

Aus dem  
CharitéCentrum für Audiologie/Phoniatrie, Augen- und HNO-Heilkunde  
Klinik für Augenheilkunde  
Direktorin: Univ.-Prof. Dr. med. Antonia M. Jousen

## **Habilitationsschrift**

### **White-dot-Syndrome**

**Birdshot-Retinochoroiditis & punktförmige innere Choroidopathie:  
Immunologie, Bildgebung, Therapie und Patientenbetreuung**

Zur Erlangung der Lehrbefähigung  
für das Fach Augenheilkunde

vorgelegt dem Fakultätsrat der Medizinischen Fakultät  
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Dr. med. Dominika Marta Pohlmann  
geboren in Görlitz (Zgorzelec)

Eingereicht am: Mai 2021

Dekan: Univ.- Prof. Dr. med. Axel R. Pries

1. Gutachter: Univ.- Prof. Dr. med. Siegfried Priglinger, München

2. Gutachter: Univ.- Prof. Dr. med. Armin Wolf, Ulm

*Amalia*

# Inhaltsverzeichnis

## Abkürzungsverzeichnis

<b>1</b>	<b>Einleitung</b> .....	<b>1</b>
1.1	White-dot-Syndrome .....	1
1.1.1	Gemeinsame Aspekte zur Pathophysiologie der WDS .....	2
1.2	Birdshot-Retinochoroiditis .....	3
1.2.1	Pathophysiologie .....	4
1.2.2	Klinik und Diagnostik .....	5
1.2.3	Multimodale Bildgebung .....	6
1.2.3.1	Fluoreszenzangiographie.....	6
1.2.3.2	Indocyaningrünangiographie.....	7
1.2.3.3	Optische Kohärenztomographie .....	8
1.2.3.4	Fundusautofluoreszenz.....	9
1.2.3.5	Optische Kohärenztomographie Angiographie .....	10
1.2.4	Weitere Diagnostik .....	11
1.2.5	Therapie .....	11
1.2.6	Verlauf und Prognose.....	12
1.3	Punktförmige Innere Choroidopathie .....	12
1.3.1	Pathophysiologie .....	13
1.3.2	Klinik und Diagnostik .....	13
1.3.3	Multimodale Bildgebung .....	14
1.3.3.1	Fluoreszenzangiographie.....	14
1.3.3.2	Indocyaningrünangiographie.....	15
1.3.3.3	Optische Kohärenztomographie .....	15
1.3.3.4	Fundusautofluoreszenz.....	16
1.3.3.5	Optische Kohärenztomographie Angiographie .....	17
1.3.4	Therapie .....	18
1.3.5	Verlauf und Prognose.....	19
1.4	Andere White-dot-Syndrome.....	19
1.4.1	Multifokale Choroiditis .....	19
1.4.2	Serpiginöse Choroiditis.....	20
1.4.3	Akute posteriore multifokale plakoide Pigmentepitheliopathie .....	20
1.4.4	Multiple evanescent white dot syndrome.....	21
1.4.5	Akute zonale okkulte äußere Retinopathie.....	21
1.5	Zielsetzung.....	21
<b>2</b>	<b>Eigene Arbeiten</b> .....	<b>22</b>
2.1	Charakterisierung der T-Zellen im peripheren Blut bei Patienten mit Birdshot-Retinochoroiditis (Originalarbeit 1) .....	22
2.2	Multimodale Bildgebung bei Patienten mit Birdshot-Retinochoroiditis (Originalarbeit 2) .....	34
2.3	Multimodale Bildgebung bei Patienten mit punktförmiger innerer Choroidopathie (Originalarbeit 3).....	47
2.4	Therapiemöglichkeiten bei Patienten mit punktförmiger innerer Choroidopathie (Originalarbeit 4).....	56

2.5	Der Einfluss des bevorstehenden Sehverlustes auf Depressionen, Angstzustände und die mit dem Sehvermögen verbundene Lebensqualität (Originalarbeit 5) .....	64
<b>3</b>	<b>Diskussion</b> .....	<b>77</b>
3.1	Birdshot Retinochoroiditis .....	77
3.1.1	Immunologie .....	77
3.1.2	Bildgebung.....	78
3.1.3	Therapie .....	80
3.1.4	Patientenbetreuung .....	81
3.2	Punktförmige innere Choroidopathie.....	82
3.2.1	Immunologie .....	82
3.2.2	Bildgebung.....	83
3.2.3	Therapie .....	84
<b>4</b>	<b>Zusammenfassung und Ausblick</b> .....	<b>85</b>
<b>5</b>	<b>Literaturverzeichnis</b> .....	<b>87</b>
<b>6</b>	<b>Danksagung</b> .....	<b>98</b>
<b>7</b>	<b>Erklärung</b> .....	<b>100</b>

## Abkürzungsverzeichnis

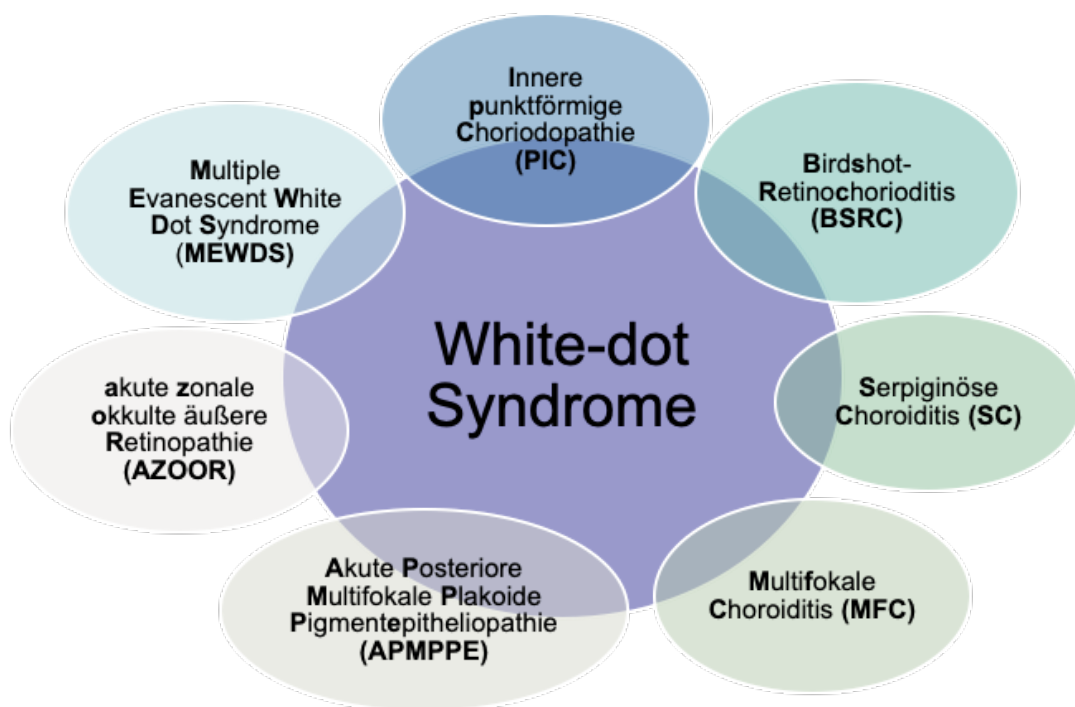
Abb	Abbildung
ACE	Angiotensin-Converting-Enzyme, Angiotensin-konvertierendes Enzym
APMPPE	Akute posteriore multifokale plakoide Pigmentepitheliopathie
AZA	Azathioprin
AZOOOR	Acute zonal occult outer retinopathy, akute zonale okkulte äußere Retinopathie
BCRT	Berliner Center für Regenerative Therapien
BM	Bruch-Membran
CNV	Choroidale Neovaskularisation
CSA	Cyclosporin A
CYTOF	Cytometry by Time of Flight
DCP	Deep capillary plexus, tiefer kapillärer Plexus
DMARD	Disease-modifying anti-rheumatic drug
EDI	Enhanced depth imaging, verbesserte Tiefenabbildung
ELM	External limiting membrane, äußere Grenzmembran
EMA	Europäische Arzneimittel-Agentur
ERAP	Endoplasmatisches Retikulum Aminopeptidase
ERG	Elektroretinogramm
FAG	Fluoreszenzangiographie
FAF	Fundusautofluoreszenz
FDA	Food and Drug Administration
HLA	Humanes Leukozytenantigen
ICGA	Indocyaningrünangiographie
IL	Interleukin
KIR	Killer-Cell Immunglobulin-like Receptor, Rezeptoren auf natürlichen Killerzellen
MEWDS	Multiple evanescent white-dot-syndrom, Syndrom der weißen Flecken
MFC	Multifokale Choroiditis
MHC	major histocompatibility complex, Haupthistokompatibilitätskomplex
MMF	Mycophenolat mofetil
MTX	Methotrexat
OCT	Optische Kohärenztomographie
OCTA	Optische Kohärenztomographie Angiographie
OHS	Okuläre Histoplasmosesyndrom
PIC	Punktförmige innere Choroidopathie
POHS	Presumed ocular histoplasmosis syndrome
RPE	Retinales Pigmentepithel

SC	Serpiginöse Choroiditis
SCP	Superficial capillary plexus, oberflächlicher kapillärer Plexus
SUN	Standarization of uveitis nomenclatur, Standarisierung der Uveitis-Nomenklatur
VEGF	Vascular endothelial growth factor, vaskulärer endothelialer Wachstumsfaktor
WDS	White-dot-Syndrome, Weißfleckenkrankheit

# 1 Einleitung

## 1.1 White-dot-Syndrome

Intraokulare Entzündungen sind die dritthäufigste Erblindungsursache im mittleren Alter, darunter fällt die schwerwiegende und funktionell relevante Uveitis posterior, u.a. White-dot-Syndrome (WDS). WDS, übersetzt „Weißfleckenkrankheiten“ umfasst eine Gruppe von Erkrankungen mit charakteristischen entzündlichen Veränderungen der Netzhaut (Retina), des retinalen Pigmentepithels (RPE) und der Aderhaut (Choroidea). Zu den WDS gehören die akute posteriore multifokale plakoide Pigmentepitheliopathie (APMPPE), die akute zonale okkulte äußere Retinopathie (AZOOR), die Birdshot-Retinochorioiditis (BSRC), das „multiple evanescent white-dot-syndrome“ (MEWDS), die multifokale Choroiditis (MFC), die punktförmige innere Choroidopathie (PIC) und die serpiginöse Choroiditis (SC) (Abb.1).



**Abb.1:** Übersicht der einzelnen White-dot-Syndrome. Quelle: eigene Darstellung.

Die Inzidenz der WDS beträgt 0,45 pro 100 000 Einwohner pro Jahr [1]. WDS ist ein eher historischer Terminus, der erstmalig 1984 von Jampol et al. eingeführt wurde, und zur Beschreibung von Erkrankungen mit gelb-weißlichen Herden auf dem Niveau des RPE's oder der äußeren Netzhautschichten diente [2]. Erste Berichte der einzelnen Krankheitsbilder sind aber deutlich älter [3]. Neben den charakteristischen „weißen Flecken“ am Fundus haben die

einzelnen WDS häufig eine ähnliche klinische Symptomatik, wie Sehstörung, Augenflimmern (Photopsien), verschwommenes Sehen, Glaskörpertrübung und Gesichtsfeldeinschränkung. Daher sind eine gute Anamnese, eine ausführliche klinische Untersuchung und eine möglichst gezielte Diagnostik die Grundlage für die Stellung einer korrekten und differenzierten Diagnose erforderlich. Die morphologische Differenzierung der einzelnen WDS konnte vor allem durch die Fortschritte in der multimodalen Bildgebung erreicht werden.

### **1.1.1 Gemeinsame Aspekte zur Pathophysiologie der WDS**

Während die morphologischen Unterschiede der Erkrankungen im Laufe der Jahre immer weiter präzisiert wurden, ist die Pathogenese der WDS weiterhin unklar. Diskutiert werden infektiöse, genetische und autoimmunologische Auslöser. Jedoch gibt es bisher kaum immunologische Untersuchungen zu den einzelnen Erkrankungen. Klassische Merkmale der WDS sind die „weißen Punkte“ von verschiedener Größe und Konfiguration in der Retina und Choroidea, welche am Entzündungsprozess beteiligt sind. Diese können wieder Abklingen oder aber bestehen bleiben, was darauf hindeuten könnte, dass variable pathologische Prozesse stattfinden. Differentialdiagnostisch sollte daher beim Auftreten von weißlichen Läsionen u.a. auch an eine Sarkoidose, ein Vogt-Koyanagi-Harada Syndrom (VKH), eine sympathische Ophthalmie (SO) oder eine intermediäre Uveitis z.B. im Rahmen einer Multiplen Sklerose gedacht werden. In diesen Fällen ist die Ätiologie aber genauer definiert. Eine Studie von Ben Ezra et al. hat die „weißen Flecken“ von 70 Patienten mit WDS, Sarkoidose, VKH und SO in einem Zeitraum von 6 Jahren prospektiv verfolgt [4]. Sie beschrieben die klinische Manifestation der verschiedenen „weißen Flecken“ mit begleitenden Entzündungszeichen. Es wurden kleine  $<10\ \mu\text{m}$ , diskrete und abklingende Läsionen, von eher größeren  $>100\ \mu\text{m}$ , anhaltenden Läsionen mit konfluierender Tendenz und verbundener intraokularer Entzündung unterschieden. Weiterhin gab es Läsionen, die sich innerhalb weniger Tage gut abgrenzten oder Läsionen, die sich unter Behandlung von Kortikosteroiden und/oder Cyclosporin A (CSA) deutlich verkleinerten und auflösten [4]. Diese Beobachtungen haben klinische Auswirkungen bezüglich der Therapieempfehlung. Histologische Untersuchungen sind eher eine Rarität. Es gibt nur einzelne Untersuchungen der „weißen Flecken“ bzw. der Granulome bei SO, VKH und Sarkoidose, die eine Ansammlung an Lymphozyten und Makrophagen darstellen [4,5]. Es wird angenommen, dass es sich bei der Granulombildung um eine Immunantwort vom verzögerten Typ-IV (Spättyp) bzw. eine zellvermittelte Reaktion mit Freisetzung von  $\text{CD4}^+$  T-Zellen handelt [4]. Die Größe, Konfiguration und Muster der Läsionen bzw. Granulome hängen womöglich von den auslösenden Faktoren ab, die an der Präsentation des fremden oder eigenen Antigens, beteiligt sind. Die Bildung von kleinen Läsionen könnte eine gut regulierte Immunreaktion widerspiegeln, vermittelt durch lokale Freisetzung von Zytokinen, während die



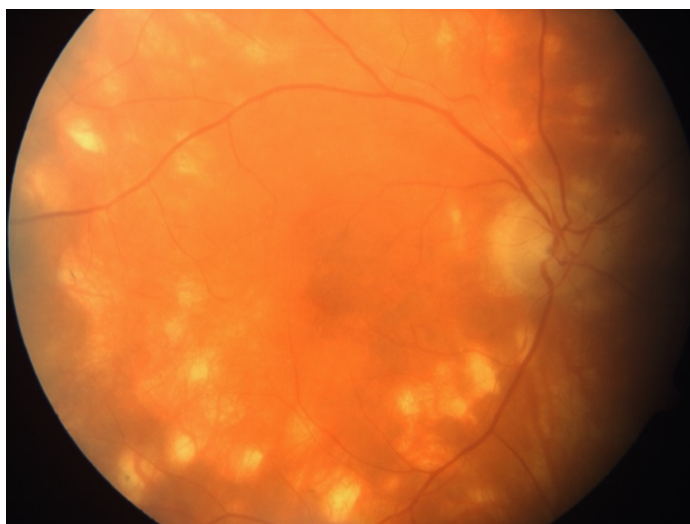
schlecht, kontrollierten Läsionen durch eine kontinuierliche Freisetzung von proinflammatorischen Zytokinen gekennzeichnet sind mit anschließender Gewebszerstörung mit Narben- und Fibroseausbildung [4]. Dies hat klinische Auswirkungen und führt zu erheblichen Netzhautschäden v.a. bei unkontrollierten Entzündungen, weshalb eine immunsuppressive Behandlung notwendig ist.

Als Komplikation können sich in einzelnen WDS wie PIC, MFC, SC, BSRC zusätzlich sekundäre bzw. inflammatorische choroidale Neovaskularisationen (CNV) foveal, juxtafoveal oder extrafoveal bilden. Sie entwickeln sich durch die Infiltration, sowie die Aktivierung von choroidalen und retinalen myeloischen Zellen (Mikroglia) mit anschließender Produktion von vaskulären endothelialen Wachstumsfaktoren (VEGF), Zytokinen, Chemokinen und Komplementaktivierung, die zusammenwirken, um angiogene Reaktionen zu vermitteln [6]. Histologisch werden die CNVs in Typ 1 und Typ 2 Membranen klassifiziert [7]. Typ 1 CNV wächst zwischen RPE und Bruch-Membran (BM) und wird auch als okkulte CNV bezeichnet. Dagegen wächst Typ 2 CNV unterhalb der Retina und wird auch als klassische CNV bezeichnet. Bei sekundärer, inflammatorischer CNV handelt es sich typischerweise um Typ 2 oder klassische CNV, was ein verbessertes, therapeutisches Ansprechen beinhaltet.

In dieser Habilitationsschrift sind die Schwerpunkte auf zwei Erkrankungen, die BSRC und die PIC gelegt und werden in den folgenden Abschnitten im Einzelnen besprochen.

## 1.2 Birdshot-Retinochoroiditis

Die BRSC ist eine chronische, progressive, bilaterale, intraokulare Entzündung der Retina und Choroidea mit einem charakteristischen Phänotyp, welche 0,5 bis 1,5% der Uveitidfälle ausmacht [8,9]. Der Name „Birdshot“, erstmalig von Ryan und Maumenee in 1980 eingeführt



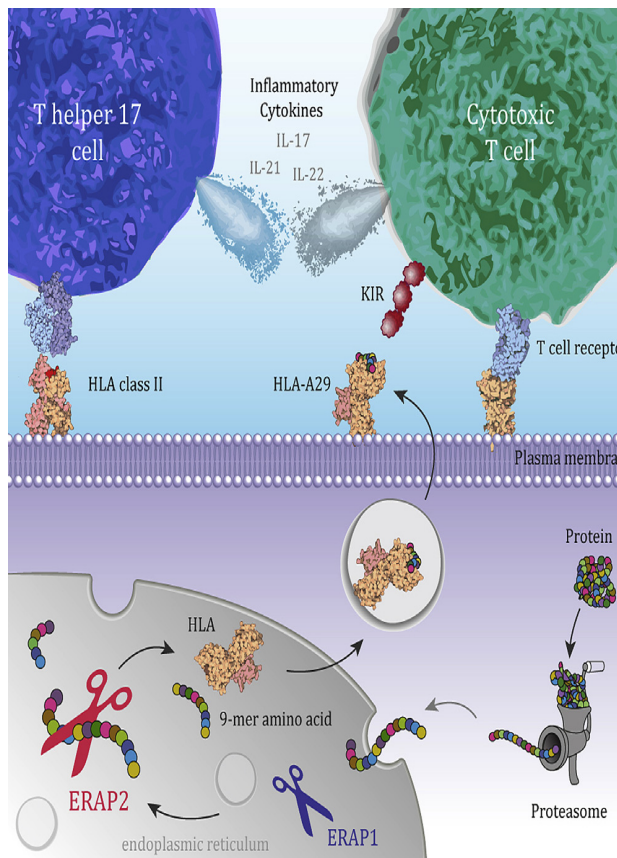
**Abb. 2. Fundusbild einer Birdshot-Retinochoroiditis.** Quelle: eigenes Bild.

[10], stammt von den kleinen, weißlich-gelben Flecken, die in einem Muster gleich dem „Vogelschuss einer Schrotflinte“ um den Sehnerv am posterioren Pol, verstreut sind [11]. Es sind häufiger Frauen als Männer betroffen um das 40. Lebensjahr, die mitten in ihrem Berufsleben stehen [12].

### 1.2.1 Pathophysiologie

Die Ätiologie der BSRC ist bis heute unklar, aber es wird von einer autoimmunologischen Genese ausgegangen. Histologische Untersuchungen zeigten eine Ansammlung von lymphozytären Aggregationen in der Aderhaut, im Sehnerv und entlang der retinalen Gefäße [13]. Ein besonderes Merkmal der BSRC ist die hohe Korrelation mit dem Humanen Leukozytenantigen (HLA)-A29. Etwa 7-10% der kaukasischen Bevölkerung tragen das HLA-Gen, sind aber nicht von der Erkrankung betroffen [14]. Ein Merkmalsträger hat jedoch ein relatives Risiko von 224,35 an BSRC zu erkranken [15]. Ein Zusammenhang zwischen HLA und Autoimmunerkrankungen beim Menschen ist bekannt und macht die BSRC daher zu einem exzellenten Modell für die Untersuchung der zugrundeliegenden immunogenen Mechanismen von HLA-Klasse-I-assoziierten Erkrankungen. Die Assoziation mit HLA-A29 legt nahe, dass es direkt an der Präsentation von Antigen wirkenden Peptiden an T-Zellen beteiligt ist. Neue Studien zeigten, warum HLA-A29 als antigenpräsentierendes Molekül betrachtet werden kann. Die erste genomweite Assoziationsstudie ermöglichte neue Konzepte für einen Krankheitsmechanismus jenseits von HLA-A29, der eine starke genetische Präposition für das ERAP2-Gen (endoplasmatisches Retikulum Aminopeptidase) enthält. ERAP2 ist in die Antigenverarbeitung für HLA-Klasse-I bzw. Haupthistokompatibilitätskomplex (MHC)-I involviert [16]. Die MHC-I präsentierten Peptide werden wiederum von CD8<sup>+</sup> T-Zellen erkannt, die eine Immunantwort auslösen, wodurch ein immunologisches Gedächtnis erzeugt wird. Diese CD8<sup>+</sup> T-Zellen umfassen u.a. Interleukin (IL)-17-produzierende zytotoxische T-17-Zellen (T<sub>C</sub>17) [17]. Zur Verstärkung der intraokularen Entzündung werden zudem immunogene Antigene der HLA-Klasse-II-Moleküle durch die zirkulierenden spezifischen okulären CD4<sup>+</sup> T-Zellen erkannt, einschließlich der T-Helfer-17-Zellen (T<sub>H</sub>17). Darüber hinaus werden proinflammatorische Zytokine (IL-2, IL-1 β, IL-6 und Tumor Nekrose Faktor (TNF)-α) und pathogene T-Zell-Untergruppen, die mit einer IL-17-verbundenen Entzündung assoziiert sind, ausgeschüttet (Abb. 3) [18-21]. Es konnten sowohl CD4<sup>+</sup> als auch CD8<sup>+</sup> T-Zellen in Glaskörperflüssigkeit [22], sowie Zytokine im Kammerwasser nachgewiesen werden [18], so dass die Existenz von Augenantigen-spezifischen T-Zellen intraokular in BSRC bestätigt werden konnte. Die einzelnen immunologischen

Untersuchungen umfassen aber nur eine sehr kleine Anzahl an Patienten mit zudem sehr heterogenen klinischen Befunden.



**Abb. 3. Mit freundlicher Genehmigung des Elsevier Verlags. Übergreifendes Model der Immunpathogenese der Birdshot-Retinochoroiditis.** Der Abbau der Proteine in der Retina und Aderhaut erfolgt intrazellulär in den Proteasomen. Die freiwerdenden Peptide und Aminosäuren werden dann zum endoplasmatischen Retikulum transportiert, wo sie durch ERAP1 und ERAP2 zurechtgeschnitten, gefaltet und auf den HLA-Klasse-I-Molekülen geladen werden. Das HLA-A29-Antigen präsentiert die uveitischen Peptide an CD8<sup>+</sup> T-Zellen, welche okuläre Antigene erkennen, die wiederum virale und bakterielle Epitope nachahmen können. Diese CD8<sup>+</sup> T-Zellen umfassen IL-17-produzierende T<sub>C</sub>17 Zellen. KIR-Antigene (KIR=Killer-Cell Immunglobulin-like Receptor) sind exprimiert auf T-Zellen, welche zu dem Fortbestehen der Entzündung bei BSRC beitragen. Die anschließende Schädigung des Augengewebes erfolgt über verschiedene immunogene Antigene der HLA-Klasse-II-Molekülen, die durch zirkulierende spezifische okuläre CD4<sup>+</sup> T-Zellen erkannt werden, einschließlich T<sub>H</sub>17-Zellen. T<sub>H</sub>17-Zellen verstärken die chronische Entzündung im Auge und schütten Zytokine wie IL-17 und IL-21 aus [12].

## 1.2.2 Klinik und Diagnostik

Zu Beginn der Erkrankungen beschreiben die Patienten oft nur milde Symptome wie verschwommenes Sehen, Floater und/oder eine Photosensitivität bei gutem Visus. Gelegentlich werden schwere Verläufe mit reduziertem Visus bedingt durch eine intraretinale Flüssigkeitsansammlung (Makulaödem) im Zentrum der Netzhaut beobachtet. Da die Erkrankung aber oft unerkannt bleibt, nimmt sie einen chronischen Verlauf ein, häufig mit progressiven und signifikanten, teilweise irreversiblen Schäden mit einhergehender Visusminderung, Verlust des Kontrastsehens, Farbsinnstörung, Blendung, Gesichtsfeldeinschränkung bis hin zur Erblindung [23,24].

Der klinische Befund zeigt im Allgemeinen das Fehlen von Entzündungszeichen im vorderen Augenabschnitt, eventuell wird in wenigen Patienten eine milde Uveitis anterior beobachtet. Nicht selten präsentiert der Patient eine Glaskörperentzündung (Vitritis) ohne nachweisbare „Schneebälle“ (snow balls) oder „Schneebänke“ (snow bank) [25]. Funduskopisch sind charakteristische cremefarbende, ovale, choroidale Läsionen mit einem Durchmesser von 500

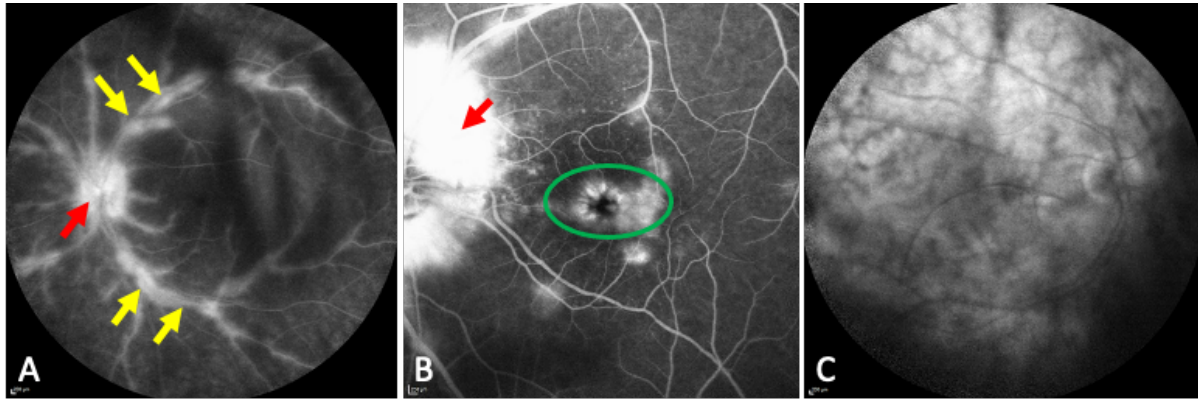
bis 1500 µm zu finden. Häufig treten diese Läsionen aber verzögert auf bis zu 8 Jahren nach Beginn der Symptome [26]. Mit Fortschreiten der Erkrankung konfluieren die Läsionen miteinander, werden atroph und die Erkrankung kann mit der multifokalen Choroiditis verwechselt werden. Neben der Ausbildung eines Makulaödems (63-84%), treten retinale Vaskulitis (40%), Papillenödem (40%), Cellophan-Makulopathie (10%), CNV (11%), retinale Neovaskularisation (7,5%), Makulanarben (6%) und Optikusatrophie (4%) auf [23-25]. In den letzten Jahren wurde eine Vielzahl an Kriterien zur Diagnose einer BSRC vorgeschlagen. Die aktuellen internationalen, diagnostischen Konsenskriterien zur Diagnose der BSRC wurden 2006 festgelegt und lauten wie folgt: die Erkrankung ist bilateral, weist typische Birdshot-Läsionen (mindestens 3) inferior und nasal zu der Papille auf, zeigt eine geringe Entzündung im vorderen Augenabschnitt (Zellen <1+ nach SUN [Standardization of uveitis nomenclature] - Grading-Score), sowie eine milde Vitritis (<2+ nach dem SUN-Grading-Score). Eine HLA-A29 Positivität, eine retinale Vaskulitis und ein Makulaödem zählen zu den supportiven Kriterien. Ausschlusskriterien sind Endothelpräzipitate, hintere Synechien, Infektionen und neoplastische Erkrankungen [27]. Wie bei allen intraokularen Entzündungen ist die Anamnese bezüglich möglicher Infektionen und systemischer Erkrankungen unabdingbar, welche durch diagnostische Labortests ausgeschlossen werden müssen. Zu empfehlen ist eine routinemäßige Bestimmung von HLA-A29 bei V.a. BSRC, Syphilis-Serologie, löslicher IL-2-Rezeptor und Angiotensin-konvertierendes Enzym (ACE), sowie Quantiferon-Test. Zusätzlich sollte ein Röntgen des Thorax zum Ausschluss einer Sarkoidose und Tuberkulose durchgeführt werden.

## **1.2.3 Multimodale Bildgebung**

### **1.2.3.1 Fluoreszenzangiographie**

Die multimodale Bildgebung stellt eine unerlässliche Säule der Diagnostik einer BSRC dar. Als Goldstandard wird die Fluoreszenzangiographie (FAG) zur Erfassung und zum Monitoring der aktiven retinalen Vaskulitis verwendet [28]. Dabei wird das wasserlösliche Fluoreszein intravenös appliziert und fluoresziert bei einer Wellenlänge von 520-530nm (grün) (Emissionsspektrum) nach Anregung durch ein Licht von 465-490nm (blau) (Absorptionsspektrum). Mit der FAG lässt sich eine Durchlässigkeit von entzündeten Gefäßen als Leckagen der retinalen Gefäße, der Papille und der Makula detektieren (Abb. 4 A, B). Bei der aktiven BSRC können entweder die großen retinalen Gefäßarkaden Leckagen zeigen, oder aber das Fluoreszein tritt aus den kleinen Gefäßkapillaren in der gesamten Netzhaut aus mit massiver diffuser Hyperfluoreszenz [29]. In einigen Fällen wird das Makulaödem, welches meistens in der optischen Kohärenztomographie (OCT) detektiert wird, nur in der FAG

gesehen. Die Aufnahme der Läsionen mit der FAG sind eher inkonsistent und hängen vom Alter der Läsion ab [28]. Typisch für die BSRC ist die verlängerte Transitzeit, weil der Fluoreszeinfarbstoff aus den Retinaarteriolen durch die Diffusion in das umgebende Gewebe austritt (Abb. 4 C) [29].



**Abb. 4. Fluoreszenzangiographie bei der Birdshot-Retinochoroiditis. A)** Retinale Leckagen im Rahmen einer retinalen Vaskulitis (gelbe Pfeile) inklusive einer Hyperfluoreszenz der Papille (Papillitis) (roter Pfeil). **B)** Massive Hyperfluoreszenz der Papille (roter Pfeil) und makuläre Leckage, entspricht einem Makulaödem (grüner Kreis). **C)** Hyperfluoreszenzen im tieferen Gewebe durch die verlangsamte arteriovenöse Phase (verlängerte Transitzeit). Quelle: eigene Bilder.

### 1.2.3.2 Indocyaningrünangiographie

Während die FAG Auskünfte über die oberflächlichen Netzhautstrukturen gibt, dient die Indocyaningrünangiographie (ICGA) zur Erfassung von entzündlichen Veränderungen in der Choroidea und tieferen Netzhautschichten. Sie sollte stets bei der BSRC durchgeführt werden, da die Choroidea in den meisten Fällen mit betroffen ist. Indocyaningrün ist – wie Fluoreszein - ein wasserlöslicher Tricarboncyaninfarbstoff mit einem jedoch höheren molekularen Gewicht (775 vs. 354 Dalton), der nach der intravenösen Applikation fast vollständig proteingebunden vorliegt. Dadurch ist die Diffusion durch die fenestrierte Choriokapillaris erschwert und der Farbstoff verbleibt im Aderhautkreislauf. Das Absorptionsspektrum liegt im nahen Infrarotbereich (790-805nm) und das Emissionsspektrum bei 825-835nm. Charakteristisch für die BSRC sind multiple, runde Hypofluoreszenzen, sog. „dark dots“, hervorgerufen durch eine eingeschränkte Durchblutung der Gefäße in der Choroidea. Diese dienen als Maß der Krankheitsaktivität (Abb. 5). Die „dark dots“ in der ICGA entsprechen nicht immer den sichtbaren funduskopischen Läsionen. Zusätzlich kann man mit Hilfe der ICGA das Ausmaß der Aderhautbeteiligung evaluieren. Sind die „dark dots“ nur in der Intermediärphase (8-12 Minuten) sichtbar und werden anschließend isofluoreszent, ist nur der obere Teil des Stromas der Choroidea betroffen. Sind in der Spätphase (26-34 Minuten) weiterhin „dark dots“ erkennbar, ist das gesamte Stroma betroffen [29]. Im Falle einer

choroidalen Atrophie im fortgeschrittenen Erkrankungsstadium persistieren die Hypofluoreszenzen (teilweise konfluierend) über die gesamte Phase.

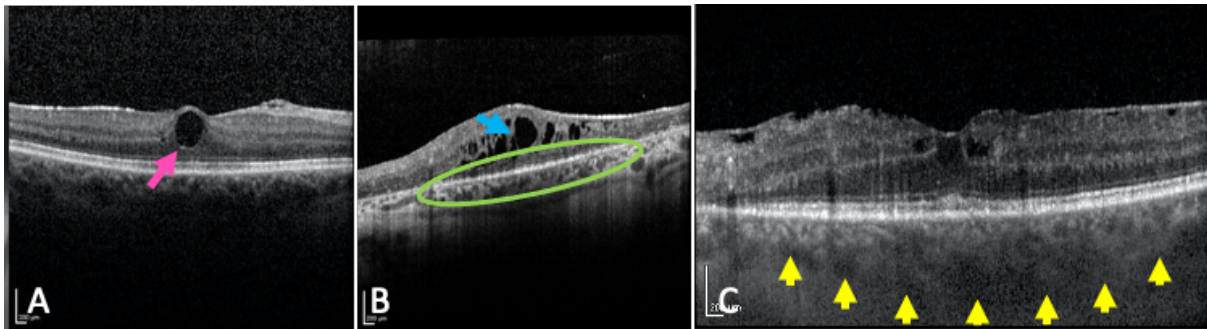


**Abb. 5. Indocyaningrünangiographie bei der Birdshot-Retinochoroiditis. A)** Multiple Hypofluoreszenzen, sog. „dark dots“ im oberen Stroma (blaue Pfeile) und im gesamten Stroma (orangene Pfeile) in der Intermediärphase (7-10 Min). **B)** „Dark dots“ im oberen Stroma sind isofluoreszent geworden und „dark dots“ im gesamten Stroma (orangene Pfeile) bestehen weiterhin in der Spätphase (20 Min). **C)** Nach einer Steroidgabe Reduktion der „dark dots“ in der Intermediärphase und **D)** komplette Regression in der Spätphase nach Therapie. Quelle: eigene Bilder.

