1914143116>.
- Wang, Yu, Xing, Maochen, Cao, Qi, Ji, Aiguo, Liang, Hao, Song, Shuliang, 2019. Biological activities of fucoxidin and the factors mediating its therapeutic effects: A review of recent studies. *Mar. Drugs* 17 (3), 183. <https://doi.org/10.3390/mdd17030183>.
- Wong, Wan Ling, Su, Xinyi, Li, Xiang, Cheung Chui Ming, G., Klein, Ronald, Cheng, Ching-Yu, Wong, Tien Yin, 2014. Global prevalence of age-related macular degeneration and disease burden projection for 2020 and 2040: A systematic review and meta-analysis. *Lancet Global Health* 2 (2), e106–e116. [https://doi.org/10.1016/S2214-109X\(13\)70145-1](https://doi.org/10.1016/S2214-109X(13)70145-1).
- Xin, Yan, Zefeng, Kang, Ling, Li, Ruijiang, Guan, 2022. Correction: Association between NF-κB polymorphism and age-related macular degeneration in a high-altitude population. *PLoS One* 17 (7), e0271857. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0271857>.
- Xue, Meilan, Liang, Hui, Ji, Xinqiang, Liu, Ying, Ge, Yinlin, Hou, Lin, Sun, Ting, 2019. Fucoxidin prevent murine autoimmune diabetes via suppression TLR4-signaling pathways, regulation DC/Treg induced immune tolerance and improving gut microbiology. *Nutr. Metabol.* 16, 87. <https://doi.org/10.1186/s12986-019-0392-1>.
- Yi, Weiwei, Wen, Yafeng, Tan, Fuguang, Liu, Xi, Lan, Haiyang, Ye, He, Liu, Bo, 2019. Impact of NF-κB pathway on the apoptosis-inflammation-autophagy crosstalk in human degenerative nucleus pulposus cells. *Aging* 11 (17), 7294–7306. <https://doi.org/10.19632/aging.102266>.
- Zhang, Xinyuan, Sivaprasad, Sobha, 2021. Drusen and pachydrusen. The definition, pathogenesis, and clinical significance. *Eye* 35 (1), 121–133. <https://doi.org/10.1038/s41433-020-01265-4>.

## 8 Danksagung

Zunächst möchte ich meiner aufrichtigen Dankbarkeit Ausdruck verleihen für die unermüdliche Unterstützung und Expertise, die mir von der Forschungsabteilung der Klinik für Ophthalmologie während der Arbeit an meiner Dissertation zuteilwurde.

Ein besonderer Dank gebührt Frau Prof. Dr. A. Klettner und Herrn Dr. P. Dörschmann, die als meine Betreuer nicht nur mit ihrem fachlichen Wissen, sondern auch mit Geduld und Verständnis meine Forschungsreise begleiteten und leiteten. Ihre Anregungen und Ratschläge waren für den Erfolg dieses Projekts von unschätzbarem Wert.

Ich bin ebenfalls Herrn Prof. Dr. J. Roider, dem Direktor der Klinik, zutiefst dankbar für das in mich gesetzte Vertrauen.

Zudem möchte ich der Helmut Ecker Stiftung und Kiel Marine Science meinen tiefen Dank aussprechen. Ohne ihre finanzielle Förderung und ihr Engagement wäre dieses Projekt nicht möglich gewesen.

Mein Dank erstreckt sich auch an die engagierten Mitarbeiter aus dem Forschungslabor, insbesondere Dr. Marina Kovaleva, Frau Jana Heumann und Frau Kathinka Winter, deren Fachwissen und tatkräftige Unterstützung wesentlich zum Gelingen meiner Arbeit beigetragen haben.

Ein herzlicher Dank geht ebenfalls an Herrn Necati Aybet, der stets zuverlässig dafür sorgte, dass die Schweineaugen für meine Forschungen verfügbar waren.

Abschließend danke ich jedem, der direkt oder indirekt zu dieser wissenschaftlichen Arbeit beigetragen hat. Ihr Engagement und ihre Unterstützung haben mich während dieser herausfordernden Zeit stets motiviert und inspiriert.

## 9 Preise, Publikationen und Kongressbeiträge

### Preise

Best Abstract Preis der AG yDOG gestiftet von Margarete Kramer, Berlin, 2022

### Publikationen

Dörschmann, P.\*; **Akkurt, H.\***; Kopplin, G.; Mikkelsen, M.D.; Meyer, A.S.; Roider, J.; Klettner, A. Establishment of specific age-related macular degeneration relevant gene expression panels using porcine retinal pigment epithelium for assessing fucoidan bioactivity. *Exp Eye Res* 2023, 231.

\*geteilte Erstautorschaft

### Kongressbeiträge

**Akkurt, H.**, Dörschmann, P., Roider, J., Klettner, A. Etablierung von spezifischen AMD-relevanten Genexpressionspanels (oxidativer Stress, Inflammation, Angiogenese) für das porcine retinale Pigmentepithel und deren Beeinflussung durch Fucoidan

Poster-Präsentation: Deutsche Ophthalmologen Gesellschaft (DOG) 2022, Berlin, 30.09.2022

Vortrag: German-Mexican Symposium: Natural Products in Ophthalmologic Research, Kiel, 02.06.2022

## 10 Eidesstaatliche Erklärung

Ich versichere hiermit an Eides Statt, dass meine Dissertation, abgesehen von Ratschlägen meines Betreuers/meiner Betreuerin und meiner sonstigen akademischen Lehrer, nach Form und Inhalt meine eigene Arbeit ist, dass ich keine anderen als die in der Arbeit aufgeführten Quellen und Hilfsmittel benutzt habe, und dass meine Arbeit bisher keiner anderen akademischen Stelle als Dissertation vorgelegen hat, weder ganz noch in Teilen.

27.03.2025

---

**Datum, Unterschrift Doktorand**