### 1.2.3.3 Optische Kohärenztomographie

Im Gegensatz zur FAG/ICGA ist die OCT eine nicht-invasive Methode zur Darstellung der Makula und dient zur Feststellung von einem Makulaödem, sowie zur Detektion von Störungen der inneren und äußeren Netzhautschichten inklusiv der Photorezeptoren (Abb. 6A, B). So wurde in einer Studie in 31% der BSRC-Patienten ein Makulaödem festgestellt [31]. Die im OCT messbare Makulaausdünnung und die sichtbare Störung der Photorezeptoren, welche im fortgeschrittenen Krankheitsverlauf auftritt, gehen mit verminderter Sehleistung, reduzierter Kontrastempfindlichkeit und insgesamt mit einer schlechteren visuellen Prognose einher [31-33]. Eine Makulaatrophie im OCT, sowie eine verminderte Sehleistung und ein reduziertes multifokales Elektretinogramm (mfERG) korrelieren stark mit der Erkrankungsdauer der BSRC [32].

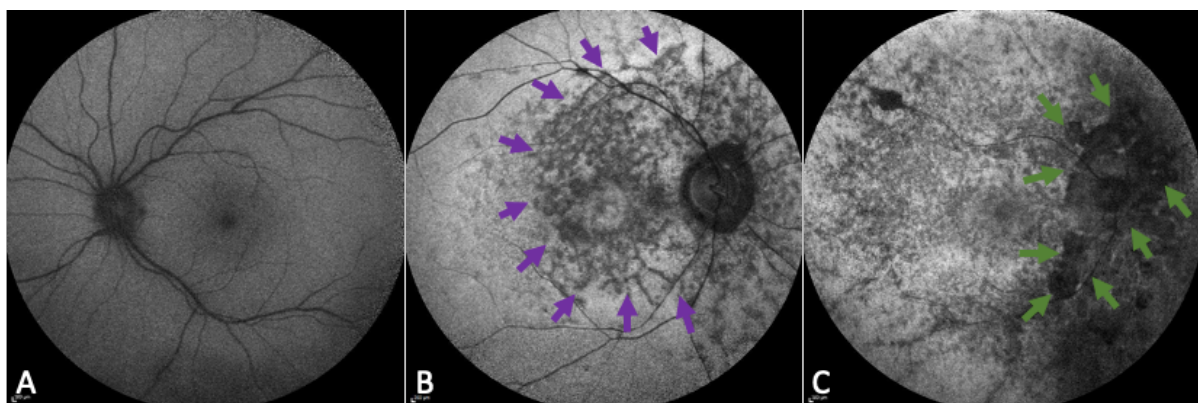
Zusätzlich lässt sich durch die weiter entwickelte Technologie, „enhanced depth imaging“ (EDI) mittels spectral-domain (SD) – OCT, die Choroidea hochaufgelöst darstellen (Abb. 6C). Birnbaum et al. zeigten in ihrer Studie, dass das Vorhandensein von suprachoroidaler Flüssigkeit im EDI-OCT mit subjektiven Beschwerden wie Photopsien und klinischen Parametern wie Vaskulitis und Glaskörpertrübung bei 14 BSRC-Patienten korrelierte [34]. Einzelne Studien berichteten über eine Zunahme der Choroideadicke bei Entzündungsaktivität, sowie eine signifikante Abnahme der Dicke im Zusammenhang mit der Dauer der Erkrankung [35-37].



**Abb. 6. Optische Kohärenztomographien (OCT) bei der Birdshot-Retinochoroiditis. A)** Singuläre Makulazyste (rosa Pfeil) mit intakten Photorezeptoren. **B)** Intraretinales Makulaödem mit Störung der Photorezeptoren (grüner Kreis). **C)** Aufgelockerte Makula mit kleinen intraretinalen Zysten, sowie Dickenzunahme der Choroidea (gelbe Pfeile) in enhanced depth imaging (EDI-OCT). Quelle: eigene Bilder.

### 1.2.3.4 Fundusautofluoreszenz

Die Fundusautofluoreszenz (FAF) ist ebenfalls ein nicht-invasives Verfahren und dient zur Darstellung von Fluorophoren in der Retina, um metabolische Veränderungen auf der Ebene der Photorezeptoren frühzeitig zu erfassen. Dabei wird Lipofuszin, ein Abbauprodukt, welches im RPE akkumuliert, mit einem energiereichen, kurzwelligeren blauen Licht angeregt, absorbiert und in ein energieärmeres, langwelligeres Licht umgewandelt. Eine erhöhte Intensität wird weiß dargestellt (Hyperautofluoreszenz), eine erniedrigte Intensität ist dagegen schwarz (Hypoautofluoreszenz). Bei den BSRC-Patienten mit einer längeren Krankheitsdauer (im Schnitt 8,7 Jahre) sieht man häufig peripapilläre-, extramakuläre- oder auch körnige-granuläre, sowie konfluente Hypoautofluoreszenzen (Abb. 7) [38].



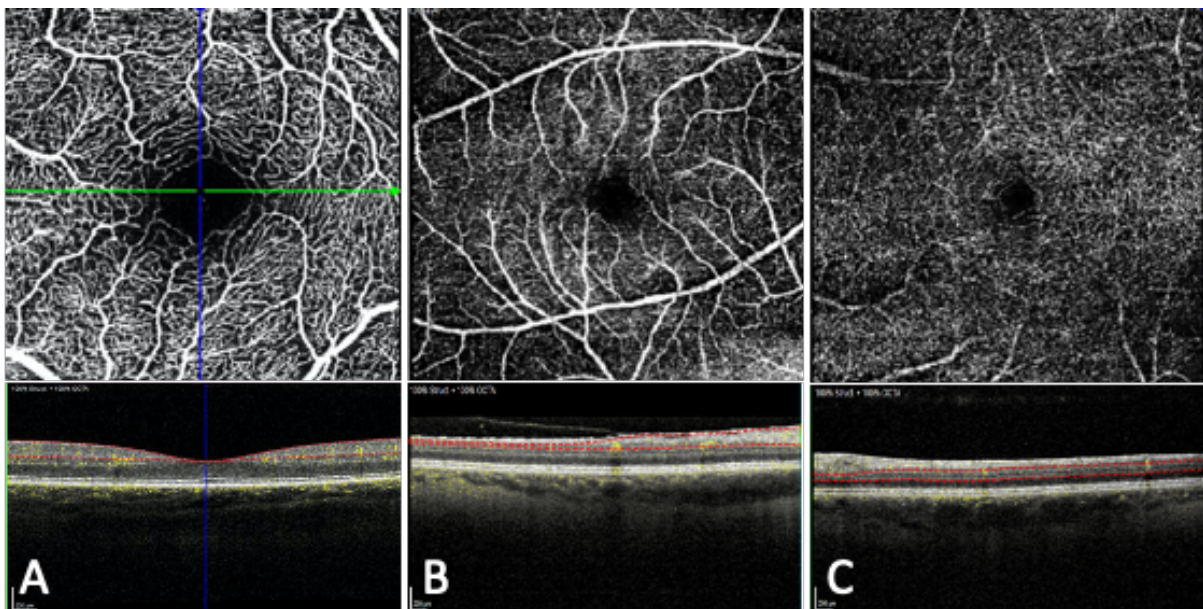
**Abb. 7. Fundusautofluoreszenz (FAF) bei der Birdshot-Retinochoroiditis. A)** Reguläre FAF. **B)** Makuläre und peripapilläre granuläre Hypoautofluoreszenzen (lila Pfeile). **C)** Konfluente Hypoautofluoreszenzen (grüne Pfeile). Quelle: eigene Bilder.

Diese korrelieren meistens nicht mit den sichtbaren Läsionen in der Funduskopie, sondern sind eher ein Zeichen einer Progression der Erkrankung. Das Auftreten einer Makulaatrophie

korreliert dagegen mit makulärer Hypoautofluoreszenz und ist mit einer verminderten Sehschärfe und Abnahme der fovealen Dicke im OCT assoziiert [39]. Treten lineare hypoautofluoreszente Streifen in der FAF entlang retinaler Gefäße auf, spricht dies für eine retinale Vaskulitis [28].

### 1.2.3.5 Optische Kohärenztomographie Angiographie

Die optische Kohärenztomographie Angiographie (OCTA) ist eine technische Weiterentwicklung der OCT und stellt eine neue, nicht-invasive Bildgebung zur dreidimensionalen Darstellung der retinalen als auch in geringerem Ausmaß der choroidalen Gefäße dar. Während die Standard-OCT die Intensität des reflektierten Lichts analysiert, misst die OCTA die zeitliche Änderung der Signalstärke, hervorgerufen durch die Bewegung von Blutpartikeln in den Gefäßen (sog. „Blutfluß“). Dies erfordert eine große Anzahl an Aufnahmen von A-Scans („amplitude-mode-scan“) und B-Scans („brightness-mode scan“) an der gleichen Stelle innerhalb einer kurzen Zeit, aus welchen die dreidimensionale Volumenaufnahmen mittels spezifischen Berechnungsalgorithmen errechnet werden. Der Vorteil dieser Technik im Vergleich zur konventionellen OCT ist, dass die volumetrischen Daten in verschiedene Netzhautschichten wie den oberflächlichen kapillären Plexus (SCP, superficial capillary plexus) und tiefen kapillären Plexus (DCP, deep capillary plexus), sowie die Choriokapillaris segmentiert werden können (Abb. 8).



**Abb. 8: Optische Kohärenztomographie Angiographie (OCTA).** A) OCTA beim Gesunden. B) Oberflächlicher kapillärer Plexus und C) tiefer kapillärer Plexus bei der Birdshot-Retinochoroiditis. Quelle: eigene Bilder.



Da diese Bildtechnik erst seit ein paar Jahren eingeführt wurde, gab es zum Zeitpunkt der vorliegenden Studie zum Thema BSRC nur eine Originalarbeit. De Carlo et al. untersuchte 8 BSRC-Augen mit OCTA und zeigte, dass alle Augen einen verminderten choroidalen Blutfluß unterhalb des gestörten RPEs hatten. Alle Augen demonstrierten eine retinale Ausdünnung, teleangiektatische Gefäße und vergrößerte Interkapillarräume. In 88% der Augen wurden kapilläre Dilatationen und Gefäßschleifen gesehen [40].

#### **1.2.4 Weitere Diagnostik**

Eine weitere bewährte, wichtige verlaufsorientierte Maßnahme bei BSRC-Patienten ist die Gesichtsfelduntersuchung (Perimetrie). Nicht selten tritt eine Verschlechterung des Gesichtsfeldes (multiple oder bogenförmige Skotome) auf trotz einer guten zentralen Sehschärfe [41]. Auch korrelieren mittlere Abweichungswerte (MD, mean deviation) mit Symptomen wie Verschwommenes Sehen, Nyktalopie (Nachtblindheit) und vermindertes Kontrastsehen und weniger mit der Sehschärfe [28]. Thorne et al. konnte zeigen, dass bei 75% der BSRC-Patienten Gesichtsfelddefekte mittels Goldmann-Perimetrie innerhalb von 6 Monaten nachgewiesen werden konnten, insbesondere bei Patienten ohne systemische Therapie [42].

Für die Langzeitüberwachung ist für viele Kliniker außerdem das ERG von Bedeutung. Ganzfeld-ERG und mfERG sind sensitiv bezüglich der Progression der Erkrankung. Sie können Veränderungen vor strukturellen Schädigungen detektieren und sind nützlich bei der Therapieüberwachung [43,44]. Eine Studie von Hirose et al. untersuchte 15 BSRC-Patienten mit variierenden ERG's von normal bis „nicht detektierbar“ je nach Schweregrad und Stadium der Erkrankung. Dieses ausgeprägte ERG-Muster wurde bei keiner anderen Uveitisform beobachtet und es scheint so, dass die Nervenschicht der Retina diffuser und stärker betroffen ist im Vergleich zum RPE-Komplex [28]. Bei sehr fortgeschrittenem Stadium sind mit Nyktalopie assoziierte ERG-Veränderungen zu beobachten, die der erblichen Netzhauterkrankung Retinitis pigmentosa gleichen.

#### **1.2.5 Therapie**

Grundsätzlich erfolgt die Behandlung der nicht-infektiösen Uveitis posterior nach einem Stufenkonzept (Deutsche Ophthalmologische Gesellschaft Leitlinie 24B) [45]. Als initiale Therapie (first line) ist eine systemische Gabe (nicht selten intravenös) von Kortikosteroiden meist unerlässlich. Für die Behandlung eines akuten oder rezidivierenden Makulaödems ist meist die periokulare/intravitreale Kortikosteroidgabe erfolgreich [46-48]. Aufgrund vielfältiger unerwünschter Nebenwirkungen der systemischen Kortikosteroide, sind steroidsparende

immunmodulierende Medikamente (second line) für eine Langzeittherapie notwendig. Unter dem Begriff „disease-modifying anti-rheumatic drug“ (DMARD) sind verschiedene Wirkstoffe zusammengefasst, die zur Verlangsamung bzw. Verhinderung einer Progression der intraokularen Entzündung verwendet werden. Nicht-biologische DMARDs umfassen eine Gruppe von Immunsuppressiva, die die Lymphozytenproliferation hemmen. Unterteilt werden die Medikamente in a) Antimetabolite (Methothrexat [MTX], Azathioprin [AZA], Mycophenolat mofetil [MMF]), b) Calcineurin-Inhibitoren (Ciclosporin A [CSA], Tacrolimus) und c) Alkylanzien (Cyclophosphamid). Nach Einführung der biologischen DMARDs hat sich die Behandlungsmöglichkeit der nicht-infektiösen Uveitis posterior erweitert. Seit 2016 ist Adalimumab (Tumor-Nekrose-Faktor [TNF]- $\alpha$ -Inhibitor) als bisher einziges Biologikum von der Europäische Arzneimittel-Agentur (EMA) und Food and Drug Administration (FDA) für die Uveitis intermedia/posterior und Panuveitis zugelassen. Andere TNF- $\alpha$ -Inhibitoren wie Infliximab, Golimumab und Certolizumab werden als Off-Label zur Behandlung von therapierefraktären Uveitiden verwendet.

Gasch et al. berichtet, dass 20% der BSRC-Erkrankungen selbstlimitierend sind, sogar mit vollständiger Remission [49]. Dahingegen zeigten longitudinale Studien in der überwiegenden Mehrzahl der Fälle Exazerbationen mit progressivem Sehverlust aufgrund von strukturellen Komplikationen und Netzhautdysfunktionen [24,25,50]. Bisher gibt es noch keinen Konsens über Kriterien eines optimalen Behandlungsschemas mit der Frage des Therapiebeginns oder einer Therapiedauer für BSRC. Meistens werden nur Erfahrungen der Therapieoptionen als Fallberichte und kleine Fallserien publiziert. Es fehlen also prospektive Daten bezüglich der Rückfall- und Remissionsraten bei BSRC-Patienten, sowie der bestmöglichen Therapiedauer.

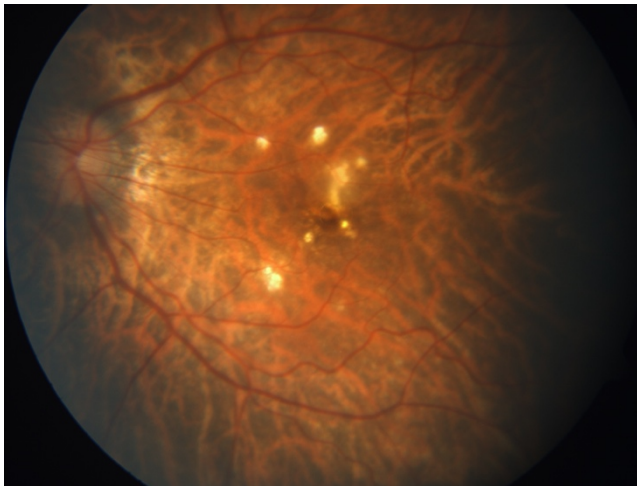
### **1.2.6 Verlauf und Prognose**

BSRC ist meist eine chronische, progressive okuläre Erkrankung mit dem Risiko einer dauerhaften Sehstörung bis hin zur Erblindung aufgrund anatomischer und funktioneller Komplikationen durch rezidivierende intraokulare Entzündungen. Ursachen für den Sehverlust sind zystoide Makulaödeme, epiretinale Gliosen, Makulaatrophien und -narben sowie die Bildung einer CNV [28, 42]. Bei einigen Patienten bleibt die zentrale Sehschärfe aber auch lange Zeit erhalten, trotz irreversiblen, peripheren Netzhautschäden [41].

### **1.3 Punktförmige Innere Choroidopathie**

PIC ist eine „idiopathische“ entzündliche Erkrankung des RPEs und der Choroidea. Der Begriff wurde erstmals von Watzke et al 1984 eingeführt [51]. In seiner Studie beschrieb er zehn myope Frauen mit verschwommenem Sehen, Lichtblitzen oder parazentralen Skotomen, die

funduskopisch kleine, gelb-weißliche Läsionen in der inneren Choroidea und des RPEs aufzeigten (Abb. 9). Das Sehvermögen war meist nur gering beeinträchtigt, solange keine CNV auftrat [51]. Eine retrospektive epidemiologische Studie schätzte rund 0,4 Neuerkrankungen pro eine Million Einwohner pro Jahr im Zeitraum von 1980 bis 1994 [52]. Eine andere Studie aus Großbritannien rechnete eine Inzidenz von rund 1,6 pro eine Million Einwohner pro Jahr in einem Zeitraum von 2003 bis 2013 aus [53].



**Abb. 9. Fundusbild einer punktförmigen inneren Choroidopathie.** Quelle: eigenes Bild.

### 1.3.1 Pathophysiologie

Wie bei den meisten WDS ist auch bei der PIC die Ätiologie bisher unbekannt. Es gibt viele theoretische Erklärungen für eine mögliche Ursache. So wird PIC z.B. als eine Variante der MFC angesehen oder als eine Form der myopischen Degeneration. Jampol et al. nimmt an, dass es sich um eine familiäre Prädisposition für autoimmunologische/inflammatorische Erkrankungen handelt, die zu einer Reaktion gegen die Antigene der äußeren Netzhaut und der inneren Choroidea führt, ausgelöst durch unbekannte Trigger [54]. Andere Studien berichten über eine Assoziation mit HLA-DR2 und familiäre Fälle in einer Mutter-Tochter-Kohorte [55,56]. Differentialdiagnostisch sollte auch an das okuläre Histoplasmosesyndrom (OHS) gedacht werden, hervorgerufen durch eine Infektion mit dem Hefepilz *Histoplasma capsulatum*. Dieser kommt endemisch in Staaten wie Ohio und Mississippi vor und führt zu einem positiven Histoplasminhauttest [51,57]. Ein klinisches ähnliches Bild zeigt die POHS (presumed ocular histoplasmosis syndrome), welches außerhalb der Endemiegebiete beobachtet wird und die Patienten keinen Kontakt zu dem Pilz hatten.

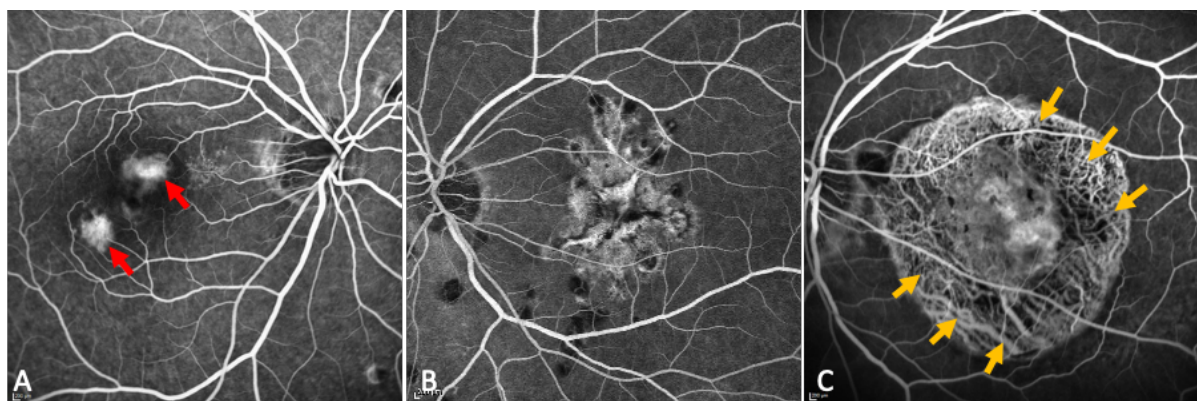
### 1.3.2 Klinik und Diagnostik

PIC ist meist eine unilaterale (>80%) entzündliche Erkrankung der Choroidea und tritt bei jungen, im Durchschnitt 30 Jahre alten (15 bis 55 Jahre), myopen Frauen auf [58]. Charakteristisch sind multiple, kleine (100-300µm), runde, gelb-weißliche Läsionen am posterioren Pol ohne Vitritis. Im Verlauf entwickeln sich die Läsionen zu atrophischen, gut definierbaren, teilweise ausgestanzten und pigmentierten Narben. Die Patienten klagen häufig über Skotome (91%), Verschwommenes Sehen (86%), Photopsien (73), Floater (69%), Photophobie (69%) und Metamorphopsien (65%) [59]. Tritt eine Visusverschlechterung auf, ist diese oft durch die Ausbildung einer CNV bedingt [60]. Eine CNV kann bei 69 bis 75% der Fälle, insbesondere im ersten Jahr nach Beginn der Erkrankung, auftreten [59,61]. Andere Studien berichten über eine niedrigere Rate der CNV Bildung [58,62]. Im späteren Verlauf wandelt sich die CNV in eine subretinale Fibrose um und tritt bei 56% der Fälle auf [59]. Typische Muster der Fibrose erscheinen peripapillär als „napkin ring“ (Serviettenring) und als Überbrückung „bridging“ zwischen den Narben [63].

### 1.3.3 Multimodale Bildgebung

#### 1.3.3.1 Fluoreszenzangiographie

Die FAG ist auch hier ein Goldstandard u.a. für die Detektion der CNV. Die Schwierigkeit ist aber eine aktive entzündliche Läsion von einer CNV zu unterscheiden, da beide als Hyperfluoreszenzen auftreten. Insbesondere kleine CNVs, die in der FAG kein „spitzenartiges“ Netzwerk oder neue multiple, „federartige“ Gefäße ausgebildet haben, sind schwierig zu differenzieren. Zumal auch nicht immer eine intraretinale oder subretinale Flüssigkeitsansammlung die CNV begleitet.

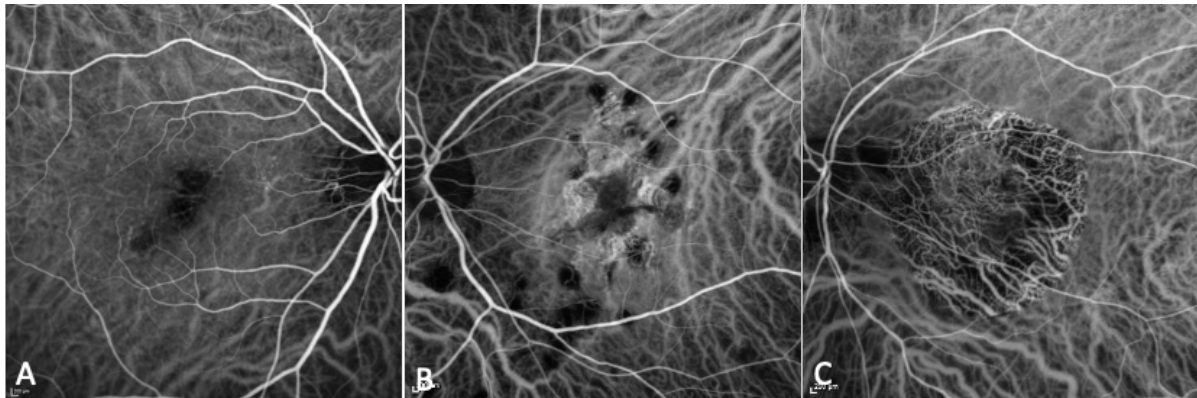


**Abb. 10. Fluoreszenzangiographie bei der punktförmigen inneren Choroidopathie. A)** Zwei aktive hyperfluoreszente choroidale Neovaskularisationen (CNV) (rote Pfeile). **B)** Bereits vernarbte CNV. **C)** Große subretinale Fibrose mit perimakulärer Atrophie (Fensterdefekte, gelbe Pfeile). Quelle: eigene Bilder.

Wenn das RPE, welches die Diffusion der Fluoreszenz in die Choroidea verhindert, atroph ist, sammelt sich vermehrt Fluoreszenz in der Choroidea an und es kommt zum sog. „Fensterdefekt“ (Abb. 10).

### 1.3.3.2 Indocyaningrünangiographie

In der ICGA sind Hypofluoreszenzen in der Choroidea während der frühen und späten Phase entsprechend der choroidalen Läsionen zu beobachten [64]. Im Vergleich zur Funduskopie zeigt die ICGA in der Regel mehr entzündliche Läsionen [65]. Auch die Beteiligung der Choriokapillaris durch die erweiterten Kapillaren um die PIC-Läsionen können mit der ICGA detektiert werden (Abb. 11) [65].



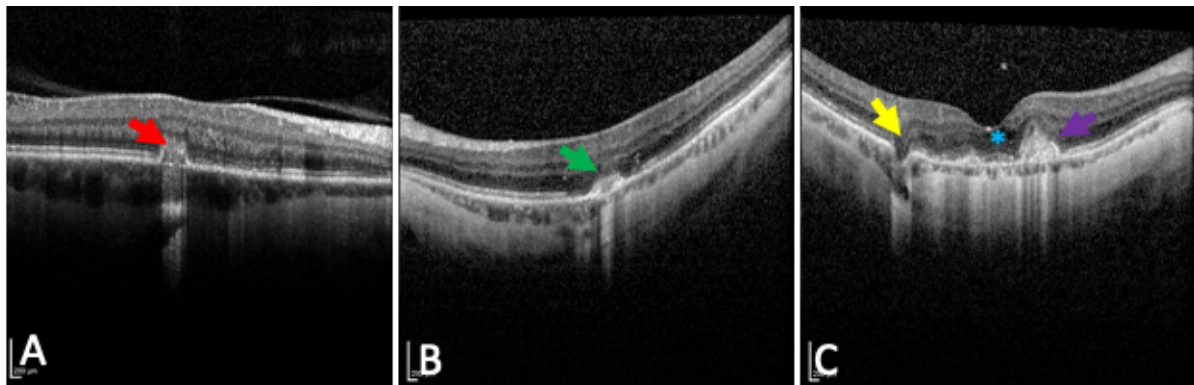
**Abb. 11. Indocyaningrünangiographie bei der punktförmigen inneren Choroidopathie. A)** Hypofluoreszente Läsionen in der Choroidea entsprechen choroidalen Neovaskularisationen. **B)** Subretinale Fibrose. **C)** Fensterdefekt. Bilder sind korrespondierend zur Abbildung 8. Quelle: eigene Bilder.

### 1.3.3.3 Optische Kohärenztomographie

Mittels OCT können aktive PIC-Läsionen als RPE-Erhöpfung mit hyperreflektivem sub-RPE Material nachgewiesen werden [60]. Je nach Krankheitsaktivität können sich die PIC-Läsionen verändern (Abb.12). Zhang et al. charakterisierten eine 5 Stadien Entwicklung der PIC-Läsionen: Im Stadium I präsentiert sich die Läsion als eine leichte Unregelmäßigkeit in der äußeren Kernschicht. Im Stadium II erscheint eine RPE-Erhöpfung mit Störungen der inneren und äußeren Photorezeptorsegmente. Wird das RPE durchbrochen und bildet sich ein chorioretinales Knötchen, welches die BM durchbrechen kann, wird das Stadium III erreicht. Anschließend erfolgt ein Gewebeverlust der Photorezeptorschicht und der inneren Choroidea mit Bildung einer V-förmigen „Hernie“ in der äußeren Körnerschicht im Stadium IV. Im letzten und Stadium V ist die Photorezeptorschicht weiter untergegangen und gleichzeitig findet eine RPE-Proliferation statt [66]. In der aktiven Phase nimmt auch die Dicke der

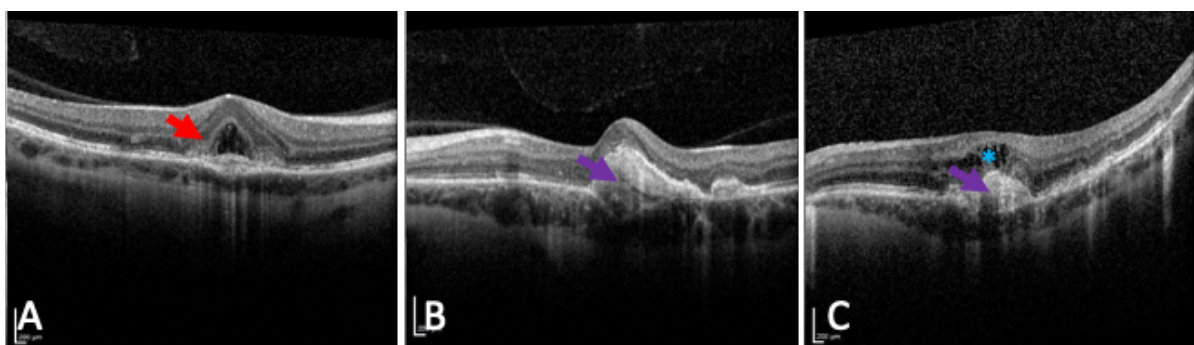
Choroidea bis zum Stadium III zu und dann wieder signifikant ab [66]. Infolgedessen eignet sich auch hier die EDI-OCT zur besseren Beurteilbarkeit der inneren Choroidea bezüglich der Krankheitsaktivität [67].

Die Limitation der OCT in der Unterscheidung zwischen einer aktiven PIC-Läsion und einer CNV. Beide verursachen eine Entzündung mit einer RPE-Erhöhung mit heterogenem Material im subretinalen als auch im sub-RPE-Raum und meistens einen Zusammenbruch der Blut-Retina-Schranke [68]. Nicht immer ist eine Blutung oder eine intraretinale bzw. eine subretinale Flüssigkeitsansammlung, wie es klassisch bei der altersbedingten Makuladegeneration zu beobachten ist, vorhanden (Abb. 13).



**Abb. 12. Optische Kohärenztomographie bei der punktförmigen inneren Choroidopathie.**

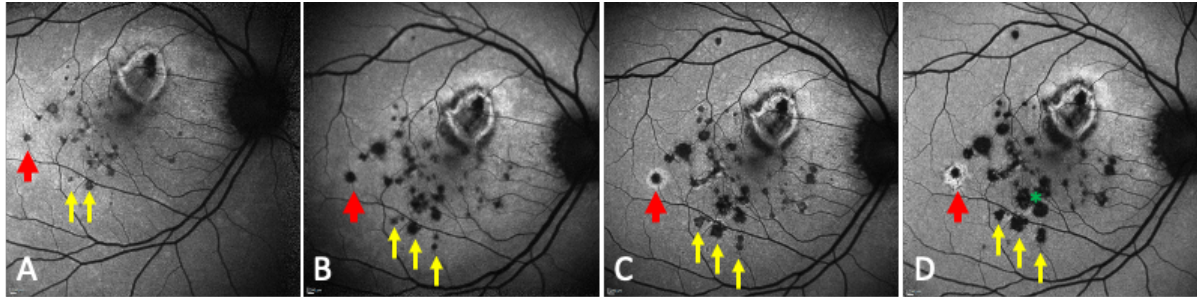
**A)** Aktives hügelartiges chorioretinales Knötchen (roter Pfeil) mit mäßiger Reflektivität unter der äußeren plexiformen Schicht mit Durchbrechung des retinalen Pigmentepithels (RPE) und der Bruch-Membran (BM). **B)** Hyperreflektives chorioretinales Knötchen (grüner Pfeil) hinreichend zum RPE und BM. **C)** Rückgebildetes chorioretinales Knötchen Richtung Choroidea (gelber Pfeil) und eine chorioretinale Neovaskularisation ähnlichem einem chorioretinalen Knötchen (lila Pfeil) mit intraretinaler Flüssigkeitsansammlung (blaues Sternchen). Quelle: eigene Bilder.



**Abb. 13. Optische Kohärenztomographie zur Detektion von chorioretinaler Neovaskularisation (CNV) bei der punktförmigen inneren Choroidopathie.** **A)** Aktive CNV mit subretinaler Flüssigkeitsansammlung (roter Pfeil). **B)** Umgewandelte CNV in subretinale Fibrose (lila Pfeil). **C)** Subretinale Fibrose und fixierter intraretinaler Flüssigkeit (blaues Sternchen). Quelle: eigene Bilder.

### 1.3.3.4 Fundusautofluoreszenz

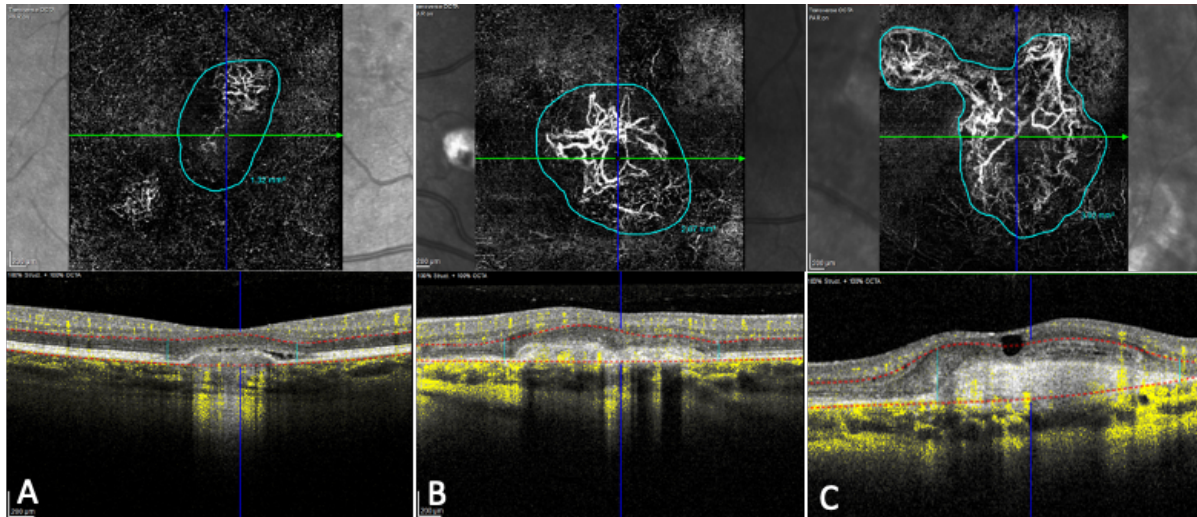
Die FAF ist eine gute Möglichkeit die Aktivität der PIC-Läsionen zu detektieren. Die aktiven PIC-Läsionen erscheinen hypoautofluoreszent mit einem hyperautofluoreszenten Rand, welcher verblasst, wenn sich die Läsionen zurückbilden [69]. Sind die Läsionen bereits atrophiert, treten sie nur als hypoautofluoreszente Flecken auf (Abb. 14) [69]. Zur FAF bei entzündlicher CNV wie bei der PIC gibt es bisher keine Literatur.



**Abb. 14. Fundusautofluoreszenz bei der punktförmigen inneren Choroidopathie. Veränderungen der chorioretinalen Läsionen im Verlauf. A)** Hypoautofluoreszente chorioretinale Läsionen (Pfeile) mit Hyperautofluoreszenz im gesamten makulären Bereich. **B)** Größenzunahme der chorioretinalen Läsionen (roter Pfeil und gelbe Pfeile). **C)** Hyperautofluoreszenz nur noch um einzelne Läsionen (roter Pfeil). Weiterhin Größenzunahme der Läsionen (gelbe Pfeile). **D)** Ähnlich wie C mit Konfluenz der Läsionen (grünes Sternchen). Quelle: eigene Bilder.

### 1.3.3.5 Optische Kohärenztomographie Angiographie

Entscheidend für eine optimale Behandlung ist die Unterscheidung einer aktiven PIC-Läsion von einer sekundären, entzündlichen CNV. Wie oben beschrieben, ist die Differenzierung in der Standardbildmodalität oft nicht ausreichend. Mit Hilfe der neuen Bildgebung, der OCTA können CNVs als ein Netzwerk von hyperreflektiven Gefäßen in der avaskulären Schicht zwischen der äußeren Netzhaut und der Choriokapillaris sichtbar gemacht werden (Abb. 15). In einer Fallserie identifizierten Levison et al. jeweils eine CNV im OCTA in 11 von 12 Patienten mit PIC und MFC [70]. Die weitere Literatur bestand nur aus zwei Fallberichten über eine Störung der Perfusion in der Choriokapillaris bei einer CNV bei PIC [71,72].



**Abb. 15. Optische Kohärenztomographie Angiographie bei der punktförmigen inneren Choroidopathie. A)** Aktive chorioretinale Neovaskularisation (CNV) als hyperreflektives Netzwerk mit nicht-perfundierendem Areal (blauer Kreis) in der avaskulären Schicht zwischen der äußeren Netzhaut und der Choriokapillaris. **B)** und **C)** CNV umgewandelt in subretinale Fibrose. Quelle: eigene Bilder.

### 1.3.4 Therapie

Die Behandlung der PIC-Erkrankung ist aus verschiedenen Gründen eine Herausforderung. Das liegt daran, dass die Patienten eine unterschiedliche Schwere der Krankheit aufweisen können. Patienten mit aktiven PIC-Läsionen ohne relevante Visuseinschränkung können zum Beispiel nur „beobachtet“ werden, da die Läsionen durchaus selbstlimitierend sind. Einige Kliniker behandeln diese aber auch mit systemischen Kortikosteroiden, da im Verlauf die Läsionen an Größe zunehmen und zu einem Visusverlust führen können [65]. Außerdem zeigte eine Studie eine Verringerung der Entwicklungsrate von CNVs in PIC-Patienten, die mit systemischen Kortikosteroiden behandelt wurden [73]. Neben der anti-entzündlichen Wirkung, weisen Kortikosteroide auch eine antiangiogene Rolle auf und verringern die endotheliale Proliferation bei der akuten CNV [74-76]. Die Applikation kann systemisch oder lokal (periokulär oder intravitreal) erfolgen [59]. Histopathologische Untersuchungen von CNVs von 6 PIC-Patienten zeigten das Vorhandensein von Lymphozyten und Plasmazellen [77]. In einer anderen Studie wurden dagegen VEGF und CD68-positive Makrophagen in der CNV nachgewiesen [78]. Daher hat das Aufkommen der anti-VEGF Therapie zu einem signifikanten Paradigmenwechsel im Management von sekundären, entzündlichen CNVs geführt. Obwohl es keine randomisierten, kontrollierten Studien zur Sicherheit und Wirksamkeit der anti-VEGF Therapie bei sekundärer, entzündlicher CNV gibt, haben kleine Fallserien vielversprechende Ergebnisse demonstriert [79-83]. Eine retrospektive, multizentrische Studie an 99 Augen mit entzündlichen CNVs (23 PIC-Augen) zeigte eine Visusverbesserung nach der Behandlung mit Bevacizumab (Off-Label) in 83% der Fälle [82]. Zhang et al. konnte ebenfalls eine Visusstabilisierung und -verbesserung in 12 PIC-Augen



nach Bevacizumab Therapie in einer prospektiven Studie bestätigen [79]. Weitere Studien mit Ranibizumab bei sekundärer, entzündlicher CNV haben ähnliche Resultate erreicht [80,83]. Eine weitere Therapieoption ist die systemische Immunmodulation, insbesondere wenn die Erhaltungsdosis von oralen Kortikosteroiden größer ist als 7,5mg oder wenn spezifische Kontraindikationen für Kortikosteroide bestehen. Eines der häufigsten verwendeten Immunsuppressiva bei PIC ist das MMF. In einer Studie konnte gezeigt werden, dass in 8 PIC-Patienten die Häufigkeit von Rezidiven unter MMF signifikant geringer war [84]. Mehreren Berichten zu Folge ist eine photodynamische Therapie (PDT) auch eine wirksame Behandlungsoption bei extrafovealen oder juxtafovealen CNVs [85,86]. Aufgrund des destruktiven Charakters ist die PDT heutzutage jedoch nur noch Therapie der 2. Wahl.

### **1.3.5 Verlauf und Prognose**

Die funktionelle Prognose bei PIC-Patienten hängt von der Lage der Läsionen und von der möglichen Entwicklung einer sekundären, entzündlichen CNV ab. Die meisten Patienten weisen einen guten Visus auf. Nur etwa ein Fünftel haben einen schlechteren Visus als 0,1 aufgrund von einer CNV und subretinalen Fibrose [51,52,77]. In einer multizentrischen, retrospektiven Studie konnten bei 2% von 4041 Augen (2307 Patienten) eine CNV beobachtet werden. Die Inzidenz zur Entwicklung einer sekundären CNV war insbesondere bei PIC viel höher als bei anderen posterioren Uveitiden (angepasster Hazard Ratio, 8.67; 95% CI, 2.83 - 26.54) [87]. Ebenfalls besteht ein erhöhtes Risiko am Partnerauge eine CNV im Verlauf zu entwickeln [59,61]. Die Ursache für einen Entzündungsschub oder Bildung einer CNV bleibt unklar. Weiterhin liegt kein Konsens zur Behandlungsindikation und Wahl des Medikamentes vor.

## **1.4 Andere White-dot-Syndrome**

Zur Vervollständigung der White-dot-Syndrome wird in diesem Abschnitt kurz auf die einzelnen Krankheitsbilder eingegangen.

### **1.4.1 Multifokale Choroiditis**

Die MFC wurde erstmals 1973 von Nozik und Dorsch beschrieben [88]. Bevorzugt tritt die MFC bei Frauen zwischen dem 40. und 50. Lebensjahr auf. Die Symptome sind verschwommenes Sehen, Floater, Photopsien und Skotome. Auch hier ist die Ätiologie ungeklärt. Charakteristisch sind multifokale, choroidale Läsionen am hinteren Pol mit einer Glaskörpertrübung und einer milden Uveitis anterior an beiden Augen. Ein asymmetrisches

Auftreten ist möglich. Komplikationen wie eine sekundäre CNV (32 - 46%), ein zystoides Makulaödem oder eine Papillitis können sich entwickeln [88,89], welche zur erheblichen Visuseinschränkung führen können und mit einer schlechteren Prognose vergesellschaftet sind. Aufgrund einer erhöhten Rezidivneigung ist eine konsequente systemische immunsuppressive Therapie unbedingt notwendig. Bei sekundärer CNV ist eine anti-VEGF Therapie vielversprechend [90].

### **1.4.2 Serpiginöse Choroiditis**

Diese Erkrankung wurde 1974 erstmalig von Laatikainen und Erkkila beschrieben [91]. Bei der SC handelt es sich um eine seltene, bilaterale, progressive, rezidivierende intraokulare Entzündung des RPEs, der Choriokapillaris und der Choroidea. Typisch sind hier unscharf begrenzte gräulich-weißliche Läsionen, peripapillärer, makulärer oder atypischer Ausprägung. Männer sind häufiger als Frauen betroffen und die Erkrankung tritt zwischen dem 40. und 60. Lebensjahr auf. Die Ätiologie ist auch hier unbekannt, aber es wurde eine Assoziation mit HLA-B7 und mit Tuberkulosebakterien beschrieben [91,92]. Neben den bekannten systemischen Immunsuppressiva können schwere Verläufe durch die Gabe von Interferon- $\alpha$ -2a deutlich verbessert werden [93]. Diese Erkrankung weist eine schlechtere Visusprognose mit einem Visus von 0,1 dezimal oder schlechter bei 25% der Patienten auf [94].

### **1.4.3 Akute posteriore multifokale plakoide Pigmentepitheliopathie**

Gass beschrieb 1968 die APMPPE als eine entzündliche Chorioretinopathie [95]. Kennzeichnend sind multiple, gelbweisse bis gräuliche plakoide Läsionen am posterioren Pol, meistens bilateral und asymmetrisch auftretend. Im Akutstadium sind die Läsionen unscharf begrenzt und können konfluieren. Im Verlauf von wenigen Wochen verblassen sie und werden atroph. Frauen und Männer sind gleichermaßen betroffen. Die Patienten berichten über verschwommenes Sehen und eine plötzliche, schmerzlose Visusminderung, ggf. mit neurologischen Symptomen wie Kopfschmerzen, Hörstörungen und Parästhesien. In diesem Fall sollte eine zentrale Vaskulitis durch eine zerebrale Magnetresonanztomographie ausgeschlossen werden. Ein Drittel der Patienten weist in der Vorgeschichte einen grippalen Infekt auf. Es gibt wohl auch hier eine erhöhte Prävalenz mit HLA-B7 und zusätzlich HLA-DR2 [96]. In der Regel ist diese Erkrankung selbstlimitierend und bedarf keiner Therapie. Sollte jedoch die Makula mitbeteiligt sein, kann eine Therapie mit systemischen Kortikosteroiden erfolgen [97].

#### **1.4.4 Multiple evanescent white dot syndrome**

MEWDS ist meist eine unilaterale Erkrankung und typischerweise sind junge, myope, gesunde Frauen im Alter von 20 bis 50 Jahren betroffen. Auch hier ist ein grippaler Infekt bei der Hälfte der Patienten vorausgehend [98]. Typischerweise berichten Patienten über parazentrale und häufig temporale Skotome, Verschwommenes Sehen, Photopsien und Dyschromatopsien [98]. Ein relativer afferenter Pupillendefekt kann vorliegen. Funduskopisch erkennt man multiple, kleine grauweiße Flecken mit einem Durchmesser von 100–200µm in der mittleren Peripherie, ggf. kann eine Vitritis und eine granuläre Erscheinung der Fovea auftreten. Wie APMPE ist MEWDS auch in aller Regel selbstlimitierend. Der Visus ist nach 7 bis 10 Wochen wiederhergestellt und Rezidive treten selten auf. Meistens entstehen auch keine Narben nach Abheilung der Läsionen.

#### **1.4.5 Akute zonale okkulte äußere Retinopathie**

AZOOR ist gekennzeichnet durch Photopsien und Skotome aufgrund einer Störung der äußeren Retina. Funduskopisch sieht man zu Anfang kaum bis minimale Veränderungen, erst im Verlauf kommt es zu einer Atrophie des RPEs und einer Pigmentverklumpung [99]. In diesem Fall ist eine elektrophysiologische Untersuchung wegweisend, da meistens auch der Visus erhalten und nur mäßig reduziert ist, und häufig auch nur ein Auge betroffen ist. Wie bei PIC und MEWDS sind überwiegend junge Frauen zwischen 13 und 63 Jahren betroffen [99]. Allerdings ist diese Erkrankung mit einer hohen Rezidivrate (ein Drittel der Patienten) und einem schlechteren Outcome verbunden aufgrund der schlechteren Regeneration der Photorezeptoren. Das Partnerauge kann im Verlauf auch betroffen sein. Eine wirksame Behandlung gibt es nicht.

### **1.5 Zielsetzung**

Im Rahmen dieser Arbeit sollen BSRC und PIC mit den folgenden Schwerpunkten analysiert werden:

- (i) Charakterisierung der T-Zellen im peripheren Blut bei Birdshot-Retinochoroiditis
- (ii) Multimodale Bildgebung bei Birdshot-Retinochoroiditis
- (iii) Multimodale Bildgebung bei punktförmiger innerer Choroidopathie
- (iv) Therapiemöglichkeiten bei Birdshot-Retinochoroiditis und bei punktförmiger innerer Choroidopathie
- (v) Auswirkungen des bevorstehenden Sehverlustes auf die Lebensqualität

## 2 Eigene Arbeiten

### 2.1 Charakterisierung der T-Zellen im peripheren Blut bei Patienten mit Birdshot-Retinochoroiditis (Originalarbeit 1)

Trombke J, Loyal L, Braun J, Pleyer U, Thiel A, **Pohlmann D**. Analysis of peripheral inflammatory T-cell subsets and their effector function in patients with Birdshot-Retinochoroiditis. Sci Rep. 2021 Apr 21;11(1):8604.

Link zur Publikation: <https://doi.org/10.1038/s41598-021-88013-0>

In dieser experimentellen Studie in Kooperation mit Prof. Andreas Thiel vom Berliner Center für Regenerative Therapien (BCRT) liegt der Fokus auf die immunologische Pathophysiologie bei BSRC. Die immunologischen Signaturen wurden anhand der Expression unterschiedlicher Chemokin-Rezeptoren mittels Durchflusszytometrie aus dem peripheren Blut von BSRC-Patienten charakterisiert.

Der nachfolgende Text (Abstract) wurde aus der Originalarbeit durch die Autorin übersetzt.

„Die Birdshot-Retinochoroiditis (BSRC) ist eine fortschreitende nicht-infektiöse intraokulare Entzündung, die die Aderhaut und Netzhaut betrifft. Entzündungsprozesse wirken sich nachteilig auf das Sehvermögen aus, da hierdurch die Photorezeptoren geschädigt werden und sich nicht mehr regenerieren können. Diese Studie zielte darauf ab, inflammatorische CD4<sup>+</sup> und CD8<sup>+</sup> T-Zell-Subpopulationen im peripheren Blut von aktiven und inaktiven BSRC-Patienten zu charakterisieren. Darüber hinaus korrelierten wir phänotypische und funktionelle immunologische Analysen mit klinischen Daten.

Wir beobachteten im Blut von inaktiven BSRC-Patienten eine leichte Zunahme von CD8<sup>+</sup> terminal differenzierten Effektor-Gedächtnis T-Zellen, welche CD45 exprimieren (TEMRA), im Vergleich zu aktiven BSRC-Patienten. Darüber hinaus identifizierten wir einen Trend zu einer verringerten T<sub>H</sub>2-Population und einer erhöhten T<sub>H</sub>1-Frequenz bei aktiven BSRC-Patienten, welches ein typisches Zeichen für fortlaufende Autoimmunprozesse darstellt. Funktionelle Assays zeigten eine schwere und allgemeine Beeinträchtigung der Effektorfunktion, sowohl von CD4<sup>+</sup> als auch von CD8<sup>+</sup> inflammatorischen T-Zellen, die die Erschöpfung von T-Zellen widerspiegeln könnte. Obwohl das Auge den Hauptort der Entzündung bei BSRC darstellt, beobachteten wir je nach Krankheitsstatus veränderte Zusammensetzungen der T-Zell-Subpopulationen im peripheren Blut.

Unsere Ergebnisse deuten darauf hin, dass die T-Zellen eine wichtige Rolle in der BSRC-Pathologie spielen können, obwohl unsere Kohortengröße für definitive Schlussfolgerungen zu begrenzt ist. Weitere Studien mit einer größeren Anzahl an BSRC-Patienten sollten durchgeführt werden.“



OPEN

# Analysis of peripheral inflammatory T cell subsets and their effector function in patients with Birdshot Retinochoroiditis

Janine Trombke<sup>1,2</sup>, Lucie Loyal<sup>1,2,3</sup>, Julian Braun<sup>1,2</sup>, Uwe Pleyer<sup>2</sup>, Andreas Thiel<sup>1,2,3</sup> & Dominika Pohlmann<sup>2,4</sup>✉

Birdshot Retinochoroiditis (BSRC) is a progressive non-infectious intraocular inflammation that affects choroid and retina. Inflammatory processes have adverse effects on vision by affecting photoreceptor-bearing cells that do not regenerate. This study aimed at characterizing inflammatory CD4<sup>+</sup> and CD8<sup>+</sup> T cell subsets in the peripheral blood of active and inactive BSRCs. Furthermore, we correlated phenotypical and functional immunological analyses with clinical data. We observed a slight increase of terminally differentiated effector memory CD8<sup>+</sup> T cells expressing CD45RA (T<sub>EMRA</sub>) in blood of inactive, compared to active BSRCs. Moreover, we identified a trend for a decreased population of T<sub>H2</sub> cells and increased T<sub>H1</sub> frequencies in active BSRCs, a typical sign of ongoing autoimmune processes. Functional assays demonstrated severe and overall impairment of effector function of both, CD4<sup>+</sup> and CD8<sup>+</sup> inflammatory T cells, which might reflect T cell exhaustion. Although the eye is the main site of inflammation in BSRC, we observed altered T cell subset compositions in the peripheral blood, dependent on the disease status. Our results indicate that T cells may play a major role in BSRC pathology, although our cohort size is too limited for definitive conclusions. Future studies with larger BSRCs have to be performed.

Birdshot Retinochoroiditis (BSRC) is a rare form of non-infectious posterior uveitis, in which recurrent inflammatory episodes affect retina and stromal choroid<sup>1</sup>. Patients with BSRC present with mainly bilateral typical hypopigmented choroidal 'birdshot lesions' around the fundus, which are suspected to be associated with the formation of lymphocytic aggregations (foci) in the choroid, optic nerve, and along the retinal vasculature<sup>2</sup>. Clinically, the patients suffer from floater, blurred vision, and sensitivity to light (photopsia). Over the many years of the course of the disease, the patients develop visual impairment including decreased visual acuity, peripheral vision, blindness at night (nyctalopsia) and blindness for colors (dyschromatopsia). Although this rare disease is clinically well characterized, the etiology and the pathophysiology of BSRC remain uncertain.

Evidences from human and mouse studies suggest that both, the innate and adaptive immune system contribute to the manifestation of non-infectious posterior uveitis, like BSRC<sup>3-5</sup>. Due to the strong association of BSRC to the human lymphocyte antigen (HLA) class I A\*29.2 (relative risk of 224.35), a particular role in disease pathology can be attributed to T cells<sup>6</sup>. Indeed, analyses of vitreous fluids revealed the presence of retina and choroid-reactive intraocular CD4<sup>+</sup> and CD8<sup>+</sup> T cells in disease-active BSRC eyes proving their presence in an ongoing auto-inflammatory response<sup>8</sup>. Kuiper and colleagues further strengthened this body of evidence by the discovery of certain polymorphisms in the endoplasmic reticulum aminopeptidase (ERAP) gene of BSRC patients leading to imbalanced ERAP 1 and 2 function, thus influencing peptide-presentation of HLA-A\*29 to T cells<sup>7</sup>. ERAP enzymes are necessary to process peptides for loading onto major histocompatibility complex I (MHC-I) on nucleated cells prior to surface transport. MHC-I presented peptides in turn are then recognized by CD8<sup>+</sup> T cells that can initiate an immune response, thus generating immunological memory. Further supportive evidences

<sup>1</sup>Regenerative Immunology and Aging, BIH Center for Regenerative Therapies, Charité Universitätsmedizin Berlin, Berlin, Germany. <sup>2</sup>Charité-Universitätsmedizin Berlin, Corporate Member of Freie Universität Berlin and Humboldt-Universität Zu Berlin, Augustenburger Platz 1, 13353 Berlin, Germany. <sup>3</sup>Si-M/"Der Simulierte Mensch" a Science Framework of Technische Universität Berlin and Charité-Universitätsmedizin Berlin, Berlin, Germany. <sup>4</sup>Berlin Institute of Health at Charité-Universitätsmedizin Berlin, Charitéplatz 1, 10117 Berlin, Germany. ✉email: dominika.pohlmann@charite.de

were presented in studies showing improvement of ocular inflammation and visual acuity by corticosteroid-sparing immunomodulatory therapies<sup>8–16</sup>.

It was shown that the CD4<sup>+</sup> T helper subset T<sub>H</sub>17 might be important to sustain chronic inflammation in various autoimmune diseases, such as psoriasis, inflammatory bowel disease, rheumatoid arthritis, and multiple sclerosis<sup>17–20</sup>. In line with these studies, T cells of BSRC patients produced IL-17 in response to human and choroid lysate and IL-17 secreting CD4<sup>+</sup> and CD8<sup>+</sup> T cells have been demonstrated to be enriched in the periphery of BSRC patients<sup>21–23</sup>. In addition, increased IL-17 and pro-inflammatory cytokines were presented in aqueous humor and serum of BSRC patients, suggesting IL-17 pathway activity<sup>4,24</sup>. However, most of these results were only noticeable in disease-active, treatment-naïve BSRC patients only. This may hint at a role rather in the establishment of auto-inflammatory episodes in BSRC pathology and excludes IL-17 producing T cells as marker for BSRC disease activity. Other cellular parameters have to be identified as markers for disease activity.

Several studies utilized distinct chemokine receptor expression patterns to describe multiple subsets of CD4<sup>+</sup> and CD8<sup>+</sup> T cells<sup>25,26</sup>. Chemotactic receptors might give additional or more precise information about the abundance and origin of certain peripheral T cell compartments in BSRC disease. To gain insights in the T cell biology of BSRC, we conducted a study enrolling 11 BSRC patients that underwent clinical examination using multimodal imaging techniques and disease staging<sup>27</sup>. In parallel, we examined the abundance of certain memory T cell subsets. To assess relevant CD4<sup>+</sup> and CD8<sup>+</sup> T cell subsets, we analyzed the cell fractions directly ex vivo by multi-color staining of a set of chemokine receptors (CCR7, CXCR3, CCR4, CCR6 and CCR10)<sup>26</sup>. Comparison of immunological parameters to control donors reflected an altered composition of the T cell compartment of BSRC patients indicating that the disease could be monitored via phenotyping peripheral T cell populations. We furthermore correlated the resulting immunological phenotype with the clinical presentation of each BSRC patient on the sample collection day, intending to identify different immune signatures during clinical active or inactive state of disease.

## Methods

**Patients and study design.** In our pilot study, we examined 11 patients (22 eyes) with BSRC. The diagnosis of BSRC was made according to the research criteria of the international consensus conference<sup>28</sup>. All patients with BSRC were previously tested for HLA-A29.2 allele positivity. Clinical examination was performed using multimodal standard imaging techniques, as previously published<sup>27</sup>. On the clinical examination day, visual acuity (VA), findings on slit lamp, indirect fundoscopy, spectral-domain optical coherence tomography (SD-OCT), fluorescein angiography (FA), and indocyanine green angiography (ICGA) were recorded. ICGA images were analyzed for the presence of hypofluorescent dots<sup>27</sup>. SD-OCT, FA, and ICGA were performed on the spectral-domain OCT (SPECTRALIS, Heidelberg Engineering, Heidelberg, Germany). Fundus photographs were taken with Zeiss FF 450+. In parallel, 30 mL blood was collected from each BSRC patient and subjected to flow cytometric analysis of surface markers for inflammatory T cell subsets and for their effector function upon polyclonal stimulation. The study was performed in accordance with the Declaration of Helsinki and approved by the local ethics committee (Ethikkommission der Charité- Universitätsmedizin Berlin) (EA2/148/15). Written informed consent was obtained from each participating patient before blood sampling.

**Clinical parameters used for the study.** The ocular inflammation was classified according to the Standardization of Uveitis Nomenclature (SUN) Working Group criteria<sup>28,29</sup>. Data of indirect fundoscopy were used to determine the degree of cell infiltration e.g. vitreous haze (VH) per eye. The degree of VH is classified as no infiltration = 0, very mild = 0.5, mild = 1, moderate = 2 and severe = 3. SD-OCT was used to determine deep resolution structural information, such as cystoid macular edema (CME) and central retinal thickness (CRT). CME was defined as the presence of intraretinal or subretinal fluid. FA and ICGA were simultaneously performed and analyzed by using proposed scoring system to classify the active intraocular inflammatory process by retinal, macular and optic disc leakage<sup>30,31</sup>. The degree of retinal leakage is classified as focal = 1 or diffuse = 2. The degree of macular leakage is classified as no perifoveal hyperfluorescence = 0, incomplete perifoveal hyperfluorescence = 1, mild 360° hyperfluorescence = 2, moderate 360° hyperfluorescence = 3, severe 360° hyperfluorescence with the hyperfluorescent area being approximately 1.5 disc diameter across = 4<sup>30,31</sup>. ICGA images were analyzed for the presence of hypofluorescent dots as sign for activity<sup>32</sup>. Four out of 11 patients were repeatedly (2-time points) analyzed in order to follow the course of the disease. The control cohort consisted of healthy mid-aged as well as elderly volunteers with Fuchs Endothelial Corneal Dystrophy (FECED) (n = 14).

**Blood sampling.** Per study participant, 30 mL blood was collected in Li-heparin vacutainer tubes (BD, USA). Blood was diluted 1:1 with PBS/BSA and peripheral blood mononucleated cells (PBMCs) were separated by Bicol-Paque (Biochrom, Germany) gradient centrifugation (20 min, 850xg at RT).

**PBMC culture.** *In-vitro* polyclonal activation was performed with fresh PBMCs that rested overnight in culture medium, consisting of RPMI 1640 (Gibco, USA) supplemented with 10% heat inactivated human AB-serum (Lonza, Switzerland), 100U penicillin and 0.1 mg/ml streptomycin (Biochrom, Germany). 5 × 10<sup>6</sup> PBMCs/ml were either left unstimulated and served as control or were stimulated in culture medium supplemented with 10 ng/ml PMA and 1 µg/ml ionomycin (Sigma, Germany) for 6 h in an incubator (37 °C, humidified 5% CO<sub>2</sub>). After 2 h of stimulation, 2 µg/ml Brefeldin A (Sigma, Germany) was added to all samples.

**Flow cytometry.** 1 × 10<sup>7</sup> PBMCs were labelled ex vivo on the cell surface with fluorescent monoclonal antibodies titrated to their optimal concentration: CD4-A700 (RPA-T4, BD, USA), CD8-V500 (RPA-T8, BD, USA) and CD45RA-PeCy7 (HI100, Biologend, USA), CCR7-A488 (G043H7, Biologend, USA), CCR4-PerCpCy5.5

Patient	Age	Gender	Year of diagnosis	Disease status	Prior treatment	Current treatment	New switched treatment	Comorbidity
1	66	F	2006	Inactive	Corticosteroids	MFF	Adalimumab	
2	58	M	2003	Inactive	Corticosteroids	CSA	Adalimumab	Diabetes mellitus Typ II
3	59	M	2008	Active	Corticosteroids, CSA	MFF	Adalimumab	
4	65	F	2009	Inactive	Corticosteroids, CSA	MMF	Adalimumab	
5	63	F	1999	Inactive	Corticosteroids, CSA, MMF, adalimumab	–	–	
6	56	F	2015	Active	Corticosteroids, CSA	MMF	–	
7	72	F	1994	Inactive	Corticosteroids	MMF	–	
8	73	M	2015	Inactive	MFF	MMF	–	
9	59	F	2008	Active	Corticosteroids	–	–	
10	57	F	2016	Active	Corticosteroids	–	–	
11	39	M	2015	Active	Corticosteroids	CSA	–	Beta-Thalassemia

**Table 1.** Patients characteristic. CSA ciclosporine A, MFF mycophenolate mofetil.

(L291H4, Biolegend, USA), CCR6-BV605 (G03E3, Biolegend, USA), CCR10-PE (6588-5, Biolegend, USA), and CXCR3-A647 (G025H7, Biolegend, USA) for 15 min in the dark. For dead cell exclusion, 0.4  $\mu$ M DAPI was added directly prior measurement. All stainings were performed in the presence of 1 mg/ml Beriglobin (CSL Behring, USA). All steps were performed at room temperature.

For the detection of cytokines, stimulated and unstimulated PBMCs were washed twice with PBS and dead cells were subsequently stained with FarRed (Molecular Probes, USA) for 20 min in the dark. Following surface staining antibodies were added during the last 10 min of the staining: Panel 1A: CD8-V500 (RPA-T8, BD, USA), CD4-PerCpCy5.5 (OKT 4, Biolegend, USA), CD45RO-BV785 (UCHL1, Biolegend), CCR7-A488 (G043H7, Biolegend, USA). Panel 2A: CD4-A700 (RPA-T4, BD, USA), CD8-V500 (RPA-T8, BD, USA), CD3-PE (UCHT 1, home), CD45RA-PeCy7 (HI100, Biolegend, USA), CCR7-A488 (G043H7, Biolegend, USA) followed by fixation and permeabilization with FACS-lysing/-perm2 solution (BD, USA) according to the manufacturer's protocol. Intracellular staining was conducted for 30 min in the dark with: Panel 1B: CD40L-APC (5C8, Miltenyi, Germany), IFN- $\gamma$ -A700 (B27, BD, USA), IL-17-APCCy7 (BL168, Biolegend, USA), IL-4-PE (8D4-8, Biolegend, USA), IL-22-efl450 (22URTI, eBioscience, USA), IL-2-PeCy7 (MQ1-17H12, Biolegend, USA), CD3-efl605 (OKT3, eBioscience, USA). Panel 2B: TNF- $\alpha$ -PerCpCy5.5 (Mab11, Biolegend, USA), and CD69-PB (FN50, Biolegend, USA), CD40L-APC (5C8, Miltenyi, Germany).  $2.5 \times 10^6$  PBMCs were recorded on LSR II (BD, USA) flow cytometer, except unstimulated controls where  $1 \times 10^6$  PMCs were recorded. LSR II was equipped with 4 lasers and 15 fluorescent detection channels. Rainbow Calibration particles (6-peaks, BD, USA) were acquired daily, to ensure constant laser and measurement parameters. In brief, the high and low intensity bead populations for 5 different channels have to position into pre-defined gates and form sharp peaks, with a robust Coefficient of Variation, (rCV) below 5%. Acquired FACS data sets were analysed with Flowjo version 10 (Tree Star, USA).

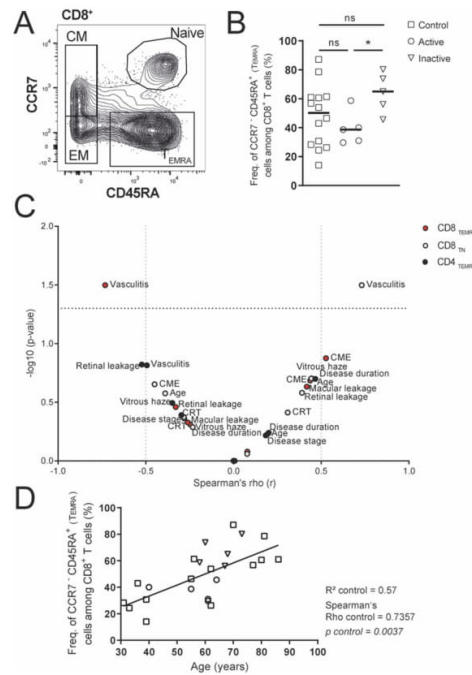
**Statistical analysis.** All data were analyzed using R or GraphPad Prism 7 (GraphPad Software, La Jolla, CA). We used Student's t-test with Welch's correction, Mann Whitney U Test, one-way ANOVA, and Spearman's Rho correlation coefficient. A significant p-value was defined as  $p \leq 0.05$ . Particular test usage is indicated in the figure legends.

## Results

**Patient characteristics.** Eleven patients with BSRC were examined at the Department of Ophthalmology, Charité Berlin. All patients were Caucasians and showed HLA-A29.2 positivity (100%). Seven patients were female (64%, 7/11), and the mean age was  $60 \pm 9$  years (range 39–73) on the examination day. All 11 patients were healthy at the day of blood collection, except for their ocular symptoms. The control cohort was initially selected to cover the typical age range of BSRC patients<sup>1,5</sup>, hence the control group consisted of healthy mid-aged volunteers and elderly subjects with FECD ( $n = 14$ , mean 60 years, range 31–87).

**Group classification.** Based on previous studies, BSRC patients were classified in two groups: active and inactive disease<sup>27</sup>. We identified 10 eyes of 5 patients with retinal vascular leakage, hyperfluorescence of the disc in FA, and manifestation of dark dots in ICGA, which were summarized into the active intraocular inflammatory group. 12 eyes of 6 patients demonstrated no retinal vascular leakage in FA and dark dots in ICGA, and were thus graded as inactive intraocular inflammatory group. These eyes revealed an inactive, end-stage disease because of altered vascular architecture and retinal thinning<sup>27</sup>. Three eyes revealed a chronic CME, which last over years without any signs of vasculitis or choroiditis, so that these patients were graded as inactive. The patients of the inactive disease cohort have an average disease duration of 13 years compared to 4 years in patients with active disease. Most of the patients were on systemic immunosuppressive treatments: antimetabolites—mycophenolate mofetil (MMF): 4/11 (36%), calcineurin inhibitor—ciclosporine A (CsA): 1/11 (9%), prednisolone < 10 mg per day: 1/11 (9%), and MMF combined with prednisolone < 10 mg per day: 2/11 (18%). A total of 4 of 11 patients (36%) received adalimumab, a tumor necrosis factor-alpha inhibitor. More details about patients' characteristics are presented in Table 1.





**Figure 1.** The activity state of BSRC affects peripheral CD8<sup>+</sup> T<sub>EMRA</sub> cells. **(A)** Exemplary strategy of gating CD8<sup>+</sup> T-cell stages: T<sub>CM</sub> (CCR7<sup>+</sup>CD45RA<sup>-</sup>), T<sub>EM</sub> (CCR7<sup>-</sup>CD45RA<sup>-</sup>), naïve (CCR7<sup>+</sup>CD45RA<sup>+</sup>), and T<sub>EMRA</sub> (CCR7<sup>-</sup>CD45RA<sup>+</sup>). **(B)** Blood analysis of peripheral CD8<sup>+</sup> T<sub>EMRA</sub> cells from controls compared to disease-active and -inactive BSRC patients. Lines indicate the median. Statistical analysis was performed using Student's t-test with Welch's correction ( $p < 0.05^*$ ). **(C)** Volcano plot ( $-\log_{10}$ ) shows Spearman's Rho correlation coefficient of immunological *versus* clinical parameters of significant altered CD4<sup>+</sup> and CD8<sup>+</sup> T-cell populations in BSRC patients. **(D)** Linear regression of CD8<sup>+</sup> T<sub>EMRA</sub> cells with age of active and inactive BSRC patients and control probands. The population of CCR7<sup>-</sup>/CD45RA<sup>-</sup> was in one inactive patient absent, therefore the **(B)** and **(D)** include  $n = 5$  inactive patients. BSRC birdshot retinochoroiditis, CM central memory, CME cystoid macula edema, CRT central retinal thickness, EM effector memory, *Freq.* frequency, NS not significant, TEMRA terminally differentiated effector memory CD45RA<sup>+</sup> T cells.

**Peripheral CD8<sup>+</sup> T<sub>EMRA</sub> T cell populations are enriched in patients with inactive BSRC disease.** To achieve an efficient discrimination of peripheral naïve and memory T cell phenotypes and to delineate the composition of inflammatory subsets among CD4<sup>+</sup> helper (T<sub>H</sub>) and cytotoxic CD8<sup>+</sup> T cells (T<sub>C</sub>) of our BSRC cohort, we examined the expression of 6 different surface markers by flow cytometry (CCR7, CD45RA, CXCR3, CCR4, CCR6, CCR10) in freshly isolated peripheral T cells.

The averaged proportions of CD4<sup>+</sup> (55%) and CD8<sup>+</sup> (21%) T cells among living lymphocytes were similar between the BSRC patient group and age-matched controls (49.6% and 19.8%; data not shown). According to the expression of CD45RA and CCR7, naïve, and memory T cell subsets were identified within the CD4<sup>+</sup> and CD8<sup>+</sup> T cell compartments, respectively: CCR7<sup>+</sup>CD45RA<sup>+</sup> naïve T cells, CCR7<sup>+</sup>CD45RA<sup>-</sup> central memory T cells (T<sub>CM</sub>), CCR7<sup>-</sup>CD45RA<sup>-</sup> effector memory cells (T<sub>EM</sub>) and CCR7<sup>-</sup>CD45RA<sup>+</sup> T<sub>EMRA</sub> cells (gating strategy exemplified in Fig. 1A). Analysis of naïve vs. T<sub>CM</sub>, T<sub>EM</sub>, and T<sub>EMRA</sub> memory T cell populations revealed significant differences in naïve vs. terminally differentiated T<sub>EMRA</sub> CD8<sup>+</sup> T cells within the BSRC group (Fig. 1B,C). Although median frequencies plus ranges of T<sub>EMRA</sub> CD8<sup>+</sup> T cells were similar between BSRC patients and the aged-matched control group (BSRC: median: 48% (30–80); control: median: 51.8% (14–87)), intragroup differences of the BSRC cohort were identified when disease activity was considered. Compared to the active disease group and treatment independent ( $p = 0.40$ ) (Supplementary Fig. S1), BSRC patients with inactive disease displayed an increased T<sub>EMRA</sub> population in blood (median active: 39.6% to inactive: 64.1%,  $p = 0.01^*$ ). The population of CCR7<sup>-</sup>/CD45RA<sup>-</sup> was absent in one inactive patient, therefore the Fig. 1B,D include  $n = 5$  inactive patients. But this patient had CCR7<sup>+</sup>/CD45RA<sup>-</sup> cells, so further analysis could be conducted. Although not significant, we observed a tendency for an even higher median frequency of the CD8<sup>+</sup> T<sub>EMRA</sub> population in inactive eyes (median: 64.1%) compared to the control group (median: 51.8%) (Fig. 1B,  $p = 0.08$ ), suggesting a trend for accumulation of T<sub>EMRA</sub> cells in disease-inactive episodes of BSRC disease. We observed a correlation of CD8<sup>+</sup> T<sub>EMRA</sub> frequencies with age in the control group (Spearman's  $Rho = 0.73$ ,  $p = 0.003^{**}$ ; Fig. 1D), but not in the BSRC group (Spearman's  $Rho = 0.43$ ,

$p = 0.13$  ns; Fig. 1D). The BSRC patients belong to the same age group, and hence the differences in  $CD8^+ T_{EMRA}$  frequencies can be attributed rather to disease state. 5/5 data points of the inactive group led profoundly over the  $R^2$  linear regression line, whereas 4/5 data points of the active group led under the  $R^2$  linear regression line, suggesting the possibility that  $CD8^+ T_{EMRA}$  T cells indicate disease status of BSRC disease (Fig. 1D). Extended analysis of possible correlations of frequencies of  $CD8^+ T_{EMRA}$  cells with clinical parameters of BSRC patients in a volcano plot showed a negative correlation with the presence of intraocular vasculitis (Spearman's  $Rho = -0.73$ ,  $p = 0.03$  \*; Fig. 1C), but correlated only weakly negative and insignificantly with other active disease parameters, such as the presence of intraocular VH (Spearman's  $Rho = -0.25$ ,  $p = 0.49$  ns), CRT (Spearman's  $Rho = -0.30$ ,  $p = 0.47$  ns), retinal leakage (Spearman's  $Rho = -0.33$ ,  $p = 0.35$  ns), CME (Spearman's  $Rho = 0.54$ ,  $p = 0.13$  ns), macular leakage (Spearman's  $Rho = 0.42$ ,  $p = 0.23$  ns), optic disc leakage (Spearman's  $Rho = 0.08$ ,  $p = 0.87$  ns), and disease duration (Spearman's  $Rho = 0.44$ ,  $p = 0.20$  ns) (Fig. 1C). In contrast to the increased  $CD8^+ T_{EMRA}$  cell population observed in inactive BSRC patients, active BSRC patients showed a significantly increased naive  $CD8^+ T$  cell population in blood (median 34.9%) compared to disease-inactive BSRC patients (11.8%,  $p = 0.01$  \*) and controls (22%,  $p = 0.03$  \*) (data not shown), that correlated significantly positive with vasculitis (Spearman's  $Rho = 0.73$ ,  $p = 0.03$  \*; Fig. 1C). Furthermore, we found weak positive correlations with clinical measures of active disease: VH (Spearman's  $Rho = 0.44$ ,  $p = 0.20$ , ns), retinal, and macular leakage (Spearman's  $Rho = 0.39$ ,  $p = 0.26$ , ns). Moreover, we noted a similar tendency for increased proportions of  $T_{EMRA} CD4^+ T$  cells in inactive BSRC patients (median: 1.7%) compared to active BSRC patients (0.5%) and controls (0.9%) (data not shown) that was again independent from treatment and trended towards a similar correlation pattern as observed for  $CD8^+ T_{EMRA}$  (Fig. 1C).

**Signs of an imbalanced  $T_H1/T_H2$  subsets in patients with active eyes.** To assess the potential contribution of different  $CD4^+$  and  $CD8^+$  T cell subsets in BSRC pathogenesis, we further analyzed the circulating T cell memory compartment for inflammatory subsets. The combined  $CD45RA^- T_{CM}$  and  $T_{EM}$  memory T cell gates were further subdivided into the  $CD4^+$  helper and cytotoxic  $CD8^+$  T cell subsets  $T_H1/T_C1$ ,  $T_H2/T_C2$ ,  $T_H17.1/T_C17.1$ ,  $T_H17/T_C17$ ,  $T_H22/T_C22$  using chemokine receptors: CXCR3, CCR4, CCR6, and CCR10 (Fig. 2A,B), as previously described<sup>26</sup>.

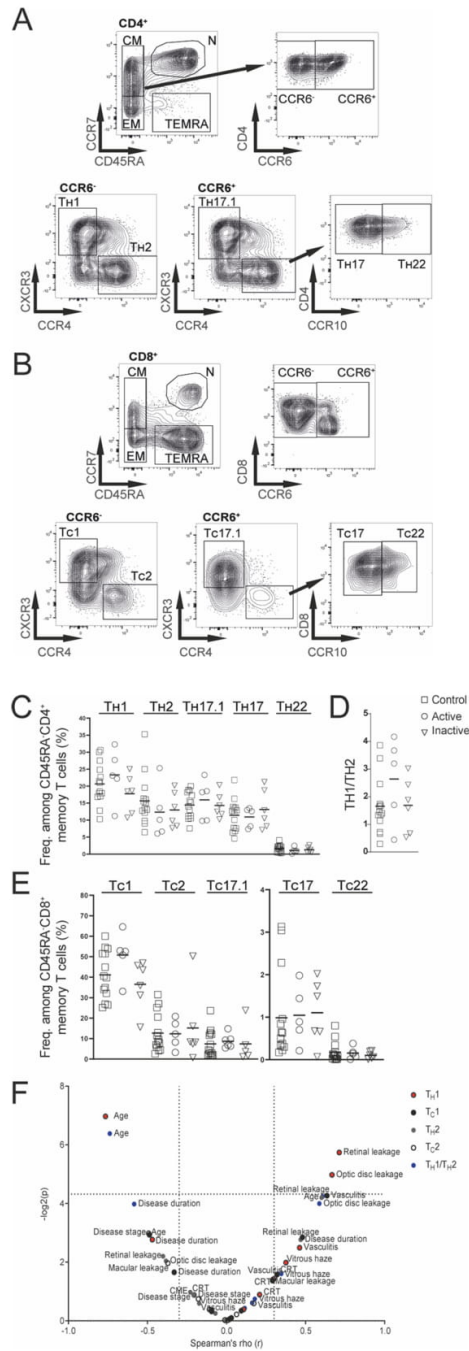
Within the BSRC patient group having active disease, we observed tendency for a predominance of CXCR3<sup>+</sup> T cell subsets  $T_H1/T_C1$ ,  $T_H17.1/T_C17.1$  among both,  $CD4^+$  (median  $T_H1$ : 23.1% and  $T_H17.1$ : 18.2%;  $p = ns$ ) and  $CD8^+$  T cell fractions (median  $T_C1$ : 52.6% and  $T_C17.1$ : 8%;  $p = ns$ ) compared to the control group (median  $T_H1$ : 19.7% and  $T_H17.1$ : 14.65%;  $T_C1$ : 40.1% and  $T_C17.1$ : 4.1%) (Fig. 2C–E). In contrast, BSRC patients with inactive disease rather resembled the frequencies of inflammatory T cell subsets of control probands (median  $T_H1$ : 18.5% and  $T_H17.1$ : 13.4%;  $T_C1$ : 39.7% and  $T_C17.1$ : 3.36;  $p = ns$ ), except a slightly increased frequency of  $T_C17$  cells (median 1.08%) compared to the control group (median 0.56%;  $p = ns$ ). Of note, we found a slight, insignificant trend for an increased CCR6<sup>+</sup>  $CD4^+$  ( $p = 0.39$ ) and  $CD8^+$  T cells ( $p = 0.69$ ), of which  $T_{H/C}17$ ,  $T_{H/C}17.1$  and  $T_{H/C}22$  subsets were gated (Supplementary Figs. S2) compared to the control group. Furthermore, we found tendencies for a skewed  $T_H1/T_H2$  ratio in the active BSRC patient group, which was absent in the inactive BSRC patient group (Fig. 2D). Correlation of CXCR3<sup>+</sup> inflammatory T cell populations  $T_H1$ ,  $T_C1$ , and  $T_C17.1$  with clinical parameters revealed positive correlations in the volcano plot for these subsets with clinical parameters of an ongoing inflammatory episode in BSRC eyes, such as retinal leakage, optic disc leakage, and the degree of severity of the disease (Fig. 2F), although lacking significance.

**Analysis of T cell effector function.** Next, we compared the overall effector function of peripheral memory T cells of BSRC patients and the control group upon in vitro polyclonal stimulation using phorbol 12-myristate 13-acetate (PMA) and ionomycin. We assessed the capacity of the memory T cell pool to produce effector cytokines by intracellular staining of IFN- $\gamma$  and TNF- $\alpha$  (mainly secreted cytokines of  $T_H1/T_C1$  and  $T_H17.1/T_C17.1$  polarized cells); IL-2, IL-4 ( $T_H/T_C2$ ), IL-17 ( $T_H17.1/T_C17.1$ ;  $T_H17/T_C17$ ;  $T_H22/T_C22$ ), and IL-22 ( $T_H22/T_C22$ ) according to the preceding ex vivo characterization<sup>26</sup>. The evaluation of the intracellular staining of different cytokines derived from the  $CD45RO^+ CD4^+$  and  $CD8^+$  memory T cell populations (Fig. 3A–D) indicated a reduced potential of BSRC patients to produce certain effector cytokines upon polyclonal stimulation compared to the control group (upper rows compared to lower), which was independent of disease activity (data not shown). Especially the levels of IFN- $\gamma$  ( $p = 0.02$  \*), IL-2 ( $p = 0.03$  \*), and IL-22 ( $p = 0.04$  \*) of  $CD45RO^+ CD4^+$  memory T cells were significantly decreased (Fig. 3B). The amount of TNF- $\alpha$  reached a close to significant difference ( $p = 0.07$ ) between the patient cohort and the control probands. This trend continued in the  $CD45RO^+ CD8^+$  T cell population of the BSRC patient group. Here, we observed also significantly lower IFN- $\gamma$  ( $p = 0.007$  \*\*), TNF- $\alpha$  ( $p = 0.01$  \*), and IL-4 ( $p = 0.03$  \*) levels, compared to the control group (Fig. 3D).

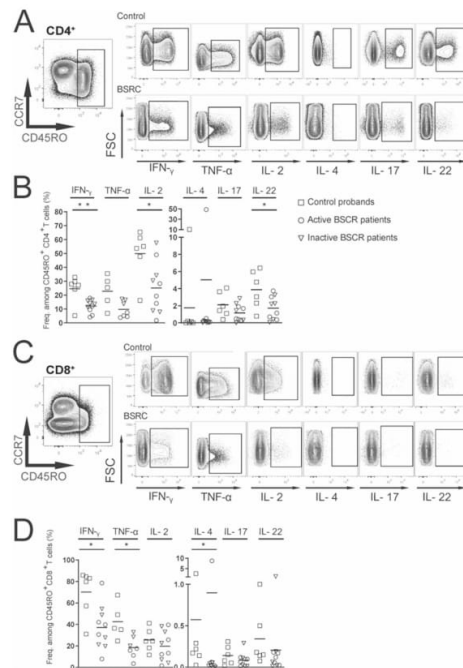
## Discussion

This pilot study represents a deep-phenotyping of various inflammatory memory T cell fractions in the peripheral blood of BSRC patients with active and inactive stage of disease and their comparison to control probands with an age range covering the typical age range of BSRC. We evaluated the composition of the circulating T cell compartment directly ex vivo and furthermore assessed the capacity of the memory T cell compartment to exert effector function upon polyclonal stimulation by measuring cytokine secretion profiles using flow cytometry.

First, we identified a slight increase of  $CD45RA$ -expressing  $CD8^+$  T cells ( $T_{EMRA}$ ) in blood of the inactive, end-stage group compared to the active group, although our sample size is too small to draw clear conclusions. Several studies characterized  $T_{EMRA}$  cells as low IL-2 producer and high IFN- $\gamma$  and TNF- $\alpha$  secretor, accompanied by a high cytotoxicity and a high sensitivity to apoptosis<sup>33–35</sup>. Expansion of pathogenic  $T_{EMRA}$  cells have been proven in a variety of diseases from autoimmunity (multiple sclerosis, lupus) to allotransplantation and



**Figure 2.** Inflammatory T-cell subsets in BSRC blood. (A) CD4<sup>+</sup> and (B) CD8<sup>+</sup> CD45RA<sup>-</sup> central and effector memory T cells were used to gate CCR6<sup>+</sup> and CCR6<sup>-</sup> fractions. CCR6<sup>-</sup> cells were distinguished in T<sub>H1</sub>, based on CXCR3 expression or T<sub>H2</sub>, based on CCR4 expression. CCR6<sup>+</sup> cells were distinguished in T<sub>H17.1</sub>, based on CXCR3 expression and T<sub>H17</sub> and T<sub>H22</sub> subsets were gated based on CCR4 and CCR10 expression. (C) Lines show median frequencies of CD4<sup>+</sup> T<sub>H1</sub>, T<sub>H2</sub>, T<sub>H17.1</sub>, T<sub>H17</sub> and T<sub>H22</sub> T-cell subsets of controls and active/inactive BSRC patients. (D) The frequencies of T<sub>H1</sub> and T<sub>H2</sub> fractions were used to calculate a T<sub>H1</sub>/T<sub>H2</sub> ratio. (E) Lines show median frequencies of CD8<sup>+</sup> T<sub>C1</sub>, T<sub>C2</sub>, T<sub>C17.1</sub>, T<sub>C17</sub> and T<sub>C22</sub> T-cell subsets. (F) Volcanoplot (-log<sub>10</sub>) shows Spearman's Rho correlation coefficient of immunological versus clinical parameters of T<sub>H1</sub>, T<sub>H2</sub>, T<sub>C1</sub>, T<sub>C2</sub> T-cell populations and T<sub>H1</sub>/T<sub>H2</sub> ratio of BSRC patients. BSRC birdshot retinochoroiditis, CM central memory, CME cystoid macula edema, CRT central retinal thickness, EM effector memory, N naive, T<sub>C</sub> cytotoxic T cell, T<sub>H</sub> T-helper, TEMRA terminally differentiated effector memory CD45RA<sup>+</sup>.



**Figure 3.** Reduced potential of BSRC memory T-cells to exert effector function. (A) Exemplary gating strategy of CD45RO<sup>+</sup> memory T-cells and exemplary gating strategy of different cytokines after 6 h polyclonal activation in CD4<sup>+</sup> (A) and CD8<sup>+</sup> (C) T cells in control probands (upper row) and patients (lower row) respectively. (B,D) Analysis of IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , IL-2, IL-4, IL-17, and IL-22-producing CD45RO<sup>+</sup> T-cell fractions in controls and BSRC patients. Lines indicate median. Mann Whitney U test was used for statistical analysis  $p < 0.05^*$ . BSRC birdshot retinochoroiditis, IFN- $\gamma$  interferon gamma, IL interleukin, TNF- $\alpha$  tumor necrosis factor alpha.

bone regeneration<sup>36–39</sup>. Yap et al. reported that expansion of T<sub>EMRA</sub> CD8 can be detected in kidney-transplant recipients despite a long-term stable graft function and that such expansion is associated with a two-fold higher risk of kidney graft dysfunction<sup>40</sup>. Accumulation of CD8<sup>+</sup> T<sub>EMRA</sub> cells is also associated with age, chronic antigen stimulation, and immune system senescence, which is often interpreted as a hallmark of aging and a marker of exhausted immune system<sup>41–45</sup>. Our data did not show any correlation between CD8<sup>+</sup> T<sub>EMRA</sub> T cell abundance and age, but the frequencies of CD8<sup>+</sup> T<sub>EMRA</sub> cells correlated negatively with the presence of vasculitis *e.g.* the extent of intraocular inflammation. It can be assumed that a high amount of T cells with CD8<sup>+</sup> T<sub>EMRA</sub> phenotype describe an impaired immune function in the eye likely as a consequence of the recurrent and constant inflammatory episodes which are described in BSRC. This raises the question of whether CD8<sup>+</sup> T<sub>EMRA</sub> is associated with a higher risk of worse manifestation of BSRC or it could be an indicator for a poor prognostic outcome due to already a rarefaction of the vessels and thinning of the retina. Reinke et al. demonstrated that delayed fracture healing significantly correlated with enhanced levels of CD8 T<sub>EMRA</sub> in peripheral blood<sup>39</sup>. These cells seem to be directly involved in the pathogenesis in poor healing<sup>44</sup>. CD8<sup>+</sup> T<sub>EMRA</sub> might be exhausted, senescent, and poorly proliferative T cells that display several functional abnormalities.

Thus, CD8<sup>+</sup> T<sub>EMRA</sub> cells could be probably proposed as a biomarker that describes an advanced BSRC disease state. Further prospective studies are necessary to investigate whether CD8<sup>+</sup> T<sub>EMRA</sub> T cells occur only in inactive, burned-out patients or it is also found in newly diagnosed patients as a potential risk factor.

Furthermore, the clear HLA association in BSRC implies a pivotal role of T cells in disease development and/or progression<sup>6</sup>. Histopathological descriptions characterized lymphocytic aggregations with their foci in the deep choroid, in the optic nerve head, and along the retinal vasculature<sup>2</sup>. In addition, analyses of eye infiltrates derived from vitreous fluidics revealed the presence of retina or choroid-reactive intraocular CD4<sup>+</sup> and CD8<sup>+</sup> T cells in disease-active BSRC eyes, suggesting their role in ongoing auto-inflammatory processes<sup>8,21</sup>. Expanded T cell clones showed effector memory phenotype and were able to secrete the classical T<sub>H1</sub>-cytokine profile (IL-2, IFN- $\gamma$  and TNF- $\alpha$ ) upon CD3 stimulation<sup>8</sup>. The leukocytes include mostly ocular specific T cells that synergistically contribute to local inflammation and tissue damage<sup>46,47</sup>. Usually, the exposure of the highly immunogenic ocular antigens (for example retinal S-antigen) to T cells is prevented by the retina-blood barrier and the immune privileged environment of the eye. When these barriers breach, ocular specific T cells may migrate into the eye and induce tissue damages. Different reports demonstrated intraocular T cell reactivity to retinal and choroidal lysate, but the antigen in BSRC is currently still unknown<sup>8</sup>. However, most of the studies

classify the T cells by distinct cytokines<sup>3,21,22</sup>. Due to reoccurring episodes and probably exhausted T cells, it is questionable whether measuring the effector function by cytokine profile analysis is a suitable approach to classify the T cell function of uveitis patients. Here, the chemotactic receptors might give additional or even more precise information about the abundance and the composition of certain peripheral T cell compartments in BSRC disease. In general, chemotactic gradients can be established elsewhere in the body by many different cell types in consequence to immunological activation. The expression of a certain set of chemokine receptors makes T cells restricted to specific chemokines, thus ensuring correct guidance and compartmentalization of antigen-primed T cells as demonstrated by Loyal et al.<sup>26</sup>. Our results show a trend for the predominance of the CXCR3<sup>+</sup> T cell subsets T<sub>H</sub>1/T<sub>C</sub>1 in both, CD4<sup>+</sup> and CD8<sup>+</sup> T cell fraction. The T1/T2 imbalance indicates changes in the immune function and has been described in experimental autoimmune uveitis/uveoretinitis (EAU)<sup>48</sup>. Therefore, T1/T2 ratio may serve as an indicative marker for BSRC disease activity. Of note, most of the studies measure the concentration of cytokine as secreted by T<sub>H</sub>1 and T<sub>H</sub>2 cells while we demonstrate a possible contribution of CD8<sup>+</sup> T cells as well as gradually impaired cytokine secretion highlighting the importance of an ex vivo cell classification. Moreover, recent studies revealed a prominent role of T<sub>H</sub>17 cells that drive chronic inflammation in T cell-associated immune disorders including non-infectious uveitis and BSRC<sup>22,49</sup>. In BSRC a subset of CD8<sup>+</sup> T cells was reported that express the endothelial adhesion molecule 'MCAM' (CD146) and secrete IL-17<sup>23</sup>. This suggests that T<sub>H</sub>17 and T<sub>C</sub>17 cells may concomitantly contribute to the IL-17 mediated pathogenesis. It would be of interest to evaluate IL-17 production of intraocular T cells in BSRC, since retinal IL-17 production CD8<sup>+</sup> T cells in EAU has been demonstrated by Peng et al.<sup>50</sup> T<sub>C</sub>17 cells might be able to target HLA-molecules that present ERAP2 trimming-dependent epitopes, linking the HLA I presentation with IL-17 associated immunity in BSRC<sup>7</sup>. Our data did not reveal a clear tendency for T<sub>H</sub>17/T<sub>C</sub>17 phenotypes. However, the current role of IL-17 in BSRC is not clarified, but few studies showed that IL-17 has protective effects during inflammation<sup>51–53</sup>.

Finally, we observed impaired cytokine production of CD4<sup>+</sup> and CD8<sup>+</sup> memory T cells in BSRC patients regardless of their treatment and stage of disease. These results support the literature reported elevated levels of IL-23, IL-1-β, IL-6, and TGF-β in serum of BSRC patients which might be associated with the T cell exhaustion<sup>24,25</sup>. Molins et al. demonstrated elevated levels of IL-17A in patients with BSRC in remission with and without immunomodulatory treatment. Patients who were not receiving immunomodulatory treatment had significantly higher levels of circulating IL-23 and TGF-β1 than patients under immunomodulatory treatment or healthy subjects<sup>54</sup>.

Of course, many studies reported about immune perturbations in the peripheral blood of uveitis patients and the immune changes in the peripheral blood not necessarily mirror the changes in the eye. But immune privilege is not interpreted as a lack of immunosurveillance<sup>55–57</sup>. It is known that immune cells visit healthy sites of immune privilege<sup>58,59</sup>.

## Conclusion

To sum up, we observed more CD8<sup>+</sup> T<sub>EMRA</sub> in inactive BSRC patients and significantly less in active patients. Therefore, high frequencies of CD8<sup>+</sup> T<sub>EMRA</sub> T cells could be an indicator for a poor prognostic outcome in advanced stage of the disease. The T1/T2 imbalance in BSRC may indicate autoimmune processes and decreased cytokine levels in the periphery are probably caused by immunosuppression or exhaustion of the memory T cell subsets.

The size of the herein analyzed patient pool is too small for definitive conclusions. Therefore, immunological studies with higher patient numbers are required for a deeper understanding of the T cell contribution to BSRC development and the potential for targeted immunotherapy. However, our results offer new insights into the immunological pathophysiology of BSRC disease and may help in defining new biomarkers for monitoring for this potentially blinding disease. Accordingly, we propose to distinguish these cells ex vivo based on the expression of chemokine receptor instead of functional analyses.

Received: 12 December 2020; Accepted: 7 April 2021

Published online: 21 April 2021

## References

1. Minos, E. et al. Birdshot chorioretinopathy: Current knowledge and new concepts in pathophysiology, diagnosis, monitoring and treatment. *Orphanet. J. Rare Dis.* **11**(1), 61. <https://doi.org/10.1186/s13023-016-0429-8> (2016).
2. Gaudio, P. A., Kaye, D. B. & Crawford, J. B. Histopathology of birdshot retinochoroidopathy. *Br. J. Ophthalmol.* **86**(12), 1439–1441. <https://doi.org/10.1136/bjo.86.12.1439> (2002).
3. Kuiper, J. J. et al. Detection of choroid- and retina-antigen reactive CD8(+) and CD4(+) T lymphocytes in the vitreous fluid of patients with birdshot chorioretinopathy. *Hum. Immunol.* **75**(6), 570–577. <https://doi.org/10.1016/j.humimm.2014.02.012> (2014).
4. Kuiper, J. J., Mutis, T., de Jager, W., de Groot-Mijnes, J. D. & Rothova, A. Intraocular interleukin-17 and proinflammatory cytokines in HLA-A29-associated birdshot chorioretinopathy. *Am. J. Ophthalmol.* **152**(2), 177–82.e1. <https://doi.org/10.1016/j.ajo.2011.01.031> (2011).
5. Kuiper, J., Rothova, A., de Boer, J. & Radstake, T. The immunopathogenesis of birdshot chorioretinopathy; a bird of many feathers. *Prog. Retin. Eye Res.* **44**, 99–110. <https://doi.org/10.1016/j.preteyeres.2014.11.003> (2015).
6. Baarsma, G. S., Priem, H. A. & Kijlstra, A. Association of birdshot retinochoroidopathy and HLA-A29 antigen. *Curr. Eye Res.* **9**(sup1), 63–68. <https://doi.org/10.1186/s13023-016-0429-8> (1990).
7. Kuiper, J. J. W. et al. Functionally distinct ERAP1 and ERAP2 are a hallmark of HLA-A29-(Birdshot) Uveitis. *Hum. Mol. Genet.* **27**(24), 4333–4343. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddy319> (2018).
8. You, C. et al. Outcomes of “early” withdrawal of corticosteroid sparing immunomodulatory therapy for birdshot retinochoroidopathy. *Ocul. Immunol. Inflamm.* **27**(7), 1165–1173. <https://doi.org/10.1080/09273948.2018.1506040> (2019).
9. Vitale, A. T., Rodriguez, A. & Foster, C. S. Low-dose cyclosporine therapy in the treatment of birdshot retinochoroidopathy. *Ophthalmology* **101**(5), 822–831. [https://doi.org/10.1016/s0161-6420\(13\)31254-8](https://doi.org/10.1016/s0161-6420(13)31254-8) (1994).

10. Kiss, S., Ahmed, M., Letko, E. & Foster, C. S. Long-term follow-up of patients with birdshot retinochoroidopathy treated with corticosteroid-sparing systemic immunomodulatory therapy. *Ophthalmology* **112**(6), 1066–1071. <https://doi.org/10.1080/09273948.2019.1641610> (2005).
11. Becker, M. D., Wertheim, M. S., Smith, J. R. & Rosenbaum, J. T. Long-term follow-up of patients with birdshot retinochoroidopathy treated with systemic immunosuppression. *Ocul. Immunol. Inflamm.* **13**(4), 289–293. <https://doi.org/10.1001/jamaophthalmol.2013.6235> (2005).
12. Huis Het Veld, P. I. *et al.* Adalimumab therapy for refractory birdshot chorioretinopathy. *Retina* **39**(11), 2189–2197. <https://doi.org/10.1097/IAE.0000000000002281> (2019).
13. Steeples, L. R., Spry, P., Lee, R. W. J. & Carreño, E. Adalimumab in refractory cystoid macular edema associated with birdshot chorioretinopathy. *Int. Ophthalmol.* **38**(3), 1357–1362. <https://doi.org/10.1007/s10792-017-0592-5> (2018).
14. Calvo-Río, V. *et al.* Efficacy of anti-IL6-receptor tocilizumab in refractory cystoid macular edema of birdshot retinochoroidopathy report of two cases and literature review. *Ocul. Immunol. Inflamm.* **25**(5), 604–609. <https://doi.org/10.1080/09273948.2016.1231331> (2017).
15. Doycheva, D. *et al.* Mycophenolic acid in the treatment of birdshot chorioretinopathy: Long-term follow-up. *Br. J. Ophthalmol.* **99**(1), 87–91. <https://doi.org/10.1136/bjophthalmol-2014-305535> (2015).
16. Cervantes-Castañeda, R. A. *et al.* Combined therapy of cyclosporine A and mycophenolate mofetil for the treatment of birdshot retinochoroidopathy: a 12-month follow-up. *Br. J. Ophthalmol.* **97**(5), 637–643. <https://doi.org/10.1136/bjophthalmol-2012-302123> (2013).
17. Kagami, S. *et al.* Circulating Th17, Th22, and Th1 cells are increased in psoriasis. *J. Investig. Dermatol.* **130**(5), 1373–1383. <https://doi.org/10.1038/jid.2009.399> (2010).
18. Eastaff-Leung, N. *et al.* Foxp3+ regulatory T cells, Th17 effector cells, and cytokine environment in inflammatory bowel disease. *J. Clin. Immunol.* **30**(1), 80–89. <https://doi.org/10.1007/s10875-009-9345-1> (2010).
19. Chemin, K., Gerstner, C. & Malmström, V. Effector functions of CD4+ T cells at the site of local autoimmune inflammation—lessons from rheumatoid arthritis. *Front. Immunol.* **10**, 353. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.00353> (2019).
20. Stromnes, I. M., Cerretti, L. M., Liggitt, D., Harris, R. A. & Goverman, J. M. Differential regulation of central nervous system autoimmunity by T(H)1 and T(H)17 cells. *Nat. Med.* **14**(3), 337–342. <https://doi.org/10.1038/nm1715> (2008).
21. Kuiper, J. J., Emmelot, M. E., Rothova, A. & Mutis, T. Interleukin-17 production and T helper 17 cells in peripheral blood mononuclear cells in response to ocular lysate in patients with birdshot chorioretinopathy. *Mol. Vis.* **27**(19), 2606–2614 (2013).
22. Daien, V. *et al.* Th17 and regulatory T cells are increased in blood of patients with birdshot chorioretinopathy. *Acta Ophthalmol.* **95**(2), e161–e163. <https://doi.org/10.1111/aos.12949> (2017).
23. Dagur, P. K., Biancotto, A., Stansky, E., Sen, H. N., Nussenblatt, R. B., McCoy, J. P. Secretion of interleukin-17 by CD8+ T cells expressing CD146 (MCAM). *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* **55**(12), 36–47. <https://doi.org/10.1167/jov.2014.01.009> (2014).
24. Yang, P. & Foster, C. S. Interleukin 21, interleukin 23, and transforming growth factor  $\beta$ 1 in HLA-A29-associated birdshot retinochoroidopathy. *Am. J. Ophthalmol.* **156**(2), 400–406.e2. <https://doi.org/10.1016/j.ajo.2013.03.004> (2013).
25. Sallusto, F. Heterogeneity of human CD4+ T cells against microbes. *Annu. Rev. Immunol.* **34**(1), 317–334. <https://doi.org/10.1146/annurev-immunol-032414-112056> (2016).
26. Loyal, L. *et al.* SLAMF7 and IL-6R define distinct cytotoxic versus helper memory CD8+ T cells. *Nat. Commun.* **11**(1), 6357. <https://doi.org/10.1038/s41467-020-19002-6> (2020).
27. Pohlmann, D. *et al.* Multimodal Imaging in Birdshot Retinochoroiditis. *Ocul. Immunol. Inflamm.* **25**(5), 621–632. <https://doi.org/10.1080/09273948.2017.1375532> (2017).
28. Levinson, R. D. *et al.* Research criteria for the diagnosis of birdshot chorioretinopathy: Results of an international consensus conference. *Am. J. Ophthalmol.* **141**(1), 185–187. <https://doi.org/10.1016/j.ajo.2005.08.025> (2006).
29. Jabs, D. A., Nussenblatt, R. B. & Rosenbaum, J. T. Standardization of uveitis nomenclature for reporting clinical data: Results of the first international workshop. *Am. J. Ophthalmol.* **140**(3), 509–516. <https://doi.org/10.1016/j.ajo.2005.03.057> (2005).
30. Tugal-Tutkun, I., Herbort, C. P., Khairallah, M. & Mantovani, A. Interobserver agreement in scoring of dual fluorescein and ICG inflammatory angiographic signs for the grading of posterior segment inflammation. *Ocul. Immunol. Inflamm.* **18**(5), 385–389. <https://doi.org/10.3109/09273948.2010.489730> (2010).
31. Tugal-Tutkun, I., Herbort, C. P. & Khairallah, M. Scoring of dual fluorescein and ICG inflammatory angiographic signs for the grading of posterior segment inflammation (dual fluorescein and ICG angiographic scoring system for uveitis). *Int. Ophthalmol.* **30**(5), 539–552. <https://doi.org/10.1007/s10792-008-9263-x> (2010).
32. Fardeau, C. *et al.* Indocyanine green angiography in birdshot chorioretinopathy. *Ophthalmology* **106**(10), 1928–1934. [https://doi.org/10.1016/S0161-6420\(99\)90403-7](https://doi.org/10.1016/S0161-6420(99)90403-7) (1999).
33. Sallusto, F., Lenig, D., Förster, R., Lipp, M. & Lanzavecchia, A. Two subsets of memory T lymphocytes with distinct homing potentials and effector functions. *Nature* **401**(6754), 708–712. <https://doi.org/10.1038/44385> (1999).
34. Hamann, D. *et al.* Phenotypic and functional separation of memory and effector human CD8+ T cells. *J. Exp. Med.* **186**(9), 1407–1418. <https://doi.org/10.1084/jem.186.9.1407> (1997).
35. Geginat, J., Lanzavecchia, A. & Sallusto, F. Proliferation and differentiation potential of human CD8+ memory T-cell subsets in response to antigen or homeostatic cytokines. *Blood* **101**(11), 4260–4266. <https://doi.org/10.1182/blood-2002-11-3577> (2003).
36. Salou, M. *et al.* Expanded CD8 T-cell sharing between periphery and CNS in multiple sclerosis. *Ann. Clin. Transl. Neurol.* **2**(6), 609–622. <https://doi.org/10.1002/acn3.199> (2015).
37. McKinney, E. F. *et al.* A CD8+ T cell transcription signature predicts prognosis in autoimmune disease. *Nat. Med.* **16**(5), 586–591. <https://doi.org/10.1038/nm.2130> (2010).
38. Yap, M., Brouard, S., Pecqueur, C. & Degauque, N. Targeting CD8 T-cell metabolism in transplantation. *Front. Immunol.* **6**, 1. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2015.00547> (2015).
39. Reinke, S. *et al.* Terminally differentiated CD8+ T cells negatively affect bone regeneration in humans. *Sci. Transl. Med.* **5**(177), 177. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.3004754> (2013).
40. Yap, M. *et al.* Expansion of highly differentiated cytotoxic terminally differentiated effector memory CD8+ T cells in a subset of clinically stable kidney transplant recipients: A potential marker for late graft dysfunction. *J. Am. Soc. Nephrol.* **25**(8), 1856–1868. <https://doi.org/10.1681/ASN.2013.080848> (2014).
41. Khan, N. *et al.* Cytomegalovirus seropositivity drives the CD8 T cell repertoire toward greater clonality in healthy elderly individuals. *J. Immunol.* **169**(4), 1984–1992. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.169.4.1984> (2002).
42. Wertheimer, A. M. *et al.* Aging and cytomegalovirus infection differentially and jointly affect distinct circulating T cell subsets in humans. *J. Immunol.* **192**(5), 2143–2155. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1301721> (2014).
43. Pawelec, G. *et al.* Is immunosenescence infectious?. *Trends Immunol.* **25**(8), 406–410. <https://doi.org/10.1016/j.it.2004.05.006> (2004).
44. Larbi, A. & Fulop, T. From, “truly naïve” to “exhausted senescent” T cells: when markers predict functionality. *Cytometry A.* **85**(1), 25–35. <https://doi.org/10.1002/cyto.a.22351> (2014).
45. Verma, K. *et al.* Human CD8+ CD57- TEMRA cells: Too young to be called “old”. *PLoS ONE* **12**(5), e0177405. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0177405> (2017).
46. Caspi, R. R. *et al.* Mouse models of experimental autoimmune uveitis. *Ophthalm. Res.* **40**(3–4), 169–174. <https://doi.org/10.1159/000119871> (2008).

47. Kerr, E. C., Copland, D. A., Dick, A. D. & Nicholson, L. B. The dynamics of leukocyte infiltration in experimental autoimmune uveoretinitis. *Prog. Retin. Eye Res.* **27**(5), 527–535. <https://doi.org/10.1016/j.preteyeres.2008.07.001> (2008).
48. Horai, R. & Caspi, R. R. Cytokines in autoimmune uveitis. *J. Interferon Cytokine Res.* **31**(10), 733–744. <https://doi.org/10.1089/jir.2011.0042> (2011).
49. Bedoya, S. K., Lam, B., Lau, K. & Larkin, J. Th17 cells in immunity and autoimmunity. *Clin. Dev. Immunol.* **2013**, 1–16. <https://doi.org/10.1155/2013/986789> (2013).
50. Peng, Y., Han, G., Shao, H., Wang, Y., Kaplan, H. J., & Sun, D. Characterization of IL-17 + interphotoreceptor retinoid-binding protein-specific T cells in experimental autoimmune uveitis. **48**(9), 4153 (2007). <https://doi.org/10.1167/iov.07-0251>.
51. Li, Q. *et al.* Interleukin-17 indirectly promotes M2 macrophage differentiation through stimulation of COX-2/PGE2 pathway in the cancer cells. *Cancer Res. Treat.* **46**(3), 297–306. <https://doi.org/10.4143/crt.2014.46.3.297> (2014).
52. Liu, L. *et al.* Interleukin-17 and prostaglandin E2 are involved in formation of an M2 macrophage-dominant microenvironment in lung cancer. *J. Thorac. Oncol.* **7**(7), 1091–1100. <https://doi.org/10.1097/JTO.0b013e3182542752> (2012).
53. Nishikawa, K. *et al.* Interleukin-17 induces an atypical M2-like macrophage subpopulation that regulates intestinal inflammation. *PLoS ONE* **9**(9), e108494. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0108494> (2014).
54. Molins, B. *et al.* Regulatory T cell levels and cytokine production in active non-infectious uveitis: In-vitro effects of pharmacological treatment. *Clin. Exp. Immunol.* **179**(3), 529–538. <https://doi.org/10.1111/cei.12479> (2015).
55. Shechter, R., London, A. & Schwartz, M. Orchestrated leukocyte recruitment to immune-privileged sites: Absolute barriers versus educational gates. *Nat. Rev. Immunol.* **13**(3), 206–218. <https://doi.org/10.1038/nri3391> (2013).
56. Wraith, D. C. & Nicholson, L. B. The adaptive immune system in diseases of the central nervous system. *J. Clin. Invest.* **122**(4), 1172–1179. <https://doi.org/10.1172/JCI58648> (2012).
57. Hickey, W. F. Basic principles of immunological surveillance of the normal central nervous system. *Glia* **36**(2), 118–124. <https://doi.org/10.1002/glia.1101> (2001).
58. Engelhardt, B. & Ransohoff, R. M. The ins and outs of T-lymphocyte trafficking to the CNS: Anatomical sites and molecular mechanisms. *Trends Immunol.* **26**(9), 485–495. <https://doi.org/10.1016/j.it.2005.07.004> (2005).
59. Kivisäkk, P. *et al.* Human cerebrospinal fluid central memory CD4+ T cells: Evidence for trafficking through choroid plexus and meninges via P-selectin. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **100**(14), 8389–8394. <https://doi.org/10.1073/pnas.1433000100> (2003).

### Acknowledgements

This abstract was presented as a poster at the German Ophthalmology Society 2019 and was awarded a prize for the best poster.

### Author contributions

J.T. made the experiments, the analyses and prepared the figures. J.T., D.P. wrote the main manuscript text. L.L., J.B., U.P. A.T. reviewed and corrected the manuscript.

### Funding

Open Access funding enabled and organized by Projekt DEAL. Dr. Dominika Pohlmann is participant in the BIH Charité Clinician Scientist Program funded by the Charité-Universitätsmedizin Berlin and the Berlin Institute of Health.

### Competing interests

The authors declare no competing interests.


### Additional information

**Supplementary Information** The online version contains supplementary material available at <https://doi.org/10.1038/s41598-021-88013-0>.

**Correspondence** and requests for materials should be addressed to D.P.

**Reprints and permissions information** is available at [www.nature.com/reprints](http://www.nature.com/reprints).

**Publisher's note** Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

 **Open Access** This article is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License, which permits use, sharing, adaptation, distribution and reproduction in any medium or format, as long as you give appropriate credit to the original author(s) and the source, provide a link to the Creative Commons licence, and indicate if changes were made. The images or other third party material in this article are included in the article's Creative Commons licence, unless indicated otherwise in a credit line to the material. If material is not included in the article's Creative Commons licence and your intended use is not permitted by statutory regulation or exceeds the permitted use, you will need to obtain permission directly from the copyright holder. To view a copy of this licence, visit <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>.

© The Author(s) 2021

## 2.2 Multimodale Bildgebung bei Patienten mit Birdshot-Retinochoroiditis (Originalarbeit 2)

**Pohlmann D**, Macedo S, Stübiger N, Pleyer U, Jousseaume AM, Winterhalder S. Multimodal Imaging in Birdshot Retinochoroiditis. *Ocul Immunol Inflamm.* 2017;25(5):621-632.

Link zur Publikation: <https://doi.org/10.1080/09273948.2017.1375532>

Zusätzlich zu den immunologischen Signaturen erfolgte in dieser prospektiven Studie die Charakterisierung der morphologischen Signaturen bei BSRC-Patienten anhand multimodaler Bildgebung. Die Patienten wurden u.a. in verschiedene Krankheitsstadien eingeteilt. Besonderes Augenmerk lag darüber hinaus auf der neuen Bildgebung, der OCTA.

Der nachfolgende Text (Abstract) wurde aus der Originalarbeit durch die Autorin übersetzt.

„**Ziel:** Beschreibung von Gefäßveränderungen der Netzhaut bei Birdshot-Retinochoroiditis (BSRC) mit multimodalen Bildgebungstechniken und Funktionsanalyse.

**Methoden:** In dieser monozentrischen Studie wurden 64 Augen von 32 Probanden mit BSRC nach Krankheitsaktivität und -dauer klassifiziert und einer Bildgebung mit optischer Kohärenztomographie, Fluoreszeinangiographie, Indocyaningrünangiographie, Fundus-Autofluoreszenz und optischer Kohärenztomographie Angiographie (OCTA) unterzogen.

**Ergebnisse:** Das Durchschnittsalter der Patienten betrug 60 Jahre (Bereich 38-74). Die OCTA zeigte Kapillarschleifen (58%), teleangiektatische Gefäße (44%), vergrößerte Interkapillarräume (52%), eine veränderte Gefäßarchitektur (53%) und eine Rarefizierung von C-Scans (63%) in den Netzhautschichten. In den oberflächlichen und tiefen Kapillarschichten korrelierten eine erhöhte Rarefizierung von C-Scans ( $p = 0,0056$ ;  $p = 0,0046$ ) und eine veränderte Gefäßarchitektur ( $p = 0,0120$ ;  $p = 0,0243$ ) signifikant mit der Krankheitsaktivität.

**Schlussfolgerung:** Beim multimodalen Bildgebungsansatz bietet die OCTA zusätzliche neue Einblicke innerhalb der Visualisierung der Netzhautgefäßschichten bei BSRC und kann damit bei den bestehenden Methoden zur Diagnose des Schweregrads und des möglichen Fortschreitens der Krankheit beitragen.“





























## 2.3 Multimodale Bildgebung bei Patienten mit punktförmiger innerer Choroidopathie (Originalarbeit 3)

**Pohlmann D**, Pleyer U, Jousseaume AM, Winterhalter S. Optical Coherence Tomography Angiography in Comparison to other Multimodal Imaging Techniques in Punctate Inner Choroidopathy. Br J Ophthalmol. 2019 Jan;103(1):60-66.

Link zur Publikation: <http://dx.doi.org/10.1136/bjophthalmol-2017-311764>

Angelehnt an die Originalpublikation 2 wurden in dieser Arbeit morphologische Signaturen bei PIC als eine weitere Erkrankung aus dem Formkreis der WDS charakterisiert. Auch hier steht die neue Bildgebung, die OCTA im Vordergrund.

Der nachfolgende Text (Abstract) wurde aus der Originalarbeit durch die Autorin übersetzt.

„**Ziel:** Charakterisierung von punktförmigen Läsionen und choroidalen Neovaskularisationen (CNV) in Augen mit punktförmiger innerer Choroidopathie (PIC) unter Verwendung aktueller multimodaler Standardbildgebungstechniken und der optischen Kohärenztomographie Angiographie (OCTA).

**Methoden:** In unserer prospektiven, monozentrischen Studie wurden bei 20 Patienten mit PIC einer Bildgebung mit Spektral-Domain optischer Kohärenztomographie (SD-OCT), Fluoreszeinangiographie (FA), Indocyaningrünangiographie, Fundus-Autofluoreszenz, Fundus-Farbfotografie und OCTA durchgeführt.

**Ergebnisse:** 32 Augen von 20 Patienten waren betroffen. Acht (20%) Augen zeigten typische punktförmige Läsionen, während bei 24 (60%) Augen eine zusätzlich zusätzliche CNV zu den punktförmigen Läsionen eine CNV im SD-OCT und in der FA bestätigt werden konnte. Von diesen 24 Augen mit CNV wurde bei 5 (21%) Augen ein Rezidiv einer aktiven CNV festgestellt, bei 3 (13%) Augen zeigte sich Restflüssigkeit, während 16 (67%) Augen als stabil definiert wurden. Die Gefäßform der CNV wurde durch die OCTA als 'lacy wheel', 'pruned large-trunk' und 'dead tree aspect' (übersetzt: 'Spitzenrad', 'abgeschnittener Baumstamm' und 'toter Baum') mit oder ohne Perfusionbereiche klassifiziert. Dabei war die Krankheitsaktivität in der OCTA innerhalb der Regressionsanalyse von mehreren prädiktiven Faktoren wie intraretinaler Flüssigkeit ( $p = 0,0014$ ), CNV-Typ ( $p = 0,0199$ ), Leckage ( $p < 0,0001$ ) und Hypoperfusion / Nichtperfusion ( $p < 0,0001$ ) abhängig.

**Schlussfolgerung:** Die OCTA bietet zusätzliche wertvolle Einblicke innerhalb der aktuellen multimodalen Standardbildgebungstechniken zur Charakterisierung der PIC. Diese Bildgebungstechnik kann ein nützliches Werkzeug zur Analyse der Krankheitsaktivität sein.“

















## 2.4 Therapiemöglichkeiten bei Patienten mit punktförmiger innerer Choroidopathie (Originalarbeit 4)

**Pohlmann D**, Pleyer U, Jousseaume AM, Winterhalter S. Immunosuppressants and/or AntiVascular Endothelial Growth Factor inhibitors in Punctate Inner Choroidopathy? Follow-up Results with Optical Coherence Tomography Angiography. Br J Ophthalmol. 2019 Aug;103(8):1152-1157.

Link zur Publikation: doi:[10.1136/bjophthalmol-2018-312455](https://doi.org/10.1136/bjophthalmol-2018-312455)

Das Therapiemanagement der PIC stellt aufgrund der vielfältigen Schweregrade der Erkrankung eine Herausforderung dar. Bei der aktiven CNV zeigt sich die intravitreale Anti-VEGF-Therapie als der Goldstandard. Der Nutzen einer zusätzlichen immunmodulierenden Therapie zur Stabilisierung von Rezidiven und zur Reduktion der Entzündungsaktivität ist bisher ungeklärt und wird deshalb in dieser Originalarbeit näher beleuchtet. Dabei stellt Originalarbeit 3 die Ausgangsbasis für Originalarbeit 4 dar.

Der nachfolgende Text (Abstract) wurde aus der Originalarbeit durch die Autorin übersetzt.

„**Ziel:** Berichterstattung über die Wirksamkeit der Behandlung mit einem anti-vaskulären endothelialen Wachstumsfaktor (VEGF)-Hemmer und / oder Immunsuppressiva bei punktförmiger innerer Choroidopathie (PIC) unter Verwendung von Standardbildgebungsmodalitäten und optischer Kohärenztomographie Angiographie (OCTA) über einen Zeitraum von 16 Monaten.

**Methoden:** In dieser prospektiven, unmaskierten, monozentrischen Studie wurden 23 Patienten mit PIC durch eine Bildgebung mit Spectral-Domain OCT, Fluoreszeinangiographie, Indocyaningrünangiographie und OCTA untersucht. Es wurden zwei Gruppen gebildet basierend auf der systemischen Behandlung. Im Falle einer Aktivität der choroidalen Neovaskularisation (CNV) wurden in beiden Gruppen intravitreale Anti-VEGF-Injektionen durchgeführt.

**Ergebnisse:** Gruppe I umfasste 18 betroffene Augen (75%) von 12 Patienten (24 Augen), die keine systemische Therapie zu Studienbeginn erhielten. Gruppe II enthielt 11 Patienten (22 Augen), die durchschnittlich 2 Jahre vor der Ausgangsuntersuchung mit einer systemischen immunsuppressiven Therapie begonnen hatten. Alle Augen mit erneutem Auftreten einer CNV oder Restflüssigkeit (Gruppe I: sieben Augen; Gruppe II: sechs Augen) erhielten intravitreale

Anti-VEGF-Injektionen. Gruppe I zeigte in der OCTA eine signifikante Verringerung der CNV-Größe ( $p = 0,0078$ ), sowie eine Verringerung der Flüssigkeitsretention ( $p = 0,0078$ ) nach Anti-VEGF-Injektion. Gruppe II zeigte dagegen keine signifikante Verringerung der CNV-Größe, der Gefäßform oder der Flüssigkeitsretention nach Injektionstherapie. Insgesamt war die Flüssigkeitsansammlung in Gruppe II (Median =  $0,03 \text{ mm}^2$ ) signifikant geringer als in Gruppe I (Median =  $0,32 \text{ mm}^2$ ) ( $p = 0,0028$ ).

**Schlussfolgerung:** Immunsuppressiva zeigten zusätzlich zu Anti-VEGF-Injektionen eine signifikante Verringerung der Flüssigkeitsansammlung, d.h. eine verringerte Krankheitsaktivität. Wir schließen daraus, dass Immunsuppressiva einen Nutzen und eine Wirksamkeit zur Kontrolle der entzündlichen sekundären CNV bei PIC aufweisen.“















## 2.5 Der Einfluss des bevorstehenden Sehverlustes auf Depressionen, Angstzustände und die mit dem Sehvermögen verbundene Lebensqualität (Originalarbeit 5)

**Pohlmann D**, Barth A, Macedo S, Pleyer U, Winterhalter S, Albayrak Ö. The impact of impending / onset of vision loss on depression, anxiety, and vision-related quality of life in Birdshot-Retinochoroiditis and Serpiginous Choroiditis. PlosOne. 2020 Oct 5;15(10):e0239210. doi: 10.1371/journal.pone.0239210

Link zur Publikation: doi: 10.1371/journal.pone.0239210

Patienten mit einer entzündlichen Erkrankung der Netzhaut und Choroidea aus dem Formkreis der WDS weisen ein erhöhtes Erblindungsrisiko aufgrund einer irreversiblen Zerstörung der Photorezeptoren auf. Der drohende oder bereits eingetretene Sehverlust führt zu verschiedenen Ängsten und Einschränkungen im alltäglichen Leben. Diese Originalarbeit zielt darauf ab, die Auswirkungen der Augenerkrankung bei Patienten mit BSRC und SC auf Depressionen, Angstzustände und die mit dem Sehvermögen verbundene Lebensqualität zu bewerten.

Der nachfolgende Text (Abstract) wurde aus der Originalarbeit durch die Autorin übersetzt.

„Beurteilung der Auswirkungen von Birdshot-Retinochorioidopathie (BSRC) und serpiginoösen Choroiditis (SC) auf Depressionen, Angstzustände und die mit dem Sehvermögen verbundene Lebensqualität. 72 Individuen (BSRC: n = 28, SC: n = 8; gesunde Kontrollgruppe (HC): n = 36) füllten einen Patientengesundheitsfragebogen-9 (PHQ-9), Fragebogen zu generalisierten Angststörungen-7 (GAD-7) und einen Fragebogen zur visuellen Lebensqualität (VFQ-25) aus. Multivariate lineare Regressionsmodelle wurden verwendet, um verschiedene Subskalen von PHQ-9, GAD-7 und VFQ-25 zu analysieren. Die Ergebnisse zeigten, dass der Mittelwert von PHQ-9 signifikant höher war, während der Mittelwert von VFQ-25 und seinen Subskalen durchweg niedriger in der Krankheitsgruppe waren im Vergleich zur Kontrollgruppe. Der Mittelwert von GAD-7 war nicht signifikant niedriger in der Krankheitsgruppe im Vergleich zur Kontrollgruppe. Die Stratifikation für verschiedene Schweregrade der Krankheit und die Dauer der Krankheit ergaben keine Unterschiede in den Summenwerten von PHQ-9, GAD-7 und VFQ-25, während es in einigen Subskalen von VFQ-25 signifikante Unterschiede gab. Wir schließen daraus, dass BSRC- und SC-Patienten ein höheres Maß an Depressionen und eine verminderte visuelle Lebensqualität aufweisen aufgrund eines bevorstehenden Sehverlustes. Da Depressionen und Lebensqualität durch mangelnde soziale Kontakte und Funktionen ungünstig beeinträchtigt werden, sollte eine

psychologische Behandlung den Patienten ermöglichen, ihre Unabhängigkeit und Fähigkeit zur sozialen Interaktion aufrechtzuerhalten. Bei der Behandlung von Patienten mit BSRC und SC sollte eine psychosomatische Versorgung mitberücksichtigt werden.“

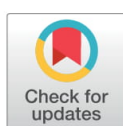
## RESEARCH ARTICLE

# The impact of impending / onset of vision loss on depression, anxiety, and vision-related quality of life in Birdshot-Retinochoroiditis and Serpiginous Choroiditis

Dominika Pohlmann<sup>1\*</sup>, Anne Barth<sup>2</sup>, Sergio Macedo<sup>1</sup>, Uwe Pleyer<sup>1</sup>, Sibylle Winterhalter<sup>1</sup>, Özgür Albayrak<sup>3</sup>

**1** Charité—Universitätsmedizin Berlin, Corporate Member of Freie Universität Berlin, Humboldt-Universität zu Berlin, Berlin Institute of Health, Berlin, Germany, **2** Department of Psychosomatic Medicine and Psychotherapy, Hannover Medical School, Hannover, Germany, **3** Department of Pediatric Cardiology and Intensive Care Medicine, Hannover Medical School, Hannover, Germany

\* [dominika.pohlmann@charite.de](mailto:dominika.pohlmann@charite.de)



## OPEN ACCESS

**Citation:** Pohlmann D, Barth A, Macedo S, Pleyer U, Winterhalter S, Albayrak Ö (2020) The impact of impending / onset of vision loss on depression, anxiety, and vision-related quality of life in Birdshot-Retinochoroiditis and Serpiginous Choroiditis. *PLoS ONE* 15(10): e0239210. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0239210>

**Editor:** Norshamsiah Md Din, Pusat Perubatan Universiti Kebangsaan Malaysia, MALAYSIA

**Received:** May 16, 2020

**Accepted:** September 1, 2020

**Published:** October 5, 2020

**Copyright:** © 2020 Pohlmann et al. This is an open access article distributed under the terms of the [Creative Commons Attribution License](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

**Data Availability Statement:** All relevant data are within the manuscript and its Supporting Information files.

**Funding:** I have read the journal's policy and the authors of this manuscript have the following competing interests: DP has received grant/research support from Allergan and Bayer. UP has served as principal investigator or consultant for: Abbvie, Alcon, Allergan, Bayer, Dompé, Lilly, Novartis, Santen, Shire, Thea, Ursapham, Winzer.

## Abstract

To evaluate the impact of Birdshot-Retinochoroidopathy (BSRC) and Serpiginous Choroiditis (SC) on depression, anxiety, and vision-related quality of life. 72 individuals (BSRC: n = 28, SC: n = 8; healthy control group (HC): n = 36) completed the Patient Health Questionnaire-9 (PHQ-9), Generalized Anxiety Disorder-7 (GAD-7), and the Visual Function Questionnaire (VFQ-25). Multivariate linear regression models were used to analyze different subscales of the PHQ-9, the GAD-7 and the VFQ-25. The results showed that the mean of PHQ-9 was significantly higher while the mean of the VFQ-25 and its' subscales were consistently lower in the disease group compared to HC. The mean of GAD-7 was not significantly lower in the disease group compared to HC. Stratification for different disease severity stages and duration of disease did not reveal any differences in sum scores of PHQ-9, GAD-7, and VFQ-25, whereas there were significant differences in some subscales of the VFQ-25. We conclude that BSRC and SC patients show higher levels of depression and a reduced visual quality of life due to imminent loss of vision. Because depression and quality of life are adversely affected by lack of social contacts and functioning, psychological treatment should enable patients to maintain their independence and ability to social interaction. Psychosomatic care should be taken in account for the treatment of BSRC and SC.

## Introduction

Birdshot-Retinochoroiditis (BSRC) and Serpiginous Choroiditis (SC) are rare forms of posterior uveitis (1–3%), which cause severe, chronic, progressive inflammation of both eyes and can lead to blurred vision and blindness [1, 2]. The prevalence of BSRC is higher in women, while men have a greater prevalence of SC [2]. Both diseases affect people at working age, causing significant economic, social, and psychological burden [3, 4].

Although BSRC and SC affect only the eyes, systemic immunosuppressive therapy (IMT) is required for these diseases, which can cause complications in other organ systems leading to a



SW has served as consultant for: Allergan, Novartis, Bayer, MSD, Heidelberg engineering. None of the authors has a direct proprietary interest in any of the products used in this study. This does not alter our adherence to PLOS ONE policies on sharing data and materials.

**Competing interests:** The authors have declared that no competing interests exist.

significant impact on quality of life [5]. Patients are exposed to blindness and adverse effects of IMT, leading to psychological and social problems. In order to assess the psychosocial situation of the patient, questionnaires have been established to examine potential problems. Assessment of health-related quality of life (HRQOL) is useful to examine physical and mental health aspects of an affected individual [6–8]. In brief, quality of life includes social functioning, mental health, and physical health and there are only few studies that assessed visual quality of life in ophthalmologic patients [9–11].

Moreover, the chronic and progressive nature of posterior uveitis with risk of blindness may place patients at greater risk for depression and anxiety. Only few studies have shown patients with various ocular diseases, which were screened for depression and anxiety by use of questionnaires [12–16]. Depression and anxiety have been determined as significant comorbidities among patients with severe ocular conditions such as glaucoma, age-related macular degeneration, and retinitis pigmentosa [14–16]. But there have been only limited reports on screening for psychological alterations in patients with uveitis [17–20].

We were particularly interested in BSRC and SC patients, who are at high risk of blindness during the course of their disease due to atrophy of the retina and macula. Therefore, we screened our patients with BSRC and SC for quality of life, depression, and anxiety and compared the results with an age and gender matched healthy control group. We were interested in: 1. the differences in the manifestation of symptoms of depression, anxiety, and of vision-related quality of life between BSRC, SC, and HC, 2. the expression of depression, anxiety, and vision-related quality of life depending on the duration and the severity of the disease, and 3. the correlation of vision-related quality of life with depression as well as with anxiety.

## Methods

### Patient recruitment

This cross-sectional study enrolled patients with BSRC and SC who were scheduled for an examination with multimodal imaging technique at Charité University of Medicine Berlin [21, 22]. Each patient was informed about the study and has given written consent. The patients were asked to complete the PHQ-9, GAD-7, and VFQ-25. Further we recruited a healthy control group from a general public matched for age and gender. This study was approved by the local ethics committee (EA4/055/16) of Charité Ethikkommission University of Medicine and follows the declaration of Helsinki.

### Questionnaires

We used the Patient Health Questionnaire (PHQ-9) to screen for symptoms of depression, the Generalized Anxiety Disorder 7 (GAD-7) to screen for symptoms of anxiety, and the National Eye Institute Visual Functioning Questionnaire 25 (VFQ-25) to examine vision-related quality of life.

**PHQ-9.** Symptoms of depression were assessed with the German version of the 9-item Patient Health Questionnaire-Depression Scale (PHQ-9) [23]. Each item is scored from 0 to 3, yielding a total score between 0 and 27. A total score  $\geq 10$  indicates the presence of a major depressive disorder (MDD). Cronbach's  $\alpha$  in the present study sample was 0.805.

**GAD-7.** Symptoms of anxiety were assessed with the German version of the 7-item Generalized Anxiety Scale (GAD-7) [24]. The items are also scored from 0 to 3, yielding a total score between 0 and 21. Cronbach's  $\alpha$  in the present study sample was 0.871. A cut-off of 8 implies the presence of generalized anxiety disorder, with a sensitivity of 92% and specificity of 76% for this diagnosis [25].

**VFQ-25.** The VFQ-25 examines vision-related quality of life caused by visual impairments or limitations. Emotional well-being and social functioning are captured by this questionnaire, as well as task-oriented areas, for example the ability to cope with every day-life situation. The questionnaire includes 25 items covering twelve subscales: “general vision”, “near and distance vision activities”, “ocular pain”, “vision-related social function”, “vision-related role function”, “vision-related mental health”, “vision-related dependency”, “driving difficulties”, “color vision”, and “peripheral vision” [26]. The VFQ-25 also contains a general health item. The reliability and validation of VFQ-25 has been proven to measure vision-targeted quality of life. The German translation of VFQ-25 has been validated in two studies [10, 27]. The self-administered form of the VFQ-25 was chosen, so that the patient would not feel pressured by the interviewer and would have sufficient time to complete the form. The evaluation of the VFQ-25 follows an algorithm calculation with scores ranging from 0 to 100. The higher the score, the better the functioning of vision and the higher quality of life. This study used the test manual methodology to generate one total score by averaging the twelve subscale values [26]. Cronbach’s  $\alpha$  for the VFQ-25 total score was 0.958 and ranged from 0.679 and 0.927 across the twelve subscales.

### Statistical analyses

All statistical tests were performed with SPSS version 24. For the first aim (*differences in the manifestation of depression, anxiety, and vision-related quality of life between BSRC, SC, and HC*) the two-sample t-test was used. The analysis of variance (ANOVA) and/or Kruskal-Wallis-Test were used for the second aim (*expression of depression, anxiety, and vision-related quality of life depending on the duration and severity of disease*). For both tests a normal distribution of the population and variance homogeneity were prerequisite. The normal distribution was verified based on the Shapiro-Wilk test and variance homogeneity was verified using the Levene-test. For the third aim (*correlation of vision-related quality of life, depression and anxiety*) the Spearman- and Pearson-correlation was applied to correlate the subscales of the VFQ-25 and the total scores of the PHQ-9 and GAD-7. In addition, a multiple linear regression was utilized to analyze the impact of the different subscales of the VFQ-25 on depression and anxiety. The level of significance was set at  $\alpha = p < 0.05$ .

## Results

### Subjects

In total, 72 subjects (disease group:  $n = 36$  (BSRC:  $n = 28$ , SC:  $n = 8$ ); HC:  $n = 36$ ) were examined and included for statistical analyses. HC was matched for age and gender (Table 1).

### Differences in the manifestation of depression, anxiety, and vision-related quality of life between BSRC, SC, and HC

We hypothesized that differences can be found in the manifestation of depression, anxiety and vision-related quality of life between the disease group and HC. Our data showed differences in the manifestation of depression and vision-related quality of life between BSRC, SC and HC (Figs 1 and 2). There were significant differences for PHQ-9 total score and for VFQ-25 total score, as well as for all subscales of the VFQ-25 (Table 2), whereas no difference was found regarding GAD-7. The mean of PHQ-9 total score was higher while the mean of the VFQ-25 total score and its subscales were consistently lower in the disease group compared to HC. Thus, we confirmed our first hypothesis, showing higher levels of depression, but not anxiety,

**Table 1. Demographic characteristics.**

n (%)	76 (100)
Healthy group (n, %)	36 (50)
Disease group (n, %)	36 (50)
BSRC (n, %)	28 (78)
SC (n, %)	8 (22)
Mean age in years (+/- SD, range)	62 (+/-10; 38–84)
Visual acuity (logMAR)	
BSRC (+/-SD, range)	0.4 (+/-0.6; 0–1.1)
SC (+/-SD, range)	1.1 (+/-0.8; 0–1)
BSRC	
Active	8 (29)
Inactive	12 (43)
Inactive, "burned-out"	8 (29)
SC	
Active	0 (0)
Inactive	8 (100)
Treatment of BSRC & SC (n, %)	
AD	8 (22)
AZA	1 (3)
CSA	7 (19)
MMF	12 (33)
MTX	2 (6)
IFN	2 (6)
Prednisolone <10mg	3 (8)

AD = Adalimumab; AZA = Azathioprine, BSRC = Birdshot Retinochoroiditis, CSA = Cyclosporine A; logMAR = Logarithm of Minimum Angle of Resolution; MMF = Mycophenolate mofetil; MTX = Methotrexate; IFN = Interferon; SC = Serpingiosa Choroiditis

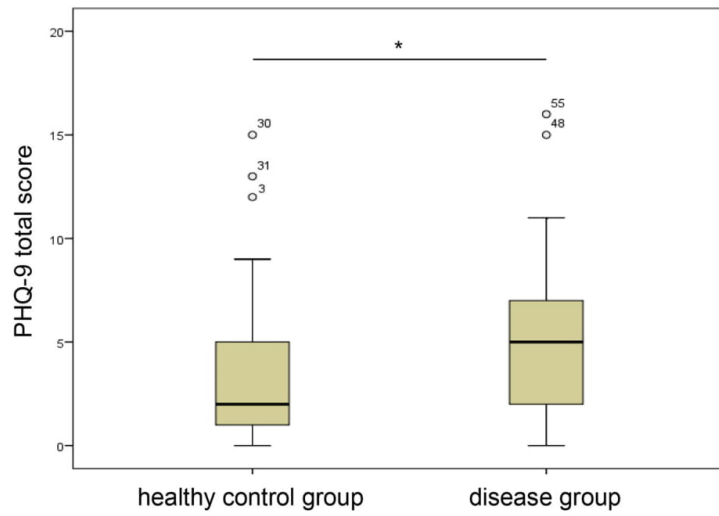
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0239210.t001>

and lower levels for vision-related quality of life in the disease group compared to HC. There was no significance between the two disease groups.

### Expression of depression, anxiety, and vision-related quality of life depending on the duration and severity of disease

Secondly, we hypothesized that the expression of depression, anxiety and vision-related quality of life would deteriorate depending on the severity and disease duration in BSRC. The disease severity levels of BSRC were graded from "active" to "inactive", and then to "inactive burned-out". In the "active" group (n = 8), the mean age was 53.8 ± 10.5 years, and 62.5% were female. The "inactive" group (n = 12) consisted of 33.33% females with a mean age of 61.1 ± 8.6 years. The "inactive burned-out" group (n = 8) had 75% females and mean age was 68.5% ± 5.4 years. The SC group included only inactive disease, so that we focused on the BSRC group.

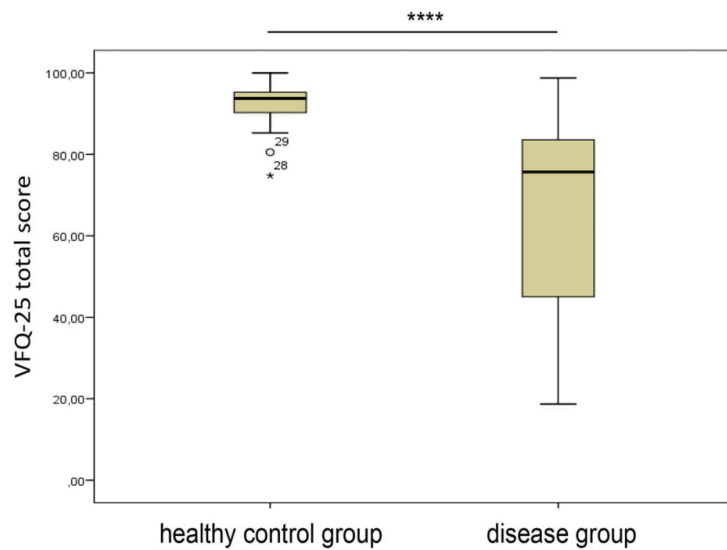
As for the severity of BSRC, no differences were found in the different subgroups of disease severity stage regarding PHQ-9 (p = 0.931), GAD-7 (p = 0.665), and VFQ-25 (p = 0.055) using Kruskal-Wallis-Test. To further specify this result, we considered the subscales of the VFQ-25 in our analysis. We could observe a decrease of the middle-ranking of the subscales of the VFQ-25 in patients with "inactive burned-out" disease stage. Small values of middle ranking indicate a low level of vision-related quality of life (Table 3).



**Fig 1. Differences in the manifestation of depression (PHQ-9 total score) in healthy control group and disease group.** \*  $p < 0.05$ .

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0239210.g001>

Further, we analyzed PHQ-9, GAD-7 and VFQ-25 with respect to the disease duration. A disease duration of 0 to 2 years occurred in 4 patients, of which 50% were female with a mean age of  $54.3 \pm 14.3$  years. Six patients had a disease duration of 3 to 4 years, of whom 50% were female and had a similar mean age of  $55.8 \pm 12.6$  years. A disease duration of 5 to 10 years



**Fig 2. Differences in the manifestation of quality of life (VFQ-25 total score) in healthy control group and disease group.** \*\*\*\*  $p < 0.0001$ .

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0239210.g002>

Table 2. Comparison of PHQ-9 and VFQ-25 scores between disease group and healthy controls using the Mann-Whitney-U-test.

	Patients		Healthy controls		P value	Cohen d
	n	mean	n	mean		
PHQ-9 total score	36	42.08	36	30.92	<b>0.023</b>	0.554
GAD-7 total score	33	38.17	36	32.10	0.206	
VFQ-25 general health item	35	29.37	36	42.44	<b>0.003</b>	0.668
VFQ-25 general visual acuity	35	27.53	36	44.24	<b>&lt;0.0001</b>	0.885
VFQ-25 ocular pain	36	31.64	36	41.36	<b>0.029</b>	0.478
VFQ-25 near vision	36	24.89	36	48.11	<b>&lt;0.0001</b>	1.334
VFQ-25 distance vision	36	23.76	36	49.24	<b>&lt;0.0001</b>	1.534
VFQ-25 vision-related social function	36	28.32	36	44.68	<b>&lt;0.0001</b>	0.851
VFQ-25 vision-related mental health	36	22.81	36	50.19	<b>&lt;0.0001</b>	1.731
VFQ-25 vision-related role function	36	21.89	36	51.11	<b>&lt;0.0001</b>	1.950
VFQ-25 vision-related dependency	36	27.00	36	46.00	<b>&lt;0.0001</b>	1.019
VFQ-25 driving difficulties	32	21.16	30	42.53	<b>&lt;0.0001</b>	1.768
VFQ-25 color vision	36	29.00	36	44.00	<b>&lt;0.0001</b>	0.768
VFQ-25 peripheral vision	36	26.15	36	46.85	<b>&lt;0.0001</b>	1.138
VFQ-25 total score	36	22.47	36	50.53	<b>&lt;0.0001</b>	1.806

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0239210.t002>

occurred in 14 patients, of whom 50% were female with a mean age of  $62.5 \pm 5.4$  years. Four patients had a disease duration of 10 years or even more, of whom 75% were female with a mean age of  $71.0 \pm 5.5$  years. Based on the total score no differences were found in the different disease groups according to the duration: PHQ-9 ( $p = 0.733$ ), GAD-7 ( $p = 0.736$ ), and VFQ-25 ( $p = 0.058$ ) using Kruskal-Wallis-Test, unlike the subscales of the VFQ-25, where we calculated significant differences according to disease duration (Table 4).

In sum, we could not confirm our second hypothesis. However, as for disease duration, several aspects of vision-related quality of life seem to be impaired.

Table 3. Results of the VFQ-25 subscales according to the Kruskal-Wallis-test, stratified by disease severity.

Scale	Chi-squared P value	Disease severity	Middle- ranking	Z value und P value (adjusted)
General visual acuity	$\chi^2 = 7.949$ P = <b>0.015</b>	Active	16.75	Z = 2.472 P = <b>0.040</b>
		Inactive	16.21	
		Inactive „burned-out“	7.07	
Distance vision	$\chi^2 = 8.525$ P = <b>0.010</b>	Active	17.63	Z = 2.508 P = <b>0.026</b>
		Inactive	17.17	
		Inactive „burned-out“	7.38	
Social functioning	$\chi^2 = 6.528$ P = <b>0.032</b>	Active	18.13	Z = 2.432 P = <b>0.045</b>
		Inactive „burned-out“	8.94	
Role difficulties	$\chi^2 = 7.423$ P = <b>0.020</b>	Inactive	17.46	Z = 2.573 P = <b>0.030</b>
		Inactive „burned-out“	7.88	
Dependence on others	$\chi^2 = 7.283$ P = <b>0.023</b>	Active	18.19	Z = 2.523 P = <b>0.035</b>
		Inactive „burned-out“	8.38	
Color vision	$\chi^2 = 7.625$ P = <b>0.017</b>	Active	17.38	Z = 2.419 P = <b>0.047</b>
		Inactive	16.54	
		Inactive „burned-out“	8.56	
Peripheral vision	$\chi^2 = 7.754$ P = <b>0.017</b>	Active	18.13	Z = 2.548 P = <b>0.032</b>
		Inactive „burned-out“	7.94	

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0239210.t003>

**Table 4. Results of the VFQ-25 subscales according to the Kruskal-Wallis-test, stratified by disease duration.**

Scale	Chi-squared P value	Disease duration	Middle- ranking	Z value und P value (adjusted)
Near vision	$\chi^2 = 8.816$ <b>P = 0.021</b>	0–2 years	21.00	<b>Z = 2.857 P = 0.026</b>
		> 10 years	4.50	
Distance vision	$\chi^2 = 8.816$ <b>P = 0.021</b>	0–2 years	19.88	<b>Z = 2.857 P = 0.026</b>
		> 10 years	4.63	
Social functioning	$\chi^2 = 8.816$ <b>P = 0.021</b>	0–2 years	21.00	<b>Z = 2.857 P = 0.026</b>
		> 10 years	5.50	
Role difficulties	$\chi^2 = 8.816$ <b>P = 0.021</b>	3–4 years	19.33	<b>Z = 2.857 P = 0.026</b>
		> 10 years	3.88	
Dependence on others	$\chi^2 = 8.816$ <b>P = 0.021</b>	0–2 years	22.00	<b>Z = 2.857 P = 0.026</b>
		> 10 years	5.63	

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0239210.t004>

### Correlation of vision-related quality of life, depression, and anxiety

In our third hypothesis, we postulated that VFQ-25 would correlate significantly with the total scores of PHQ-9 and GAD-7. To verify this, we calculated the correlation coefficient according to Spearman. Our data showed significant correlations between the subscales of VFQ-25 and PHQ-9 (Table 5), but not with GAD-7. To specify the relationship between vision-related quality of life and depression, we performed a multiple linear regression analysis including all subscales of VFQ-25. The model was significant ( $F(12,18) = 4.15$ ,  $P = 0.003$ ,  $R^2 = 0.735$ ,  $R^2_{\text{corr}} = 0.558$ ). This means that 55.8% of the variance of vision-related quality of life can be explained by depression. According to this result, subscales of the VFQ-25 can be used as a good predictor for the expression of depression [28]. In the second step of our linear regression model, the VFQ-25 subscale “mental health” was found to be significant ( $p = 0.001$ ) (Table 6).

### Discussion

This study revealed the effects of impending or vision loss on depression, anxiety, and vision-related quality of life in vision threatening diseases. We found that BSRC and SC patients had higher levels of depression, and lower levels of vision-related quality of life, compared to HC. Duration of disease impaired several aspects of vision-related quality of life. The VFQ-25 subscale “mental health” positively predicted the occurrence of symptoms of depression in BSRC and SC patients compared to HC.

Patients with chronic somatic diseases have a high risk to display depression and anxiety [29]. In comparison to chronic somatic conditions, patients with reduced visual acuity even show higher levels of symptoms of depression and anxiety [30]. It is assumed that the deterioration of visual acuity, rather than the chronicity of the disease, leads to the manifestation of depression and anxiety in older people [30]. Since, in our study, the healthy control group was

**Table 5. Correlation coefficients, P values, and confidence measures for the relationship between the subscales scores of the VFQ-25 and the PHQ-9.**

Scale	$r_s$	<i>P</i>	<i>n</i>	$r^2$
Distance vision	-0.357	0.032	36	0.127
Role difficulties	-0.345	0.039	36	0.119
Driving difficulties	-0.371	0.036	32	0.138
Mental health	-0.521	0.001	36	0.271
Dependence on others	-0.427	0.009	36	0.182
Peripheral vision	-0.461	0.005	36	0.213

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0239210.t005>

**Table 6. Multiple linear regression analysis for the prediction of VFQ-25 subscales for symptoms of depression.**

VFQ-25 subscales	Regression coefficient $\beta$	T	P
Constant	15.163	4.368	<0.0001
General health	0.052	1.304	0.209
General visual acuity	0.026	0.543	0.594
Eye pain	-0.018	-0.548	0.591
Near vision	0.019	0.200	0.843
Distance vision	-0.012	-0.185	0.855
Social functioning	0.049	1.036	0.314
Mental health	-0.184	-3.772	<b>0.001</b>
Role difficulties	0.013	0.381	0.708
Dependence on others	-0.091	-1.645	0.117
Driving difficulties	-0.010	-0.424	0.677
Color vision	0.066	2.073	0.053
Peripheral vision	-0.034	-1.086	0.292

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0239210.t006>

matched for age and gender, the impact of these parameters may be less likely to account for the differences in our study. In line with our findings, Augustin et al. did not find evidence for anxiety disorder in patients with age-related macular degeneration [31]. Moreover, Onal et al. found that 52.5% patients with uveitis screened for symptoms of anxiety were younger (Mean age: 31.5 vs. 40 years,  $p = 0.009$ ) and had earlier onset of uveitis (Mean age: 26 vs. 35 years,  $p = 0.015$ ) [17]. Since the mean age of the patients in this study was approximately 62 years, age might contribute to the missing significance of symptoms of anxiety in the disease group.

We found no significant differences in the expression of depression, anxiety, and vision-related quality of life in groups with various disease severity or disease duration, concordant to the work of Kuiper et al [32]. However, we found differences in the subscales of VFQ-25, that are relevant to everyday life. Both, BSRC and SC, are progressive conditions, with widely uncontrolled inflammation of the retina and the choroid, which leads to degeneration of photoreceptor layers and ultimately to blindness [21, 33]. While active inflammation with vasculitis and choroiditis usually occurs unnoticed, unless patients suffer from severe vitreous haze and macular edema, the “inactive burned-out” disease is more problematic due to retinal hypoperfusion and atrophy [21], which is reflected in our results. The “inactive burned-out” group showed decreased subscales of VFQ-25 in distance, peripheral, and color vision. In addition, the duration of inflammation is a risk factor for retinal and macular thinning with ellipsoid zone disruption [21], which is also reflected by our results. We observed significant differences of VFQ-25 subscales between a short disease duration (0–2 years) and a long disease duration (> 10 years). Comparable results were published, where patients experienced color blindness and limited peripheral vision at later stages of disease [34]. Both groups, respectively, showed differences in “role difficulties”, “social functioning”, and “dependence on others”. The vision-related quality of life in relation to these subscales was strongly related to the patient’s ability to cope with daily life. In line with this, Kempen et al. showed that impaired vision was associated with impairment in the ability to handle daily life activities [30]. Moreover, our results show that the progressive visual limitations do not limit activities of daily life at once, but rather were associated with a continuing decline. We conclude this from the fact that the middle-ranking of the subscales decrease continuously, rather than reaching a constant level after a short period of time, i.e. disease duration. Long-term studies would be needed, in order to verify our finding. Additionally, the subscale “dependence on

others” should be considered in more detail in the future. Kempen et al. found that older persons (Mean: age: 77.4) with vision loss reported higher level of social support [30].

We demonstrated that subscales of the VFQ-25 predict the expression of symptoms of depression, especially the subscale “mental health”. This is somewhat trivial, since PHQ-9 records the expression of symptoms of depression, which in turn is a mental illness that negatively affects mental health. Therefore, it is self-explanatory that a total score that measures depression, as a mental limitation, correlates with the VFQ-25 subscale “mental health”. In addition, the VFQ-25 subscale “mental health” also captures the feeling of loss of control [35]. Lack of control over the feeling of worry is a sign of generalized anxiety disorder [36]. However, a significantly higher severity of generalized anxiety disorder in the disease group could not be observed. But we were able to show in our study that vision-related quality of life is related to “social functioning”, “role difficulties”, and “dependence on others”. It can be concluded that depression and quality of life are adversely affected by lack of social contacts and lack of social functioning. Thus, the focus of a treatment in BSRC and SC patients should be on maintaining the independence and ability for social interaction. Patients would benefit from psychological interventions that would support them to maintain their independence and help them to participate in public life and solve tasks of daily life, despite their visual impairment. Confidence in one’s own abilities should be maintained or restored.

The study has a few limitations. The sample size is small and makes it difficult to generalize the results. A multicenter study should be conducted to overcome the low incidence and prevalence of the diseases. Some of the items of the questionnaires were not completed, and we did not check for completeness.

In conclusion, our results demonstrated that BSRC and SC patients have a higher manifestation of depression and a reduced vision-related quality of life due to imminent loss of vision. No difference in the levels of depression, anxiety, and vision-related quality of life for the various disease severity and disease durations of BSRC could be recorded, but for some subscales of vision-related quality of life. “Mental health”, which is a predictor of depression should not be underestimated in the disease group. Therefore, a mental health worker specialized in psychosomatic care, should be involved. Early diagnosis of mental health disorders can improve the progression and prognosis of depression in BSRC and SC patients.

## Supporting information

### S1 Data. Anonymized data of the patients.

(XLSX)

## Author Contributions

**Conceptualization:** Dominika Pohlmann, Özgür Albayrak.

**Data curation:** Dominika Pohlmann, Anne Barth, Sergio Macedo.

**Formal analysis:** Anne Barth.

**Investigation:** Anne Barth.

**Methodology:** Özgür Albayrak.

**Project administration:** Dominika Pohlmann.

**Supervision:** Özgür Albayrak.

**Validation:** Dominika Pohlmann, Özgür Albayrak.



**Visualization:** Dominika Pohlmann, Uwe Pleyer, Sibylle Winterhalter, Özgür Albayrak.

**Writing – original draft:** Dominika Pohlmann, Özgür Albayrak.

**Writing – review & editing:** Uwe Pleyer, Sibylle Winterhalter.

## References

1. Minos E, Barry RJ, Southworth S, et al. Birdshot chorioretinopathy: current knowledge and new concepts in pathophysiology, diagnosis, monitoring and treatment. *Orphanet J Rare Dis.* 2016; 11:61. <https://doi.org/10.1186/s13023-016-0429-8> PMID: 27175923
2. Lim WK, Buggage RR, Nussenblatt RB. Serpiginous choroiditis. *Surv Ophthalmol.* 2005; 50(3):231–244. <https://doi.org/10.1016/j.survophthal.2005.02.010> PMID: 15850812
3. Wakefield D, Chang JH. Epidemiology of uveitis. *Int Ophthalmol Clin.* 2005; 45:1–13. <https://doi.org/10.1097/OI.0000155938.83083.94> PMID: 15791154
4. de Smet MD, Taylor SR, Bodaghi B, et al. Understanding uveitis: the impact of research on visual outcomes. *Prog Retin Eye Res.* 2011; 30:452–470. <https://doi.org/10.1016/j.preteyeres.2011.06.005> PMID: 21807112
5. Shamdas M, Bassilious K, Murray PI. Health-related quality of life in patients with uveitis. *Br J Ophthalmol.* 2018; 0:1–5. <https://doi.org/10.1136/bjophthalmol-2018-312882> PMID: 30361275
6. Palermo TM, Long AC, Lewandowski AS, et al. Evidence-based assessment of health-related quality of life and functional impairment in pediatric psychology. *J Pediatr Psychol.* 2008; 33:983–96. <https://doi.org/10.1093/jpepsy/jsn038> PMID: 18430762
7. Revicki DA, Kleinman L, Cella D. A history of health-related quality of life outcomes in psychiatry. *Dialogues Clin Neurosci.* 2014; 16:127–35. PMID: 25152652
8. Yin S, Niai R, Barker K'L, Siegel PZ. Summarizing health-related quality of life (HRQOL): development and testing of a one-factor model. *Popu Health Metr.* 2016; 11:14:22. <https://doi.org/10.1186/s12963-016-0091-3> PMCID: PMC4940947
9. Hirneiss C, Neubauer AS, Gass CA, Reiniger IW, et al. Visual quality of life after macular hole surgery: outcome and predictive factors. *Br J Ophthalmol.* 2007; 91:481–484. <https://doi.org/10.1136/bjo.2006.102376> PMID: 17077117
10. Pauleikhoff D, Scheider A, Wiedmann P, Gelissen F, et al. Neovascular age related macular degeneration in Germany. Encroachment on the quality of life and the financial implications. *Ophthalmologe.* 2009; 106:242–251. <https://doi.org/10.1007/s00347-008-1797-9> PMID: 18709375
11. Hariprasad SM, Mieler WF, Grassi M, Green JL, et al. Vision-related quality of life in patients with diabetic macular oedema. *Br J Ophthalmol.* 2008 Jan; 92(1):89–92. <https://doi.org/10.1136/bjo.2007.122416> PMID: 17584999
12. Li M, Gong L, Sun X, et al. Anxiety and depression in patients with dry eye syndrome. *Curr Eye Res.* 2011; 36(1):1–7. <https://doi.org/10.3109/02713683.2010.519850> PMID: 21174591
13. Mabuchi F, Yoshimura K, Kashiwagi K, et al. High prevalence of anxiety and depression in patients with primary open-angle glaucoma. *J Glaucoma.* 2008; 17(7):552–557. <https://doi.org/10.1097/IJG.0b013e31816299d4> PMID: 18854732
14. Brody BL, Gamst AC, Williams RA, et al. Depression, visual acuity, comorbidity, and disability associated with age-related macular degeneration. *Ophthalmology.* 2001; 108(10): 1893–1900. discussion 1900–1891. [https://doi.org/10.1016/s0161-6420\(01\)00754-0](https://doi.org/10.1016/s0161-6420(01)00754-0) PMID: 11581068
15. Jampel HD, Frick KD, Janz NK, et al. Depression and mood indicators in newly diagnosed glaucoma patients. *Am J Ophthalmol.* 2007; 144(2):238–244. <https://doi.org/10.1016/j.ajo.2007.04.048> PMID: 17560843
16. Hahm BJ, Shin YW, Shim EJ, et al. Depression and the vision-related quality of life in patients with retinitis pigmentosa. *Br J Ophthalmol.* 2008; 92(5):650–654. <https://doi.org/10.1136/bjo.2007.127092> PMID: 18356260
17. Onal S, Oray M, Yasa C, Akman M, et al. Screening of Depression and Anxiety in Patients with Active Uveitis. *Ocul Immunol Inflamm.* 2018; 26(7):1078–1093. <https://doi.org/10.1080/09273948.2017.1319959> PMID: 28548554
18. Maca SM, Wagner J, Weingessel B, et al. Acute anterior uveitis is associated with depression and reduction of general health. *Br J Ophthalmol.* 2013; 97(3):333–337. <https://doi.org/10.1136/bjophthalmol-2012-302304> PMID: 23335208

19. Qian Y, Glaser T, Esterberg E, et al. Depression and visual functioning in patients with ocular inflammatory disease. *Am J Ophthalmol*. 2012; 153(2):370–378.e2. <https://doi.org/10.1016/j.ajo.2011.06.028> PMID: 21924399
20. Franke GH, Schutte E, Heiligenhaus A. [Rehabilitation-psychological aspects of uveitis]. *Psychother Psychosom Med Psychol*. 2005; 55(2):65–71. <https://doi.org/10.1055/s-2004-828504> PMID: 15702425
21. Pohlmann D, Macedo S, Stübiger N, Pleyer U, et al. Multimodal Imaging in Birdshot Retinochoroiditis. *Ocul Immunol Inflamm*. 2017; 25(5), 621–632. <https://doi.org/10.1080/09273948.2017.1375532> PMID: 29083980
22. Macedo S, Pohlmann D, Lenglinger M, et al. Optical coherence tomography angiography (OCTA) findings in Serpiginous Choroiditis. *BMC Ophthalmol*. 2020; 20(1):258. <https://doi.org/10.1186/s12886-020-01527-5> PMID: 32605555
23. Löwe B, Kroenke K, Herzog W, Gräfe K. Measuring depression outcome with a brief self-report instrument: Sensitivity to change of the Patient Health Questionnaire (PHQ-9). *Journal of affective disorders*. 2004; 81(1), 61–66. [https://doi.org/10.1016/S0165-0327\(03\)00198-8](https://doi.org/10.1016/S0165-0327(03)00198-8) PMID: 15183601
24. Spitzer RL, Kroenke K, Williams JB, Löwe B. A brief measure for assessing generalized anxiety disorder: The GAD-7. *Archives of internal medicine*. 2006; 166(10), 1092–1097. <https://doi.org/10.1001/archinte.166.10.1092> PMID: 16717171
25. Kroenke K, Spitzer RL, Williams JB. The PHQ-9: Validity of a brief depression severity measure. *J Gen Intern Med*. 2001; 16(9), 606–613. <https://doi.org/10.1046/j.1525-1497.2001.016009606.x> PMID: 11556941
26. Cole SR, Beck RW, Moke PS, Gal RL, et al. The National Eye Institute Visual Function Questionnaire: experience of the ONTT. *Optic Neuritis Treatment Trial*. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2000; 41(5):1017–21. PMID: 10752936
27. Hirneiss C, Neubauer AS, Gass CA, et al. Visual quality of life after macular hole surgery: outcome and predictive factors. *Br J Ophthalmol*. 2007; 91(4):481–484. <https://doi.org/10.1136/bjo.2006.102376> PMID: 17077117
28. Cohen J. *Statistical Power Analysis for the Behavioral Sciences* (2nd ed.). 2013; Hoboken: Taylor and Francis. Retrieved from <http://gbv.ebib.com/patron/FullRecord.aspx?p=1192162>
29. Härter M, Baumeister H, Reuter K, Jacobi F, et al. Increased 12-month prevalence rates of mental disorders in patients with chronic somatic diseases. *Psychother Psychosom*. 2007; 76(6), 354–360. <https://doi.org/10.1159/000107563> PMID: 17917471
30. Kempen GI, Ballemans J, Ranchor AV, van Rens GH, et al. The impact of low vision on activities of daily living, symptoms of depression, feelings of anxiety and social support in community-living older adults seeking vision rehabilitation services. *Qual Lif Res*. 2012; 21(8), 1405–1411. <https://doi.org/10.1007/s11136-011-0061-y> PMID: 22090173
31. Augustin A, Sahel JA, Bandello F, Dardennes R, et al. Anxiety and depression prevalence rates in age-related macular degeneration. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2007; 48(4), 1498–1503. <https://doi.org/10.1167/iovs.06-0761> PMID: 17389477
32. Kuiper JJ, Missotten T, Baarsma SG, Rothova A. Vision-related quality of life in patients with birdshot chorioretinopathy. *Acta Ophthalmol*. 2013; 91(4), e329–31. <https://doi.org/10.1111/aos.12054> PMID: 23289541
33. Monnet D, Levinson RD, Holland GN, et al. Longitudinal cohort study of patients with birdshot chorioretinopathy. III. Macular imaging at baseline. *Am J Ophthalmol*. 2007; 144:818–828. <https://doi.org/10.1016/j.ajo.2007.08.011> PMID: 17949671
34. Priem HA, Oosterhuis JA. Birdshot chorioretinopathy: Clinical characteristics and evolution. *Br J Ophthalmol*. 1988; 72(9), 646–659. <https://doi.org/10.1136/bjo.72.9.646> PMID: 2460128
35. Franke GH, Esser J, Voigtländer A, Mähner N. Der National Eye Institute Visual Function Questionnaire (NEI-VFQ): Erste Ergebnisse zur psychometrischen Überprüfung eines Verfahrens zur Erfassung der Lebensqualität bei Sehbeeinträchtigten. *Zeitschrift für Medizinische Psychologie*. 1998; 7(4), 178–184. German.
36. Stein MB, Sareen J. CLINICAL PRACTICE. Generalized Anxiety Disorder. *N Engl J Med*. 2015; 373(21), 2059–2068. <https://doi.org/10.1056/NEJMcp1502514> PMID: 26580998

## 3 Diskussion

Die WDS umfasst eine Gruppe von entzündlichen Erkrankungen des hinteren Augenabschnittes mit gemeinsamen Merkmalen. Gass hat die klinischen Befunde der WDS sehr genau beschrieben, verglichen und gegenübergestellt und als „eine Krankheit“ definiert [95]. Es muss heute bezweifelt werden, dass dieses Spektrum an Erkrankungen als eine Entität zusammengefasst werden kann. Zwar weisen alle Erkrankungen ähnliche weißliche Läsionen am Fundus auf, jedoch sind sie unterschiedlich lokalisiert, können transient oder persistierend sein. Mit Hilfe moderner, multimodaler Bildgebung können zumindest nun die einzelnen Erkrankungen besser beschrieben und definiert werden. Auch nehmen die Erkenntnisse immunologischer Untersuchungen einen höheren Stellenwert ein. Dies könnte sowohl für die korrekte Diagnose und Abgrenzung der Krankheitsbilder als auch für therapeutische Maßnahmen zunehmend an Bedeutung gewinnen.

Die Arbeiten der vorliegenden kumulativen Habilitationsschrift fokussieren auf verschiedene Aspekte zweier Krankheitsbilder aus dem WDS-Kreis. Zum einen zeigt die Originalarbeit 1 experimentelle Untersuchungen von inflammatorischen T-Zellen aus dem peripheren Blut von Patienten mit BSRC. In den Originalarbeiten 2 und 3 werden klinische Merkmale mit der multimodalen Bildgebung und der zusätzlichen neuen Technik, der OCTA in BSRC und PIC charakterisiert. Originalarbeit 4 umfasst die Therapiemöglichkeiten bei PIC und zeigt zusätzlich die Follow-up Ergebnisse der OCTA. Da beide Erkrankungen eine hohe Erblindungsrate aufweisen, ist es notwendig auf die Ängste und Einschränkungen im alltäglichen Leben bei diesen Patienten einzugehen, was in der Originalarbeit 5 erfolgt.

### 3.1 Birdshot Retinochoroiditis

#### 3.1.1 Immunologie

Von allen WDS ist die BSRC, die am meisten untersuchte Erkrankung im Hinblick auf immunologische und genetische Aspekte der pathophysiologischen Grundlagen. Das liegt vor allem daran, dass sie klassische, prägnante, klinische Merkmale aufweist und zum anderen sehr stark mit dem HLA-A-29 Genotyp assoziiert ist, so dass eine klare Diagnose gestellt werden kann. Den HLA-Klasse-I-assoziierten Erkrankungen liegt in aller Regel eine Reaktion der CD8<sup>+</sup> T-Zellen zu Grunde. Zur Verstärkung der Entzündungsreaktion werden zusätzlich immunogene Antigene von HLA-Klasse-II-Molekülen durch die zirkulierenden spezifischen okulären CD4<sup>+</sup> T-Zellen erkannt. Hier setzt unsere Pilotstudie an (Originalarbeit 1), die die Phänotypisierung von verschiedenen inflammatorischen Gedächtniszellen im peripheren Blut von BSRC-Patienten mit aktiven und inaktiven Krankheitsstadien zeigen. Es konnte ein

signifikanter Anstieg der CD45RA-exprimierenden CD8<sup>+</sup> T-Zellen ( $T_{EMRA}$ ) bei Patienten mit inaktiver, ausgebrannter Erkrankung detektiert werden (im Vergleich zu Patienten mit aktiver Erkrankung).  $T_{EMRA}$ s sind die am meisten differenzierten Gedächtniszellen mit einer hohen Zytotoxizität [102] und einer hohen Empfindlichkeit gegenüber einer Apoptose [103]. Sie sind fähig zu Entzündungsorten zu migrieren und dort lokale Regenerationsprozesse zu hemmen. Dies konnte bereits bei einer Vielzahl von autoimmunologischen Krankheiten wie Multipler Sklerose und systemischem Lupus erythematodes nachgewiesen werden [104,105]. Die Akkumulation von CD8<sup>+</sup>  $T_{EMRA}$ s korreliert u.a. auch mit dem Alter, einer chronischen Antigenstimulation und der Immunseneszenz [106-108], was als Alterungs- und Erschöpfungsprozess des Immunsystems interpretiert wird [109,110]. Wir nehmen an, dass erhöhte CD8<sup>+</sup>  $T_{EMRA}$ s Zellpopulationen erschöpfte, alternde und schwach proliferative T-Zellen mit mehreren Funktionsstörungen widerspiegeln und somit eine beeinträchtigte lokale Immunfunktion im Auge darstellen. Dies wird sehr wahrscheinlich durch wiederkehrende und/oder konstante entzündliche Episoden hervorgerufen. Demzufolge könnten CD8<sup>+</sup>  $T_{EMRA}$ s als ein Biomarker für ein schlechteres Prognoseergebnis bei inaktiven, ausgebrannten BSRC-Patienten diskutiert werden [111].

Darüber hinaus haben wir die T-Zellen anhand von Chemokin-Rezeptoren - und nicht nach unterschiedlichen Zytokinen wie in den meisten Studien - klassifiziert. Aufgrund der wiederkehrenden entzündlichen Episoden ist es fraglich, ob eine Erschöpfung der T-Zellen besteht und eine Messung der Effektorfunktion durch eine Zytokinanalyse ein geeigneter Ansatz für eine Charakterisierung der T-Zellfunktion bei Uveitis-Patienten ist. Zumal wir einen verringerten Zytokinpiegel bei allen BSRC-Patienten unabhängig von der Therapie, beobachten konnten [111]. Die chemotaktischen Rezeptoren liefern dagegen zusätzliche und genauere Informationen über die Häufigkeit und Zusammensetzung bestimmter peripherer T-Zell-Kompartimente bei BSRC. Unsere Ergebnisse zeigten eine  $T_H1/T_H2$ -Imbalance auf, die auf eine Veränderung der Immunfunktion hinweist und bereits bei der experimentellen Autoimmun-Uveitis beschrieben wurde [112]. Daher könnte das  $T_H1/T_H2$  Verhältnis als ein indikativer Marker für die BSRC-Krankheitsaktivität dienen. Es bleibt jedoch zu beachten, dass Immunveränderungen im peripheren Blut nicht unbedingt Veränderungen im Auge widerspiegeln müssen. Weitere systemische und/oder autoimmunologische Erkrankungen lagen bei unseren Patienten jedoch nicht vor.

### **3.1.2 Bildgebung**

Multimodale bildgebende Verfahren bei den chronisch entzündlichen, intraokularen Erkrankungen des hinteren Abschnittes wie den WDS sind essentieller Bestandteil jeder klinischen Untersuchung. Insbesondere die OCT gestattet eine sichere Darstellung der

anatomischen Strukturen und eignet sich um Komplikationen wie ein Makulaödem oder eine CNV zu detektieren. Auch die Beteiligung des Sehnervs im Rahmen einer Papillitis oder eines Papillenödems kann mittels OCT genauer beurteilt werden. Zudem liefert sie auch neue morphologische Biomarker, welche Aussagen über die funktionelle Prognose geben können. So ist zum Beispiel die makuläre RPE-Atrophie mit einem schlechten visuellen Ergebnis assoziiert [113]. Insbesondere lassen sich Störungen der inneren und äußeren Netzhautschichten, sowie der Photorezeptoren mit der OCT gut darstellen, welche relevant in der BSRC-Diagnostik sind [114]. Typisch für BSRC ist eine Netzhautausdünnung mit einer Netzhautatrophie und einem Verlust der Photorezeptorenschicht [31]. Dabei scheint die Dauer der Entzündung mit dem morphologischen Netzhautschaden zu korrelieren. Unsere Ergebnisse (Originalpublikation 2) konnten zeigen, dass je länger die Erkrankung bestand, desto mehr strukturelle Veränderungen wie eine gestörte ELM, Ellipsoidzone und RPE/BM-Komplex vorhanden waren. Eine verminderte Sehleistung und eine erniedrigte zentrale retinale Dicke im Rahmen einer Netzhautatrophie waren zudem begleitend mit einem beeinträchtigten Gesichtsfeld [114]. Eine weitere zukünftige Diagnostik im Praxisalltag könnte die automatisierte OCT-basierte objektive Quantifizierung der Glaskörperentzündung durch Messung der Signalintensität sein [115,116]. Bisher erfolgte die Beurteilung der entzündlichen Aktivität im Glaskörper anhand einer subjektiven Graduierung nach Nussenblatt [117]. Der Goldstandard zur Einschätzung der Krankheitsaktivität ist aktuell weiterhin die FAG/ICGA. Anhand von Hyper- und Hypofluoreszenzen in verschiedenen zeitlichen Phasen können entzündliche Veränderungen der Netzhaut, Gefäße, Papille und Aderhaut genau differenziert werden.

Eine deutliche Erweiterung in der multimodalen Bildgebung ist, die OCTA - eine neue, nicht-invasive, 3-dimensionale Bildgebungstechnik, welche erstmalige Einblicke in verschiedene Netzhaut- und Aderhautschichten bietet. Diese Technologie hat das Potential, Gefäßanomalien und pathophysiologische Prozesse genau zu lokalisieren und abzugrenzen, die insbesondere in der Uveitis bzw. bei den WDS relevant sind. Die detaillierten Einblicke in die mikrovaskuläre Architektur der SCP, DCP und Choriokapillaris zeigen bei der BSRC veränderte Gefäße mit reduzierter oder komplett erloschener Durchblutung [40,114]. Es wird angenommen, dass diese lokale Durchblutungsstörung zu einer Makula- und Netzhautausdünnung mit Störung der Photorezeptoren führt. Dank OCTA kann u.a. auch eine choroidale Beteiligung bei APMPE, SC und bei BSRC diagnostiziert und verfolgt werden [118-120]. Burke et al. zeigte eine reversible choroidale Hypoperfusion im akuten und späteren Krankheitsverlauf bei APMPE-Patienten [118]. Die choroidale Hypoperfusion wurde auch bei anderen WDS als ein gemeinsames Merkmal beobachtet [121]. In einer Fallbeschreibung wurde zudem die Entwicklung von akuten entzündlichen Läsionen bei BSRC-Patienten in der Haller Schicht (tiefe Schicht der Choroidea) beobachtet. Zudem

zeigten sich bei unbehandelten Patienten ausgedehnte Schädigungen, die alle Choroidea-Schichten betrafen und auch das RPE und die Netzhaut involvierte [120]. Auch bei SC-Patienten konnte mittels OCTA beobachtet werden, dass entzündliche Läsionen mit der Krankheitsaktivität zunahmen und sich unter einer Kortikosteroidtherapie verbesserten [122]. Die OCTA liefert damit neue pathophysiologische Erkenntnisse, u.a. dass die Choriokapillaris der primäre Ort der Entzündung zu sein scheint.

Es bestehen jedoch auch signifikante Limitationen der OCTA. Zum einen können Bildartefakte, wie sog. „systemimmanente Artefakte“ (Projektions- und Abschattungsartefakte) unabhängig vom Gerätetyp oder Artefakte im Rahmen der Datenerfassung/Bildprozessierung (Segmentierungsartefakte, Duplikationen von Gefäßen) entstehen [123]. Weitere Störungen können durch Augenbewegungen oder Blinzeln hervorgerufen werden, welche heutzutage durch den Einsatz von Eye-Tracking verringert und korrigiert werden können [124]. Die OCTA Aufnahme war lange Zeit auf einen kleinen, 3x3 mm Bereich beschränkt. Durch kontinuierliche Weiterentwicklung der Technik ist mittlerweile jedoch eine größere OCTA-Aufnahme möglich und im Rahmen von Forschungsansätzen ist bereits eine Weitwinkelfunktion in einigen Geräten vorhanden, welche u.a. erfolgreich zur Detektion von vaskulären Veränderungen bei der intermediären Uveitis und bei MEWDS verwendet wurde [123,124].

Obwohl die OCTA mittlerweile bereits einige Jahre verfügbar ist, fehlt weiterhin eine standardisierte Terminologie der mittels OCTA-detektierten Veränderungen bei intraokularen Entzündungen [126].

### **3.1.3 Therapie**

Es gibt bis dato keinen Konsens zur Behandlung von BSRC-Patienten. Eine retinale Vaskulitis und ein Makulaödem können durch die systemische Gabe von Immunsuppressiva durchaus positiv beeinflusst werden. Aber es stellt sich die Frage, ob auch die Entwicklung einer diffusen Netzhautatrophie und von Gesichtsfelddefekten durch eine steroidsparende Therapie verhindert werden kann. You et al. zeigte in einer großen, retrospektiven, Studie an 132 immunsuppressiv behandelten Patienten (264 Augen) mit langer Nachbeobachtungszeit, dass nach einem Jahr 39% und nach fünf Jahren 78% der Patienten zwar keine klinische aktive Entzündung mehr aufwiesen, aber es wurde auch keine signifikante Verbesserung von Visus, ERG oder in der Perimetrie zwischen Baseline und den Nachuntersuchungen gemessen [127]. Andere Langzeitstudien zeigten progressive Netzhautstörungen und schlechte visuelle Ergebnisse trotz einer Immunsuppression [128,129]. Nichtsdestotrotz sollte eine retinale Vaskulitis und Papillitis insbesondere bei therapierefraktären Patienten mit immunmodulatorischen Standardtherapien nicht toleriert werden, da man von nachfolgenden

Photorezeptorschäden durch die chronische Entzündung ausgehen muss. Kleine Fallserien demonstrierten, dass sich unter Adalimumab-Behandlung die Sehschärfe und das Makulaödem bei BSRC-Patienten verbesserten, aber dennoch keine vollständige Remission erreicht wurde [130]. Eine Umstellung auf ein anderes anti-TNF- $\alpha$  Präparat, wie z.B. Infliximab (Off-Label) ist möglich und zeigte in 22 BSRC-Patienten zwar eine Verbesserung der Entzündung, jedoch in 27% der Patienten unerwünschte Nebenwirkungen wie arzneimittelinduzierter Lupus, allergische Reaktion, Neuropathie oder Pilzinfektion [131]. Leider sprechen bereits initial bis zu 30% der Patienten nicht auf die anti-TNF- $\alpha$  Therapie an. Bei etwa 50% der Patienten schwächt sich zudem der Therapieerfolg im Laufe der Zeit deutlich ab [132]. Eine Ursache hierfür könnte die Entwicklung von spezifischen Anti-Drug-Antikörpern sein, welche sich nach 3 bis 6 Monaten bilden [132]. Bei zusätzlich niedrigem Medikamentenspiegel sollte die Therapie umgestellt werden, z.B. auf ein anderes Biologikum wie Tocilizumab. Tocilizumab ist ein humanisierter, monoklonaler Antikörper gegen das IL-6, das bereits bei therapierefraktärer, nicht-infektiöser Uveitis und dem uveitischen Makulaödem erfolgreich eingesetzt wurde [133-135]. Zwei Fallberichte mit jeweils zwei therapierefraktären BSRC-Patienten zeigten eine Verbesserung der Sehleistung und des Makulaödems im OCT [136,137].

Alternativ gibt es für nicht-infektiöse posteriore Uveitiden mit Vitritis oder Makulaödem eine intravitreale Behandlungsoption mittels Dexamethason-Implantats (Ozurdex®, Allergan, Inc., Irvine, CA, USA). Ozurdex® ist ein Depotpräparat mit einer vollständig abbaubaren Polymatrix. Das Dexamethason wird über einen Zeitraum von ca. 4 bis 6 Monaten kontinuierlich freigesetzt und führt zur Verringerung der Glaskörperentzündung, einer Verbesserung der Sehschärfe und zur Reduktion des Makulaödems [138]. Unsere Studie konnte zeigen, dass 8 BSRC-Patienten (12 Augen) bereits einen Monat nach Ozurdex® Implantation eine signifikante Reduktion der zentralen Retinadicke aufwiesen [139]. Dennoch ist eine systemische Begleittherapie bei BSRC durchaus notwendig, um längerfristig eine Stabilisation der Entzündung zu gewährleisten und die Rezidivneigung zu vermindern [140]. Zudem wird die Wirkung der anti-VEGF-Therapie als unzureichend eingeschätzt. Bei Rezidiven des Makulaödems und nicht ausreichender Wirkung von Ozurdex®, ist nun ein Fluocinolonacetamid-Implantat (Iluvien®, Alimera Sciences, Alpharetta, GA, USA) mit einer Wirkung von bis zu 36 Monaten für nicht-infektiöse Uveitiden zugelassen [141]. Die häufigsten, klinisch relevanten Nebenwirkungen von beiden Präparaten sind die Induktion einer Katarakt sowie eine Erhöhung des intraokularen Drucks, die entsprechend therapiert werden müssen.

### **3.1.4 Patientenbetreuung**

Die BSRC-Erkrankung ist eine chronische, progressive Erkrankung, die trotz intensiver anti-entzündlicher Therapie zum dauerhaften Sehverlust führen kann. Nur 15% der Patienten erreichen adäquate klinische Resultate, sprich eine kontrollierte Entzündung unter einer systemischen Behandlung mit Kortikosteroiden [48]. Die Behandlung mit systemischen Immunsuppressiva hat schwere Auswirkungen auf die Lebensqualität der Patienten. In der Originalarbeit 5 konnten wir eine höhere Depressionsrate und eine niedrige visuelle Lebensqualität bei BSRC im Vergleich zur gesunden Kontrollgruppe messen [142]. Es wurde gezeigt, dass Patienten mit einer verminderten Sehschärfe, verglichen mit chronisch, somatisch erkrankten Patienten, ein höheres Maß an Depressionen und Angstzustände zeigten [143]. In unserer Studie konkordant zu Kuiper et al. gab es keine signifikanten Unterschiede von Depressionen, Angstzuständen und visueller Lebensqualität in Gruppen mit unterschiedlichem Schweregrad der Erkrankung oder unterschiedlicher Krankheitsdauer [144]. In den Subskalen der visuellen Lebensqualität, die mit der Fähigkeit der alltäglichen Lebensbewältigung zusammenhängen, zeigten sich jedoch Unterschiede abhängig vom Schweregrad der Erkrankung.

Des Weiteren bestätigte sich, dass das Vorliegen einer Sehstörung mit einer Beeinträchtigung der alltäglichen Lebensbewältigung assoziiert war [143]. Wir konnten in unserer Studie beobachten, dass die fortschreitende visuelle Einschränkung die Aktivitäten des täglichen Lebens nicht plötzlich, sondern über die Zeit kontinuierlich einschränkt. Zudem scheinen soziale Kontakte und das „soziale Funktionieren“ beeinträchtigt zu sein. Wir schlussfolgerten daher, dass BSRC-Patienten neben einer fachspezifischen, augenärztlichen Betreuung in vielen Fällen auch eine psychologische Betreuung vor allem zur Aufrechterhaltung der Unabhängigkeit und Fähigkeit zur sozialen Interaktion benötigen [142]. Es bleibt anzunehmen, dass nicht nur BSRC-Patienten, sondern im Allgemeinen alle Patienten mit visusbedrohenden und chronischen Uveitiden von einer psychosomatischen Behandlung profitieren.

## **3.2 Punktförmige innere Choroidopathie**

### **3.2.1 Immunologie**

Bis zum jetzigen Zeitpunkt sind nur sehr wenige Erkenntnisse zum immunologischen Hintergrund der PIC vorhanden. Aktuell geht man von einer autoimmunologischen Komponente aus, da 26% der Patienten ein familiäres Vorkommen von Autoimmunerkrankungen und 3 bis 13% der Patienten Autoimmunerkrankungen in der Eigenanamnese aufzeigten [59,145]. Eine gezielte Genotypisierung von PIC und MFC Patienten ergab in beiden Patientengruppen eine ähnliche Assoziation mit dem TNF $\alpha$ - und IL10-Haplotyp, welche im Allgemeinen mit der nicht-infektiösen Uveitis und einer



Autoimmunität assoziiert waren [145]. Eine Assoziation mit HLA-B7 und HLA-DR2 – wie beim Presumed ocular histoplasmosis syndrome (POHS) – wurde bei der PIC und MFC nicht gefunden, trotz phänotypisch ähnlichem Bild [145-148].

Neben dem immunologischen Hintergrund, ist auch die Pathogenese einer sekundären, inflammatorischen CNV bei PIC bisher nur unzureichend verstanden. Die Gründe sind zum einen, dass es hierfür kein zuverlässiges (tier-)experimentelles Modell gibt und zum anderen der größte Teil des Wissens über die Entstehung von CNVs aus histopathologischen Studien zur altersbedingten Makuladegeneration stammt. Wir wissen, dass VEGF eine Schlüsselrolle bei der Angiogenese spielt, welches von Endothelzellen, Perizyten, Müller-Zellen, Ganglienzellen, Photorezeptoren und RPE-Zellen produziert wird [149]. Ein Ungleichgewicht zwischen stimulierenden und hemmenden, löslichen Mediatoren, die vom RPE produziert werden, führt dann zur erhöhten Permeabilität und einer veränderten Angiogenese. Durch die chronische Entzündung kommt es zur Störung des BM/RPE-Komplexes, so dass es zu einer Einsprossung aus der Choroidea stammenden Gefäßen in den sub-RPE oder subretinalen Raum kommt und dies dann zu Flüssigkeitsleckagen führt. Bei PIC-Patienten mit einer inflammatorischen CNV sollte differentialdiagnostisch auch an eine myope CNV gedacht werden, die in ca. 10% der Patienten mit einer degenerativen Myopie auftritt [150]. In diesem Fall wird als Ursache eine fortschreitende axiale Dehnung des Auges mit der Folge einer Ausdünnung der Retina und Choroidea verbunden. In Folge einer Minderdurchblutung und einer resultierenden VEGF-Expression bildet sich vermutlich eine CNV.

### **3.2.2 Bildgebung**

Wie bereits bei der BSRC beschrieben, ist die multimodale Bildgebung auch bei der PIC von großer Bedeutung. Hiermit ist es möglich aktive PIC-Läsionen aufzudecken und diese von CNVs zu differenzieren. Durch die neue Bildmodalität, die OCTA, können nun auch die CNVs genauer charakterisiert und zusätzlich von PIC-Läsionen unterschieden werden. Die Originalarbeit 3 zeigt als eine der ersten Arbeiten die Morphologie der CNVs bei der PIC mittels OCTA [151]. Neben der CNV Klassifizierung konnten wir in der Regressionsanalyse zeigen, dass die Krankheitsaktivität von mehreren Prädiktoren wie das Vorhandensein von intraretinaler Flüssigkeit in der OCT, Leckagen in der FAG und Minderperfusion bzw. keine Perfusion in der OCTA abhängt [151]. Dem zu Folge ist der größte Vorteil der OCTA die Aufdeckung von sekundären, inflammatorischen CNVs, die z.B. auch keine definitiven Leckagen in der FAG zeigen [151,152]. Andere Studien mit MFC Patienten konnten mittels OCTA CNVs von entzündlichen Läsionen unterscheiden [153, 154]. Nicht nur die Visualisierung der detaillierten Gefäßstruktur der CNV, sondern auch eine quantitative Messung der Perfusionsareale ist möglich [151-155]. Ebenfalls scheint eine Unterscheidung

der Ätiologie möglich und damit die Pathogenese von CNVs mittels OCTA denkbar. Sekundäre, inflammatorische CNVs von WDS scheinen interessanterweise kleiner zu sein als solche der altersbedingten Makuladegeneration [156]. Die OCTA kann damit einen wichtigen Beitrag zur Pathogenese der CNV liefern und ist eine überaus gute Ergänzung zu der Standardbildgebung.

### **3.2.3 Therapie**

Evidenzbasierte Empfehlungen zum optimalen Therapieregime bei der PIC gibt es bisher nicht. Die meisten Therapieentscheidungen beruhen auf persönliche Expertenerfahrungen und kleinen retrospektiven, unkontrollierten Studien [61,66,73,79-82]. Diese zeigten, dass die sekundären, inflammatorischen CNVs durchaus mit einer intravitrealen anti-VEGF Therapie aufgrund einer guten Ansprechrate behandelt werden können. In der Originalarbeit 4 wurden PIC-Patienten mit sekundärer, inflammatorischer CNV verglichen, die entweder mit anti-VEGF allein oder in Kombination mit Immunsuppressiva behandelt worden sind. Die Gruppe mit der alleinigen anti-VEGF Therapie zeigte eine signifikante Verringerung der CNV-Größe und eine Reduktion der intraretinalen oder subretinalen Flüssigkeitsansammlung [155]. Die zweite Gruppe mit der kombinierten Therapie präsentierte zwar nur im geringen Maße diese Veränderungen, aber wir beobachteten eine verringerte Flüssigkeitsakkumulation vor der Injektion im Vergleich zu der ersten Gruppe [155]. Aus dieser Beobachtung schlussfolgerten wir, dass Immunsuppressiva einen Vorteil und eine Wirksamkeit bei der Stabilisierung der Entzündung bei PIC haben. Außerdem nehmen wir an, dass die Patienten mit einer Kombinationstherapie eine aggressivere Form der PIC aufwiesen. Damit kommt der Behandlung dieser Patientengruppe eine größere Bedeutung zu. Unsere Ergebnisse sind vergleichbar mit der Studie von Wu et al., die zeigen, dass sowohl die Behandlung mit Kortikosteroiden und anti-VEGF als auch eine Monotherapie mit anti-VEGF das Sehvermögen von PIC-Patienten mit CNV signifikant verbesserte. Zusätzlich schien die kombinierte Behandlung mit Kortikosteroiden und anti-VEGF das Wiederauftreten von CNV und die Entwicklung neuer PIC-Läsionen im Vergleich zur Monotherapie zu verringern [157]. Es liegen allerdings auch gegenteilige Beobachtungen vor, die implizieren, dass das gesunde Partnerauge unter Kortikosteroiden vermehrt, eine CNV ausbildet und dass Patienten mit einer Immunsuppression schlechtere Ergebnisse aufzeigten [58]. Allerdings hatten die Autoren keine schlüssige Erklärung für dieses Phänomen. Eine andere aktuelle Arbeit konnte unterschiedliche Reaktionen auf systemische Kortikosteroide bei zwei unterschiedlichen morphologische Entzündungszeichen bei PIC-Patienten beobachten [158]. Akute fokale hyperreflektive Läsionen, die den RPE/BM-Komplex im OCT spalteten und hypoautofluoreszent in der FAF waren, schienen besser und schneller auf Kortikosteroide zu

reagieren als diffuse Netzhautstörungen, die auf die Ellipsoidzone und die Interdigitalisierungszone im OCT beschränkt waren und sich hyperautofluoreszent in der FAF darstellten [158]. Das unterschiedliche Ansprechen auf die Behandlung lässt daher verschiedene immunologische Phänomene vermuten. Aber bis heute ist die Wirkung von Kortikosteroiden und Immunsuppressiva auf die sekundäre, inflammatorische CNV und die PIC-Läsionen noch nicht abschließend geklärt.

## 4 Zusammenfassung und Ausblick

Unsere Ergebnisse aus der Originalarbeit 1 bieten neue Einblicke in die immunologische Pathophysiologie der BSRC und können dazu beitragen, neue Biomarker für die Überwachung der Krankheitsaktivität zu definieren. Ein vielversprechender Ansatz zur Untersuchung von immunologischen Signaturen ist die Unterscheidung der Zellen *ex vivo* basierend auf der Expression der Chemokinrezeptoren anstelle der funktionalen Analyse mit Zytokinen. Er diene als eine Vorarbeit für unsere bereits etablierte, aktuell laufende, multiparametrische Längsschnittstudie mit einer höheren Anzahl an BSRC- und PIC-Patienten. Das Kernelement der Untersuchungsmethode der Längsschnittstudie ist die Massenzytometrie, kurz CYTOF (Cytometry by Time of Flight). Im Vergleich zur herkömmlichen Durchflusszytometrie kann die Anzahl der Parameter viel größer gewählt werden, da die Antikörper an Schwermetallisotopen gekoppelt sind und nicht an Fluorochrome, deren Anzahl wegen spektraler Überlappungen begrenzt ist. Daher bietet die Massenzytometrie eine neue Möglichkeit für tiefere immunologische Analysen.

Originalarbeiten 2 und 3 umfassten die Charakterisierung morphologischer Signaturen anhand multimodaler Bildgebung bei BSRC- und PIC-Patienten inklusiv der neuen Untersuchungstechnik, der OCTA. Einige Gefäßveränderungen wie Rarefizierung der Gefäße mit Minderdurchblutung, Teleangiektasien, Gefäßschlingen und vor allem sekundäre, inflammatorische CNVs lassen sich elegant mit der OCTA und teilweise besser als mit der FAG detektieren. Der nächste zukünftige Schritt ist eine systematische topologische Analyse des mikrovaskulären Netzwerkes, welche auch im Rahmen der Längsschnittstudie erfolgen wird. Dabei werden die topologischen Informationen aus den OCTA Bildern extrahiert, um graphische Darstellungen der mikrovaskulären Netzwerke der verschiedenen retinalen Schichten zu erstellen. Mittels graphentheoretischer Statistik (mathematisches Modell) werden Verzweigungspunkte (Knoten) und Gefäßverbindungen (Kanten) in Bezug auf die Dichte (durchschnittlicher Grad, Anzahl der Knoten mit hohem Grad) und Konnektivität (Radius des Netzwerkes) der Gefäße vermessen und quantifiziert.

Originalarbeit 4 lieferte Erkenntnisse über die kombinierten Therapiemöglichkeiten bei PIC-Patienten und diente vor allem als Grundlage für zukünftige immunologische Arbeiten. Eine der bislang offenen Fragen ist, ob es sich bei der PIC um eine autoimmunologische Erkrankung handelt und welche immunsuppressive Therapie am sinnvollsten ist. Denn bisher wurde die Ätiologie der PIC nicht eindeutig geklärt.

Zuallerletzt wird in Originalarbeit 5 gezeigt, dass eine psychologische Betreuung von Patienten mit chronischer Uveitis indiziert ist, um Bewältigungsstrategien im Umgang mit chronisch-progredienten Erkrankungen zu erlernen.

Zusammengenommen untersucht diese Habilitationsschrift erstmals immunologische, morphologische und psychosoziale Aspekte bei BSRC- und PIC-Erkrankungen. Die hier aufgeführten Originalarbeiten sind erst der Anfang von immunologischen und morphologischen Charakterisierungen der verschiedenen Erkrankungen unter dem Oberbegriff WDS. Das bereits oben erwähnte, größer angelegte und bereits etablierte Studiendesign für BSRC- und PIC-Patienten soll im weiteren Verlauf auf weitere WDS-Erkrankungen ausgeweitet werden. Durch die systematische und differenzierte Analyse erhoffen wir uns neue Erkenntnisse über zelluläre, morphologische und pathophysiologische Prozesse in der Retina und Choroidea zu erhalten, um zu verstehen, inwieweit ein immunologischer Zusammenhang zwischen den einzelnen Erscheinungsbildern tatsächlich besteht.

## 5 Literaturverzeichnis

1. Abu-Yaghi NE, Hartono SP, Hodge DO, Pulido JS, Bakri SJ. White dot syndromes: a 20-year study of incidence, clinical features, and outcomes. *Ocul Immunol Inflamm.* 2011 Dec;19(6):426-30. doi: 10.3109/09273948.2011.624287
2. Jampol LM; Sieving PA, Pugh D, Fishman GA, Gilbert H. Multiple Evanescent White Dot Syndrome: I. Clinical Findings. *Arch Ophthalmol.* 1984; 102(5):671-674. doi: 10.1001/archophth.
3. Pohlmann D, Winterhalter S, Pleyer U. White dot syndromes: Principles, diagnostic, and treatment. *Ophthalmologe.* 2019 Dec;116(12):1235-1256. doi: 10.1007/s00347-019-01012-5
4. Ben Ezra D, Forrester JV. Fundal white dots: the spectrum of a similar pathological process. *Br J Ophthalmol.* 1995 Sep;79(9):856-60. doi: 10.1136/bjo.79.9.856
5. Forrester JV, Liversidge J, Dua HS, Towler H, McMenemy PG. Comparison of clinical and experimental uveitis. *Curr Eye Res.* 1990;9 Suppl:75-84. doi: 10.3109/02713689008999424.
6. Dhingra N, Kelly S, Majid MA, Bailey CB, Dick AD. Inflammatory choroidal neovascular membrane in posterior uveitis-pathogenesis and treatment. *Indian J Ophthalmol.* 2010 Jan-Feb;58(1):3-10. doi: 10.4103/0301-4738.58467
7. Gass JD. Biomicroscopic and histopathologic considerations regarding the feasibility of surgical excision of subfoveal neovascular membranes. *Am J Ophthalmol.* 1994 Sep 15;118(3):285-98. PMID: 7521987.
8. Jones NP. The Manchester Uveitis Clinic: the first 3000 patients--epidemiology and casemix. *Ocul Immunol Inflamm.* 2015 Apr;23(2):118-26. doi: 10.3109/09273948.2013.855799.
9. Rothova A, Suttorp-van Schulten MS, Frits Treffers W, Kijlstra A. Causes and frequency of blindness in patients with intraocular inflammatory disease. *Br J Ophthalmol.* 1996 Apr;80(4):332-6. doi: 10.1136/bjo.80.4.332.
10. Ryan SJ, Maumenee AE. Birdshot retinochoroidopathy. *Am J Ophthalmol.* 1980 Jan;89(1):31-45. doi: 10.1016/0002-9394(80)90226-3.
11. Kiss S, Anzaar F, Stephen Foster C. Birdshot retinochoroidopathy. *Int Ophthalmol Clin.* 2006 Spring;46(2):39-55. doi: 10.1097/00004397-200604620-00006.
12. Kuiper J, Rothova A, de Boer J, Radstake T. The immunopathogenesis of birdshot chorioretinopathy; a bird of many feathers. *Prog Retin Eye Res.* 2015 Jan;44:99-110. doi: 10.1016/j.preteyeres.2014.11.003.
13. Gaudio PA, Kaye DB, Crawford JB. Histopathology of birdshot retinochoroidopathy. *Br J Ophthalmol.* 2002 Dec;86(12):1439-41. doi: 10.1136/bjo.86.12.1439.
14. Levinson RD. Immunogenetics of ocular inflammatory disease. *Tissue Antigens.* 2007 Feb;69(2):105-12. doi: 10.1111/j.1399-0039.2006.00743.x.
15. Baarsma GS, Priem HA, Kijlstra A. Association of birdshot retinochoroidopathy and HLA-A29 antigen. *Curr Eye Res.* 1990;9 Suppl:63-8. doi: 10.3109/02713689008999422.
16. Kuiper JJW, Setten JV, Devall M, Cretu-Stancu M, Hiddingh S, Ophoff RA, Missotten TOAR, Velthoven MV, Den Hollander AI, Hoyng CB, James E, Reeves E, Cordero-Coma M, Fonollosa A, Adán A, Martín J, Koeleman BPC, Boer JH, Pulit SL, Márquez A, Radstake TRDJ. Functionally distinct ERAP1 and ERAP2 are a hallmark of HLA-A29-(Birdshot) Uveitis. *Hum Mol Genet.* 2018 Dec 15;27(24):4333-4343. doi: 10.1093/hmg/ddy319.

17. Dagur PK, Biancotto A, Stansky E, Sen HN, Nussenblatt RB, McCoy JP. Secretion of interleukin-17 by CD8+ T cells expressing CD146 (MCAM). *Clin Immunol.* 2014 May-Jun;152(1-2):36-47. doi: 10.1016/j.clim.2014.01.009.
18. Kuiper JJ, Mutis T, de Jager W, de Groot-Mijnes JD, Rothova A. Intraocular interleukin-17 and proinflammatory cytokines in HLA-A29-associated birdshot chorioretinopathy. *Am J Ophthalmol.* 2011 Aug;152(2):177-182.e1. doi: 10.1016/j.ajo.2011.01.031
19. Kuiper JJ, Emmelot ME, Rothova A, Mutis T. Interleukin-17 production and T helper 17 cells in peripheral blood mononuclear cells in response to ocular lysate in patients with birdshot chorioretinopathy. *Mol Vis.* 2013 Dec 27;19:2606-14.
20. Daien V, Mura F, Martin G, Audo R, Rivière S, Konate A, Morel J, Villain M, Hahne M, Schneider C, Daien C. Th17 and regulatory T cells are increased in blood of patients with birdshot chorioretinopathy. *Acta Ophthalmol.* 2017 Mar;95(2):e161-e163. doi: 10.1111/aos.12949.
21. Yang P, Foster CS. Interleukin 21, Interleukin 23, and Transforming Growth Factor  $\beta$ 1 in HLA-A29-associated birdshot retinochoroidopathy. *Am J Ophthalmol.* 2013 Aug;156(2):400-406.e2. doi: 10.1016/j.ajo.2013.03.004.
22. Kuiper JJ, Rothova A, Schellekens PA, Ossewaarde-van Norel A, Bloem AC, Mutis T. Detection of choroid- and retina-antigen reactive CD8(+) and CD4(+) T lymphocytes in the vitreous fluid of patients with birdshot chorioretinopathy. *Hum Immunol.* 2014 Jun;75(6):570-7. doi: 10.1016/j.humimm.2014.02.012.
23. Shah KH, Levinson RD, Yu F, Goldhardt R, Gordon LK, Gonzales CR, Heckenlively JR, Kappel PJ, Holland GN. Birdshot chorioretinopathy. *Surv Ophthalmol.* 2005 Nov-Dec;50(6):519-41. doi: 10.1016/j.survophthal.2005.08.004.
24. Rothova A, Berendschot TT, Probst K, van Kooij B, Baarsma GS. Birdshot chorioretinopathy: long-term manifestations and visual prognosis. *Ophthalmology.* 2004 May;111(5):954-9. doi: 10.1016/j.ophtha.2003.09.031.
25. Priem HA, Oosterhuis JA. Birdshot chorioretinopathy: clinical characteristics and evolution. *Br J Ophthalmol.* 1988 Sep;72(9):646-59. doi: 10.1136/bjo.72.9.646.
26. Godel V, Baruch E, Lazar M. Late development of chorioretinal lesions in birdshot retinochoroidopathy. *Ann Ophthalmol.* 1989 Feb;21(2):49-52. PMID: 2712473.
27. Levinson RD, Brezin A, Rothova A, Accorinti M, Holland GN. Research criteria for the diagnosis of birdshot chorioretinopathy: results of an international consensus conference. *Am J Ophthalmol.* 2006 Jan;141(1):185-7. doi: 10.1016/j.ajo.2005.08.025.
28. Minos E, Barry RJ, Southworth S, Folkard A, Murray PI, Duker JS, Keane PA, Denniston AK. Birdshot chorioretinopathy: current knowledge and new concepts in pathophysiology, diagnosis, monitoring and treatment. *Orphanet J Rare Dis.* 2016 May 12;11(1):61. doi: 10.1186/s13023-016-0429-8.
29. Herbort CP Jr, Tugal-Tutkun I, Mantovani A, Neri P, Khairallah M, Papasavvas I. Advances and potential new developments in imaging techniques for posterior uveitis Part 2: invasive imaging methods. *Eye (Lond).* 2020 Aug 10. doi: 10.1038/s41433-020-1072-0.
30. Guex-Crosier Y, Herbort CP. Prolonged retinal arterio-venous circulation time by fluorescein but not by indocyanine green angiography in birdshot chorioretinopathy. *Ocul Immunol Inflamm.* 1997 Sep;5(3):203-6. doi: 10.3109/09273949709116895.
31. Monnet D, Levinson RD, Holland GN, Haddad L, Yu F, Brézin AP. Longitudinal cohort study of patients with birdshot chorioretinopathy. III. Macular imaging at baseline. *Am J Ophthalmol.* 2007 Dec;144(6):818-828. doi: 10.1016/j.ajo.2007.08.011.
32. Birch DG, Williams PD, Callanan D, Wang R, Locke KG, Hood DC. Macular atrophy in birdshot retinochoroidopathy: an optical coherence tomography and multifocal

- electroretinography analysis. *Retina*. 2010 Jun;30(6):930-7. doi: 10.1097/IAE.0b013e3181c720b4.
33. Forooghian F, Yeh S, Faia LJ, Nussenblatt RB. Uveitic foveal atrophy: clinical features and associations. *Arch Ophthalmol*. 2009 Feb;127(2):179-86. doi: 10.1001/archophthalmol.2008.564.
  34. Goldstein DA. Correlation between clinical signs and optical coherence tomography with enhanced depth imaging findings in patients with birdshot chorioretinopathy. *JAMA Ophthalmol*. 2014 Aug;132(8):929-35. doi: 10.1001/jamaophthalmol.2014.877.
  35. Keane PA, Allie M, Turner SJ, Southworth HS, Sadda SR, Murray PI, Denniston AK. Characterization of birdshot chorioretinopathy using extramacular enhanced depth optical coherence tomography. *JAMA Ophthalmol*. 2013 Mar;131(3):341-50. doi: 10.1001/jamaophthalmol.2013.1724.
  36. Silpa-Archa S, Maleki A, Roohipoor R, Preble JM, Foster CS. Analysis of three-dimensional imaging findings in patients with Birdshot Retinochoroidopathy. *Retina*. 2016 Sep;36(9):1758-66. doi: 10.1097/IAE.0000000000000969.
  37. Skvortsova N, Gasc A, Jeannin B, Herbort CP. Evolution of choroidal thickness over time and effect of early and sustained therapy in birdshot retinochoroiditis. *Eye (Lond)*. 2017 Aug;31(8):1205-1211. doi: 10.1038/eye.2017.54.
  38. Böni C, Thorne JE, Spaide RF, Ostheimer TA, Sarraf D, Levinson RD, Goldstein DA, Rifkin LM, Vitale AT, Jaffe GJ, Holland GN. Fundus Autofluorescence Findings in Eyes With Birdshot Chorioretinitis. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2017 Aug 1;58(10):4015-4025. doi: 10.1167/iovs.17-21897.
  39. Koizumi H, Pozzoni MC, Spaide RF. Fundus autofluorescence in birdshot chorioretinopathy. *Ophthalmology*. 2008 May;115(5):e15-20. doi: 10.1016/j.ophtha.2008.01.025.
  40. de Carlo TE, Bonini Filho MA, Adhi M, Duker JS. Retinal and choroidal vasculature in Birdshot Chorioretinopathy analyzed using spectral domain optical coherence tomography angiography. *Retina*. 2015 Nov;35(11):2392-9. doi: 10.1097/IAE.0000000000000744.
  41. Gordon LK, Goldhardt R, Holland GN, Yu F, Levinson RD. Standardized visual field assessment for patients with birdshot chorioretinopathy. *Ocul Immunol Inflamm*. 2006 Dec;14(6):325-32. doi: 10.1080/09273940600966400.
  42. Thorne JE, Jabs DA, Kedhar SR, Peters GB, Dunn JP. Loss of visual field among patients with birdshot chorioretinopathy. *Am J Ophthalmol*. 2008 Jan;145(1):23-28. doi: 10.1016/j.ajo.2007.08.039.
  43. Sobrin L, Lam BL, Liu M, Feuer WJ, Davis JL. Electroretinographic monitoring in birdshot chorioretinopathy. *Am J Ophthalmol*. 2005 Jul;140(1):52-64. doi: 10.1016/j.ajo.2005.01.053.
  44. Holder GE, Robson AG, Pavesio C, Graham EM. Electrophysiological characterisation and monitoring in the management of birdshot chorioretinopathy. *Br J Ophthalmol*. 2005 Jun;89(6):709-18. doi: 10.1136/bjo.2004.047837.
  45. Leitlinie Nr. 24b. Nichtinfektiöse Uveitis posterior. <https://www.dog.org/wp-content/uploads/2009/09/LL-24b.pdf.pdf> (Abgerufen am 08.11.2020)
  46. Pohlmann D, Vom Brocke GA, Winterhalter S, Steurer T, Thees S, Pleyer U. DEXAMETHASONE inserts in Noninfectious Uveitis: A single center experience. *Ophthalmology*. 2018;125(7):1088-1099. doi:10.1016/j.ophtha.2017.12.038.
  47. Kiss S, Ahmed M, Letko E, Foster CS. Long-term follow-up of patients with birdshot retinochoroidopathy treated with corticosteroid-sparing systemic immunomodulatory therapy. *Ophthalmology*. 2005 Jun;112(6):1066-71. doi: 10.1016/j.ophtha.2004.12.036.

48. Thorne JE, Jabs DA, Peters GB, Hair D, Dunn JP, Kempen JH. Birdshot retinochoroidopathy: ocular complications and visual impairment. *Am J Ophthalmol.* 2005 Jul;140(1):45-51. doi: 10.1016/j.ajo.2005.01.035.
49. Gasch AT, Smith JA, Whitcup SM. Birdshot retinochoroidopathy. *Br J Ophthalmol.* 1999 Feb;83(2):241-9. doi: 10.1136/bjo.83.2.241
50. Becker MD, Wertheim MS, Smith JR, Rosenbaum JT. Long-term follow-up of patients with birdshot retinochoroidopathy treated with systemic immunosuppression. *Ocul Immunol Inflamm.* 2005 Jul-Aug;13(4):289-93. doi: 10.1080/09273940490912407.
51. Watzke RC, Packer AJ, Folk JC, Benson WE, Burgess D, Ober RR. Punctate inner choroidopathy. *Am J Ophthalmol.* 1984 Nov;98(5):572-84. PMID: 6208783.
52. Brown J Jr, Folk JC, Reddy CV, Kimura AE. Visual prognosis of multifocal choroiditis, punctate inner choroidopathy, and the diffuse subretinal fibrosis syndrome. *Ophthalmology.* 1996 Jul;103(7):1100-5. doi: 10.1016/s0161-6420(96)30561-7.
53. Jones NP. The Manchester Uveitis Clinic: the first 3000 patients--epidemiology and casemix. *Ocul Immunol Inflamm.* 2015 Apr;23(2):118-26. doi: 10.3109/09273948.2013.855799.
54. Jampol LM, Becker KG. White spot syndromes of the retina: a hypothesis based on the common genetic hypothesis of autoimmune/inflammatory disease. *Am J Ophthalmol.* 2003 Mar;135(3):376-9. doi: 10.1016/s0002-9394(02)02088-3.
55. Spaide RF, Skerry JE, Yannuzzi LA, DeRosa JT. Lack of the HLA-DR2 specificity in multifocal choroiditis and panuveitis. *Br J Ophthalmol.* 1990 Sep;74(9):536-7. doi: 10.1136/bjo.74.9.536.
56. Sugawara E, Machida S, Fujiwara T, Kurosaka D, Hayakawa M. Punctate inner choroidopathy in mother and daughter. *Jpn J Ophthalmol.* 2010 Sep;54(5):505-7. doi: 10.1007/s10384-010-0835-8.
57. Ongkosuwito JV, Kortbeek LM, Van der Lelij A, Molicka E, Kijlstra A, de Smet MD, Suttorp-Schulten MS. Aetiological study of the presumed ocular histoplasmosis syndrome in the Netherlands. *Br J Ophthalmol.* 1999 May;83(5):535-9. doi: 10.1136/bjo.83.5.535.
58. Essex RW, Wong J, Fraser-Bell S, Sandbach J, Tufail A, Bird AC, Dowler J. Punctate inner choroidopathy: clinical features and outcomes. *Arch Ophthalmol.* 2010 Aug;128(8):982-7. doi: 10.1001/archophthalmol.2010.157.
59. Gerstenblith AT, Thorne JE, Sobrin L, Do DV, Shah SM, Foster CS, Jabs DA, Nguyen QD. Punctate inner choroidopathy: a survey analysis of 77 persons. *Ophthalmology.* 2007 Jun;114(6):1201-4. doi: 10.1016/j.ophtha.2006.10.047.
60. Channa R, Ibrahim M, Sepah Y, Turkcuoglu P, Lee JH, Khwaja A, Hatef E, Bittencourt M, Heo J, Do DV, Nguyen QD. Characterization of macular lesions in punctate inner choroidopathy with spectral domain optical coherence tomography. *J Ophthalmic Inflamm Infect.* 2012 Sep;2(3):113-20. doi: 10.1007/s12348-011-0054-6.
61. Patel KH, Birnbaum AD, Tessler HH, Goldstein DA. Presentation and outcome of patients with punctate inner choroidopathy at a tertiary referral center. *Retina.* 2011 Jul-Aug;31(7):1387-91. doi: 10.1097/IAE.0b013e3182069a8f.
62. Leung TG, Moradi A, Liu D, Nguyen QD, Dunn JP, Burkholder B, Butler NJ, Ostheimer T, Thorne JE. Clinical features and incidence rate of ocular complications in punctate inner choroidopathy. *Retina.* 2014 Aug;34(8):1666-74. doi: 10.1097/IAE.000000000000125.
63. Buerk BM, Rabb MF, Jampol LM. Peripapillary subretinal fibrosis: a characteristic finding of multifocal choroiditis and panuveitis. *Retina.* 2005 Feb-Mar;25(2):228-9. doi: 10.1097/00006982-200502000-00024.



64. Tiffin PA, Maini R, Roxburgh ST, Ellingford A. Indocyanine green angiography in a case of punctate inner choroidopathy. *Br J Ophthalmol*. 1996 Jan;80(1):90-1. doi: 10.1136/bjo.80.1.90.
65. Zhang X, Wen F, Zuo C, Li M, Chen H, Huang S, Luo G. Clinical features of punctate inner choroidopathy in Chinese patients. *Retina*. 2011 Sep;31(8):1680-91. doi: 10.1097/IAE.0b013e31820a67ad.
66. Zhang X, Zuo C, Li M, Chen H, Huang S, Wen F. Spectral-domain optical coherence tomographic findings at each stage of punctate inner choroidopathy. *Ophthalmology*. 2013 Dec;120(12):2678-2683. doi: 10.1016/j.ophtha.2013.05.012.
67. Zarranz-Ventura J, Sim DA, Keane PA, Patel PJ, Westcott MC, Lee RW, Tufail A, Pavesio CE. Characterization of punctate inner choroidopathy using enhanced depth imaging optical coherence tomography. *Ophthalmology*. 2014 Sep;121(9):1790-7. doi: 10.1016/j.ophtha.2014.03.011.
68. Spaide RF, Goldberg N, Freund KB. Redefining multifocal choroiditis and panuveitis and punctate inner choroidopathy through multimodal imaging. *Retina*. 2013 Jul-Aug;33(7):1315-24. doi: 10.1097/IAE.0b013e318286cc77.
69. Li M, Zhang X, Wen F. The Fundus Autofluorescence Spectrum of Punctate Inner Choroidopathy. *J Ophthalmol*. 2015;2015:202097. doi: 10.1155/2015/202097.
70. Levison AL, Baynes KM, Lowder CY, Kaiser PK, Srivastava SK. Choroidal neovascularisation on optical coherence tomography angiography in punctate inner choroidopathy and multifocal choroiditis. *Br J Ophthalmol*. 2017 May;101(5):616-622. doi: 10.1136/bjophthalmol-2016-308806.
71. Nakao S, Kaizu Y, Oshima Y, Sakamoto T, Ishibashi T, Sonoda KH. Optical Coherence Tomography Angiography for Detecting Choroidal Neovascularization Secondary to Punctate Inner Choroidopathy. *Ophthalmic Surg Lasers Imaging Retina*. 2016 Dec 1;47(12):1157-1161. doi: 10.3928/23258160-20161130-13.
72. Kim EL, Thanos A, Yonekawa Y, Todorich B, Wolfe J, Randhawa S, Faia LJ. Optical Coherence Tomography Angiography Findings in Punctate Inner Choroidopathy. *Ophthalmic Surg Lasers Imaging Retina*. 2017 Oct 1;48(10):786-792. doi: 10.3928/23258160-20170928-02.
73. Niederer RL, Gilbert R, Lightman SL, Tomkins-Netzer O. Risk Factors for Developing Choroidal Neovascular Membrane and Visual Loss in Punctate Inner Choroidopathy. *Ophthalmology*. 2018 Feb;125(2):288-294. doi: 10.1016/j.ophtha.2017.09.002.
74. Brueggeman RM, Noffke AS, Jampol LM. Resolution of punctate inner choroidopathy lesions with oral prednisone therapy. *Arch Ophthalmol*. 2002 Jul;120(7):996. doi: 10.1001/archophth.120.7.996.
75. Flaxel CJ, Owens SL, Mulholland B, Schwartz SD, Gregor ZJ. The use of corticosteroids for choroidal neovascularisation in young patients. *Eye (Lond)*. 1998;12 ( Pt 2):266-72. doi: 10.1038/eye.1998.62.
76. Levy J, Shneck M, Klemperer I, Lifshitz T. Punctate inner choroidopathy: resolution after oral steroid treatment and review of the literature. *Can J Ophthalmol*. 2005 Oct;40(5):605-8. doi: 10.1016/S0008-4182(05)80053-5.
77. Olsen TW, Capone A Jr, Sternberg P Jr, Grossniklaus HE, Martin DF, Aaberg TM Sr. Subfoveal choroidal neovascularization in punctate inner choroidopathy. Surgical management and pathologic findings. *Ophthalmology*. 1996 Dec;103(12):2061-9. doi: 10.1016/s0161-6420(96)30387-4.

78. Shimada H, Yuzawa M, Hirose T, Nakashizuka H, Hattori T, Kazato Y. Pathological findings of multifocal choroiditis with panuveitis and punctate inner choroidopathy. *Jpn J Ophthalmol.* 2008 Jul-Aug;52(4):282-288. doi: 10.1007/s10384-008-0566-2.
79. Zhang H, Liu ZL, Sun P, Gu F. Intravitreal bevacizumab as primary treatment of choroidal neovascularization secondary to punctate inner choroidopathy: results of a 1-year prospective trial. *Retina.* 2012 Jun;32(6):1106-13. doi: 10.1097/IAE.0b013e318242b9da.
80. Rouvas A, Petrou P, Douvali M, Ntouraki A, Vergados I, Georgalas I, Markomichelakis N. Intravitreal ranibizumab for the treatment of inflammatory choroidal neovascularization. *Retina.* 2011 May;31(5):871-9. doi: 10.1097/IAE.0b013e3182003ca8.
81. Leung AK, Weisbrod DJ, Schwartz C. Intravitreal ranibizumab in the treatment of choroidal neovascular membrane secondary to punctate inner choroidopathy. *Can J Ophthalmol.* 2010 Jun;45(3):300-1. doi: 10.3129/i09-253.
82. Mansour AM, Arevalo JF, Ziemssen F, Mehio-Sibai A, Mackensen F, Adan A, Chan WM, Ness T, Banker AS, Dodwell D, Chau Tran TH, Fardeau C, Lehoang P, Mahendradas P, Berrocal M, Tabbarah Z, Hrisomalos N, Hrisomalos F, Al-Salem K, Guthoff R. Long-term visual outcomes of intravitreal bevacizumab in inflammatory ocular neovascularization. *Am J Ophthalmol.* 2009 Aug;148(2):310-316.e2. doi: 10.1016/j.ajo.2009.03.023.
83. Menezo V, Cuthbertson F, Downes SM. Positive response to intravitreal ranibizumab in the treatment of choroidal neovascularization secondary to punctate inner choroidopathy. *Retina.* 2010 Oct;30(9):1400-4. doi: 10.1097/IAE.0b013e3181d374dc.
84. Turkcuoglu P, Chang PY, Rentiya ZS, Channa R, Ibrahim M, Hatf E, Sophie R, Sadaka A, Wang J, Sepah YJ, Do DV, Foster CS, Nguyen QD. Mycophenolate mofetil and fundus autofluorescence in the management of recurrent punctate inner choroidopathy. *Ocul Immunol Inflamm.* 2011 Aug;19(4):286-92. doi: 10.3109/09273948.2011.580072.
85. Chatterjee S, Gibson JM. Photodynamic therapy: a treatment option in choroidal neovascularisation secondary to punctate inner choroidopathy. *Br J Ophthalmol.* 2003 Jul;87(7):925-7. doi: 10.1136/bjo.87.7.925-a.
86. Leslie T, Lois N, Christopoulou D, Olson JA, Forrester JV. Photodynamic therapy for inflammatory choroidal neovascularisation unresponsive to immunosuppression. *Br J Ophthalmol.* 2005 Feb;89(2):147-50. doi: 10.1136/bjo.2004.046623.
87. Baxter SL, Pistilli M, Pujari SS, Liesegang TL, Suhler EB, Thorne JE, Foster CS, Jabs DA, Levy-Clarke GA, Nussenblatt RB, Rosenbaum JT, Kempen JH. Risk of choroidal neovascularization among the uveitides. *Am J Ophthalmol.* 2013 Sep;156(3):468-477.e2. doi: 10.1016/j.ajo.2013.04.040.
88. Nozik RA, Dorsch W. A new chorioretinopathy associated with anterior uveitis. *Am J Ophthalmol.* 1973 Nov;76(5):758-62. doi: 10.1016/0002-9394(73)90573-4.
89. Winterhalter S, Jousen AM, Pleyer U, Stübiger N. Inflammatorische choroidale Neovaskularisationen [Inflammatory choroidal neovascularisations]. *Klin Monbl Augenheilkd.* 2012 Sep;229(9):897-904. German. doi: 10.1055/s-0032-1315249.
90. Fine HF, Zhitomirsky I, Freund KB, Barile GR, Shirkey BL, Samson CM, Yannuzzi LA. Bevacizumab (avastin) and ranibizumab (lucentis) for choroidal neovascularization in multifocal choroiditis. *Retina.* 2009 Jan;29(1):8-12. doi: 10.1097/IAE.0b013e318187aff9.
91. Erkkilä H, Laatikainen L, Jokinen E. Immunological studies on serpiginous choroiditis. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol.* 1982;219(3):131-4. doi: 10.1007/BF02152297.
92. Mackensen F, Becker MD, Wiehler U, Max R, Dalpke A, Zimmermann S. QuantiFERON TB-Gold--a new test strengthening long-suspected tuberculous involvement in serpiginous-like choroiditis. *Am J Ophthalmol.* 2008 Nov;146(5):761-6. doi: 10.1016/j.ajo.2008.06.012.

93. Sobaci G, Bayraktar Z, Bayer A. Interferon alpha-2a treatment for serpinginous choroiditis. *Ocul Immunol Inflamm.* 2005 Feb;13(1):59-66. doi: 10.1080/09273940490518865.
94. Christmas NJ, Oh KT, Oh DM, Folk JC. Long-term follow-up of patients with serpinginous choroiditis. *Retina.* 2002 Oct;22(5):550-6. doi: 10.1097/00006982-200210000-00004.
95. Gass JD. Acute posterior multifocal placoid pigment epitheliopathy. *Arch Ophthalmol.* 1968 Aug;80(2):177-85. doi: 10.1001/archopht.1968.00980050179005.
96. Wolf MD, Folk JC, Panknen CA, Goeken NE. HLA-B7 and HLA-DR2 antigens and acute posterior multifocal placoid pigment epitheliopathy. *Arch Ophthalmol.* 1990 May;108(5):698-700. doi: 10.1001/archopht.1990.01070070084040.
97. Roberts TV, Mitchell P. Acute posterior multifocal placoid pigment epitheliopathy: a long-term study. *Aust N Z J Ophthalmol.* 1997 Nov;25(4):277-81. doi: 10.1111/j.1442-9071.1997.tb01515.x.
98. Jampol LM, Sieving PA, Pugh D, Fishman GA, Gilbert H. Multiple evanescent white dot syndrome. I. Clinical findings. *Arch Ophthalmol.* 1984 May;102(5):671-4. doi: 10.1001/archopht.1984.01040030527008.
99. Gass JD, Agarwal A, Scott IU. Acute zonal occult outer retinopathy: a long-term follow-up study. *Am J Ophthalmol.* 2002 Sep;134(3):329-39. doi: 10.1016/s0002-9394(02)01640-9.
100. Coscas GJ, Lupidi M, Coscas F, Cagini C, Souied EH. Optical coherence tomography angiography versus traditional multimodal imaging in assessing the activity of exudative age-related macular degeneration: A New Diagnostic Challenge. *Retina.* 2015 Nov;35(11):2219-28. doi: 10.1097/IAE.0000000000000766.
101. Kuehlewein L, Dansingani KK, de Carlo TE, Bonini Filho MA, Iafe NA, Lenis TL, Freund KB, Waheed NK, Duker JS, Sadda SR, Sarraf D. Optical coherence tomography angiography of Type 3 neovascularization secondary to age-related macular degeneration. *Retina.* 2015 Nov;35(11):2229-35. doi: 10.1097/IAE.0000000000000835.
102. Hamann D, Baars PA, Rep MH, Hooibrink B, Kerkhof-Garde SR, Klein MR, van Lier RA. Phenotypic and functional separation of memory and effector human CD8+ T cells. *J Exp Med.* 1997 Nov 3;186(9):1407-18. doi: 10.1084/jem.186.9.1407.
103. Geginat J, Lanzavecchia A, Sallusto F. Proliferation and differentiation potential of human CD8+ memory T-cell subsets in response to antigen or homeostatic cytokines. *Blood.* 2003;101(11):4260-6. doi: 10.1182/blood-2002-11-3577.
104. Salou M, Garcia A, Michel L, Gainche-Salmon A, Loussouarn D, Nicol B, Guillot F, Hulin P, Nedellec S, Baron D, Ramstein G, Soulillou JP, Brouard S, Nicot AB, Degauque N, Laplaud DA. Expanded CD8 T-cell sharing between periphery and CNS in multiple sclerosis. *Ann Clin Transl Neurol.* 2015 Jun;2(6):609-22. doi: 10.1002/acn3.199.
105. McKinney EF, Lyons PA, Carr EJ, Hollis JL, Jayne DR, Willcocks LC, Koukoulaki M, Brazma A, Jovanovic V, Kemeny DM, Pollard AJ, Macary PA, Chaudhry AN, Smith KG. A CD8+ T cell transcription signature predicts prognosis in autoimmune disease. *Nat Med.* 2010 May;16(5):586-91, 1p following 591. doi: 10.1038/nm.2130.
106. Khan N, Shariff N, Cobbold M, Bruton R, Ainsworth JA, Sinclair AJ, Nayak L, Moss PA. Cytomegalovirus seropositivity drives the CD8 T cell repertoire toward greater clonality in healthy elderly individuals. *J Immunol.* 2002 Aug 15;169(4):1984-92. doi: 10.4049/jimmunol.169.4.1984.
107. Wertheimer AM, Bennett MS, Park B, Uhrlaub JL, Martinez C, Pulko V, Currier NL, Nikolich-Zugich D, Kaye J, Nikolich-Zugich J. Aging and cytomegalovirus infection differentially and jointly affect distinct circulating T cell subsets in humans. *J Immunol.* 2014 Mar 1;192(5):2143-55. doi: 10.4049/jimmunol.1301721.

108. Pawelec G, Akbar A, Caruso C, Effros R, Grubeck-Loebenstein B, Wikby A. Is immunosenescence infectious? *Trends Immunol.* 2004 Aug;25(8):406-10. doi: 10.1016/j.it.2004.05.006.
109. Larbi A, Fulop T. From "truly naïve" to "exhausted senescent" T cells: when markers predict functionality. *Cytometry A.* 2014 Jan;85(1):25-35. doi: 10.1002/cyto.a.22351.
110. Verma K, Ogonek J, Varanasi PR, Luther S, Bünting I, Thomay K, Behrens YL, Mischak-Weissinger E, Hambach L. Human CD8+ CD57- TEMRA cells: Too young to be called "old". *PLoS One.* 2017 May 8;12(5):e0177405. doi: 10.1371/journal.pone.0177405.
111. Trombke J, Loyal L, Braun J, Pleyer U, Thiel A, Pohlmann D. Analysis of peripheral inflammatory T-cell subsets and their effector function in patients with Birdshot-Retinochoroiditis. *Sci Rep* 11, 8604 (2021). doi.org/10.1038/s41598-021-88013-0.
112. Horai R, Caspi RR. Cytokines in autoimmune uveitis. *J Interferon Cytokine Res.* 2011 Oct;31(10):733-44. doi: 10.1089/jir.2011.0042.
113. Touhami S, Fardeau C, Vanier A, Zambrowski O, Steinborn R, Simon C, Tezenas du Montcel S, Bodaghi B, Lehoang P. Birdshot Retinochoroidopathy: Prognostic Factors of Long-term Visual Outcome. *Am J Ophthalmol.* 2016 Oct;170:190-196. doi: 10.1016/j.ajo.2016.08.007.
114. Pohlmann D, Macedo S, Stübiger N, Pleyer U, Jousen AM, Winterhalter S. Multimodal Imaging in Birdshot Retinochoroiditis. *Ocul Immunol Inflamm.* 2017;25(5):621-632. doi: 10.1080/09273948.2017.1375532.
115. Keane PA, Karampelas M, Sim DA, Sadda SR, Tufail A, Sen HN, Nussenblatt RB, Dick AD, Lee RW, Murray PI, Pavesio CE, Denniston AK. Objective measurement of vitreous inflammation using optical coherence tomography. *Ophthalmology.* 2014 Sep;121(9):1706-14. doi: 10.1016/j.ophtha.2014.03.006.
116. Keane PA, Balaskas K, Sim DA, Aman K, Denniston AK, Aslam T, And For The Equator Study Group. Automated Analysis of Vitreous Inflammation Using Spectral-Domain Optical Coherence Tomography. *Transl Vis Sci Technol.* 2015 Sep 16;4(5):4. doi: 10.1167/tvst.4.5.4.
117. Nussenblatt RB, Palestine AG, Chan CC, Roberge F. Standardization of vitreal inflammatory activity in intermediate and posterior uveitis. *Ophthalmology.* 1985 Apr;92(4):467-71. doi: 10.1016/s0161-6420(85)34001-0.
118. Burke TR, Chu CJ, Salvatore S, Bailey C, Dick AD, Lee RWJ, Ross AH, Carreño E; Medscape. Application of OCT-angiography to characterise the evolution of chorioretinal lesions in acute posterior multifocal placoid pigment epitheliopathy. *Eye (Lond).* 2017 Oct;31(10):1399-1408. doi: 10.1038/eye.2017.180.
119. Macedo S, Pohlmann D, Lenglinger M, Pleyer U, Jousen AM, Winterhalter S. Optical coherence tomography angiography (OCTA) findings in Serpiginous Choroiditis. *BMC Ophthalmol.* 2020 Jun 30;20(1):258. doi: 10.1186/s12886-020-01527-5.
120. Pepple KL, Chu Z, Weinstein J, Munk MR, Van Gelder RN, Wang RK. Use of En Face Swept-Source Optical Coherence Tomography Angiography in Identifying Choroidal Flow Voids in 3 Patients With Birdshot Chorioretinopathy. *JAMA Ophthalmol.* 2018 Nov 1;136(11):1288-1292. doi: 10.1001/jamaophthalmol.2018.3474.
121. Wang JC, Láíns I, Sobrin L, Miller JB. Distinguishing White Dot Syndromes With Patterns of Choroidal Hypoperfusion on Optical Coherence Tomography Angiography. *Ophthalmic Surg Lasers Imaging Retina.* 2017 Aug 1;48(8):638-646. doi: 10.3928/23258160-20170802-06.

122. Pakzad-Vaezi K, Khaksari K, Chu Z, Van Gelder RN, Wang RK, Pepple KL. Swept-Source OCT Angiography of Serpiginous Choroiditis. *Ophthalmol Retina*. 2018 Jul;2(7):712-719. doi: 10.1016/j.oret.2017.11.001.
123. Lang GE, Enders C, Loidl M, Lang GK, Werner JU. Präzise Befundung mit der OCT-Angiografie – Artefakte erkennen und ausschließen [Accurate OCT-angiography Interpretation - Detection and Exclusion of Artifacts]. *Klin Monbl Augenheilkd*. 2017 Sep;234(9):1109-1118. German. doi: 10.1055/s-0043-112857.
124. Tian M, Tappeiner C, Zinkernagel MS, Huf W, Wolf S, Munk MR. Evaluation of vascular changes in intermediate uveitis and retinal vasculitis using swept-source wide-field optical coherence tomography angiography. *Br J Ophthalmol*. 2019 Sep;103(9):1289-1295. doi: 10.1136/bjophthalmol-2018-313078.
125. Yannuzzi NA, Swaminathan SS, Zheng F, Miller A, Gregori G, Davis JL, Rosenfeld PJ. Swept-Source OCT Angiography Shows Sparing of the Choriocapillaris in Multiple Evanescent White Dot Syndrome. *Ophthalmic Surg Lasers Imaging Retina*. 2017 Jan 1;48(1):69-74. doi: 10.3928/23258160-20161219-10.
126. Pichi F, Salas EC, D de Smet M, Gupta V, Zierhut M, Munk MR. Standardisation of optical coherence tomography angiography nomenclature in uveitis: first survey results. *Br J Ophthalmol*. 2020 Jul 29;bjophthalmol-2020-316881. doi: 10.1136/bjophthalmol-2020-316881.
127. You C, Lasave AF, Kubaisi B, Syeda S, Ma L, Wai KCK, Diaz MH, Walsh M, Stephenson A, Montieth A, Foster CS. Long-term outcomes of systemic corticosteroid-sparing immunomodulatory therapy for Birdshot Retinochoroidopathy. *Ocul Immunol Inflamm*. 2020 Aug 17;28(6):966-974. doi: 10.1080/09273948.2019.1641610.
128. Rothova A, Berendschot TT, Probst K, van Kooij B, Baarsma GS. Birdshot chorioretinopathy: long-term manifestations and visual prognosis. *Ophthalmology*. 2004 May;111(5):954-9. doi: 10.1016/j.ophtha.2003.09.031.
129. Becker MD, Wertheim MS, Smith JR, Rosenbaum JT. Long-term follow-up of patients with birdshot retinochoroidopathy treated with systemic immunosuppression. *Ocul Immunol Inflamm*. 2005 Jul-Aug;13(4):289-93. doi: 10.1080/09273940490912407.
130. Huis Het Veld PI, van Asten F, Kuijpers RWAM, Rothova A, de Jong EK, Hoyng CB. Adalimumab therapy for refractory Birdshot Chorioretinopathy. *Retina*. 2019 Nov;39(11):2189-2197. doi: 10.1097/IAE.0000000000002281.
131. Artornsombudh P, Gevorgyan O, Payal A, Siddique SS, Foster CS. Infliximab treatment of patients with birdshot retinochoroidopathy. *Ophthalmology*. 2013 Mar;120(3):588-592. doi: 10.1016/j.ophtha.2012.05.048.
132. Bendtzen K. Immunogenicity of Anti-TNF- $\alpha$  Biotherapies: I. Individualized Medicine Based on Immunopharmacological Evidence. *Front Immunol*. 2015 Apr 8;6:152. doi: 10.3389/fimmu.2015.00152.
133. Mesquida M, Molins B, Llorenç V, Sainz de la Maza M, Adán A. Long-term effects of tocilizumab therapy for refractory uveitis-related macular edema. *Ophthalmology*. 2014 Dec;121(12):2380-6. doi: 10.1016/j.ophtha.2014.06.050.
134. Mesquida M, Molins B, Llorenç V, Hernández MV, Espinosa G, Sainz de la Maza M, Adán A. Twenty-four month follow-up of Tocilizumab therapy for refractory uveitis-related macular edema. *Retina*. 2018 Jul;38(7):1361-1370. doi: 10.1097/IAE.0000000000001690.
135. Vegas-Revenga N, Calvo-Río V, Mesquida M, Adán A, et al. Anti-IL6-Receptor Tocilizumab in Refractory and Noninfectious Uveitic Cystoid Macular Edema: Multicenter Study of 25 Patients. *Am J Ophthalmol*. 2019 Apr;200:85-94. doi: 10.1016/j.ajo.2018.12.019.

136. Leclercq M, Le Besnerais M, Langlois V, Girszyn N, Benhamou Y, Ngo C, Levesque H, Muraine M, Gueudry J. Tocilizumab for the treatment of birdshot uveitis that failed interferon alpha and anti-tumor necrosis factor-alpha therapy: two cases report and literature review. *Clin Rheumatol*. 2018 Mar;37(3):849-853. doi: 10.1007/s10067-018-4007-4.
137. Calvo-Río V, Blanco R, Santos-Gómez M, Díaz-Valle D, Pato E, Loricera J, González-Vela MC, Demetrio-Pablo R, Hernández JL, González-Gay MA. Efficacy of Anti-IL6-Receptor Tocilizumab in Refractory Cystoid Macular Edema of Birdshot Retinochoroidopathy Report of Two Cases and Literature Review. *Ocul Immunol Inflamm*. 2017 Oct;25(5):604-609. doi: 10.1080/09273948.2016.1231331.
138. Lowder C, Belfort R Jr, Lightman S, Foster CS, Robinson MR, Schiffman RM, Li XY, Cui H, Whitcup SM; Ozurdex HURON Study Group. Dexamethasone intravitreal implant for noninfectious intermediate or posterior uveitis. *Arch Ophthalmol*. 2011 May;129(5):545-53. doi: 10.1001/archophthalmol.2010.339.
139. Pohlmann D, Vom Brocke GA, Winterhalter S, Steurer T, Thees S, Pleyer U. DEXAMETHASONE inserts in Noninfectious Uveitis: A single center experience. *Ophthalmology*. 2018;125(7):1088-1099. doi:10.1016/j.ophtha.2017.12.038.
140. Walsh J, Reddy AK. Intravitreal dexamethasone implantation for Birdshot Chorioretinopathy. *Retin Cases Brief Rep*. 2017 Winter;11(1):51-55. doi: 10.1097/ICB.0000000000000287.
141. Jaffe GJ, Foster CS, Pavesio CE, Paggiarino DA, Riedel GE. Effect of an Injectable Fluocinolone Acetonide Insert on Recurrence Rates in Chronic Noninfectious Uveitis Affecting the Posterior Segment: Twelve-Month Results. *Ophthalmology*. 2019 Apr;126(4):601-610. doi: 10.1016/j.ophtha.2018.10.033.
142. Pohlmann D, Barth A, Macedo S, Pleyer U, Winterhalter S, Albayrak Ö. The impact of impending / onset of vision loss on depression, anxiety, and vision-related quality of life in Birdshot-Retinochoroiditis and Serpiginous Choroiditis. *PlosOne*. 2020 Oct 5;15(10):e0239210. doi: 10.1371/journal.pone.0239210.
143. Kempen GI, Ballemans J, Ranchor AV, van Rens GH, Zijlstra GA. The impact of low vision on activities of daily living, symptoms of depression, feelings of anxiety and social support in community-living older adults seeking vision rehabilitation services. *Qual Life Res*. 2012 Oct;21(8):1405-11. doi: 10.1007/s11136-011-0061-y. Epub 2011 Nov 17. Erratum in: *Qual Life Res*. 2012 Oct;21(8):1413.
144. Kuiper JJ, Missotten T, Baarsma SG, Rothova A. Vision-related quality of life in patients with birdshot chorioretinopathy. *Acta Ophthalmol*. 2013 Jun;91(4):e329-31. doi: 10.1111/aos.12054.
145. Atan D, Fraser-Bell S, Pliskova J, Kuffova L, Hogan A, Tufail A, Kilmartin DJ, Forrester JV, Bidwell J, Dick AD, Churchill AJ. Cytokine polymorphism in noninfectious uveitis. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2010 Aug;51(8):4133-42. doi: 10.1167/iovs.09-4583.
146. Braley RE, Meredith TA, Aaberg TM, Koethe SM, Witkowski JA. The prevalence of HLA-B7 in presumed ocular histoplasmosis. *Am J Ophthalmol*. 1978 Jun;85(6):859-61. doi: 10.1016/s0002-9394(14)78118-8.
147. Meredith TA, Smith RE, Braley RE, Witkowski JA, Koethe SM. The prevalence of HLA-B7 in presumed ocular histoplasmosis in patients with peripheral atrophic scars. *Am J Ophthalmol*. 1978 Sep;86(3):325-8. doi: 10.1016/0002-9394(78)90233-7.
148. Meredith TA, Smith RE, Duquesnoy RJ. Association of HLA-DRw2 antigen with presumed ocular histoplasmosis. *Am J Ophthalmol*. 1980;89(1):70-76. doi: 10.1016/0002-9394(80)90232-9.

149. Gulati N, Forooghian F, Lieberman R, Jabs DA. Vascular endothelial growth factor inhibition in uveitis: a systematic review. *Br J Ophthalmol*. 2011 Feb;95(2):162-5. doi: 10.1136/bjo.2009.177279.
150. Ohno-Matsui K, Yoshida T, Futagami S, Yasuzumi K, Shimada N, Kojima A, Tokoro T, Mochizuki M. Patchy atrophy and lacquer cracks predispose to the development of choroidal neovascularisation in pathological myopia. *Br J Ophthalmol*. 2003 May;87(5):570-3. doi: 10.1136/bjo.87.5.570.
151. Pohlmann D, Pleyer U, Jousen AM, Winterhalter S. Optical Coherence Tomography Angiography in Comparison to other Multimodal Imaging Techniques in Punctate Inner Choroidopathy. *Br J Ophthalmol*. 2019 Jan;103(1):60-66. doi: 10.1136/bjophthalmol-2017-311764.
152. Zahid S, Chen KC, Jung JJ, Balaratnasingam C, Ghadiali Q, Sorenson J, Rofagha S, Freund KB, Yannuzzi LA. Optical coherence tomography angiography of chorioretinal lesions due to idiopathic multifocal choroiditis. *Retina*. 2017 Aug;37(8):1451-1463. doi: 10.1097/IAE.0000000000001381.
153. Cheng L, Chen X, Weng S, Mao L, Gong Y, Yu S, Xu X. Spectral-Domain Optical Coherence Tomography Angiography Findings in Multifocal Choroiditis With Active Lesions. *Am J Ophthalmol*. 2016 Sep;169:145-161. doi: 10.1016/j.ajo.2016.06.029.
154. Astroz P, Miere A, Mrejen S, Sekfali R, Souied EH, Jung C, Nghiem-Buffet S, Cohen SY. Optical coherence tomography angiography to distinguish choroidal neovascularization from macular inflammatory lesions in multifocal choroiditis. *Retina*. 2018 Feb;38(2):299-309. doi: 10.1097/IAE.0000000000001617.
155. Pohlmann D, Pleyer U, Jousen AM, Winterhalter S. Immunosuppressants and/or Anti-Vascular Endothelial Growth Factor inhibitors in Punctate Inner Choroidopathy? Follow-up Results with Optical Coherence Tomography Angiography. *Br J Ophthalmol*. 2019 Aug;103(8):1152-1157. doi: 10.1136/bjophthalmol-2018-312455.
156. Wang JC, McKay KM, Sood AB, Láíns I, Sobrin L, Miller JB. Comparison of choroidal neovascularization secondary to white dot syndromes and age-related macular degeneration by using optical coherence tomography angiography. *Clin Ophthalmol*. 2018 Dec 31;13:95-105. doi: 10.2147/OPHTH.S185468.
157. Wu W, Li S, Xu H, Liu Y, Wang Y, Lai TYY, Yin ZQ. Treatment of Punctate Inner Choroidopathy with Choroidal Neovascularization Using Corticosteroid and Intravitreal Ranibizumab. *Biomed Res Int*. 2018 Sep 13;2018:1585803. doi: 10.1155/2018/1585803.
158. Abdelhakim AH, Yannuzzi LA, Freund KB, Jung JJ. Differential response to glucocorticoid immunosuppression of two distinct inflammatory signs associated with punctate inner choroidopathy. *Retina*. 2021 Apr 1;41(4):812-821. doi: 10.1097/IAE.0000000000002950.

## 6 Danksagung

Mein ganz besonderer Dank gilt Frau Prof. Dr. med. Antonia M. Jousen, Direktorin der Augenklinik der Charité – Universitätsmedizin Berlin, für ihre außergewöhnliche Unterstützung. Ihre unermessliche Passion für Wissenschaft und Forschung hat mich inspiriert und motiviert über mich hinauszuwachsen. Durch die Chance an zahlreichen Förderprogrammen, unter anderem am Clinician Scientist Program teilzunehmen, konnte ich meinen wissenschaftlichen Horizont vertiefen. Sie war immer bei mir, wenn es hieß durchzuhalten und erinnerte mich stets daran, wie zäh ich eigentlich bin. Das hat mir immer wieder neue Kraft gegeben.

Genauso gilt mein großer Dank meinem klinischen und wissenschaftlichen Mentor, Prof. Dr. med. Uwe Pleyer. Vom ersten Augenblick an, glaubte er an mich. Er führte mich in die Augenheilkunde ein, insbesondere in die faszinierende und mysteriöse Welt der Uveitis. Ich werde es nie vergessen, dass Herr Professor mir die erste Anstellung als Studienärztin ermöglicht und mir damit die Tür in die Universitätsmedizin geöffnet hat. Er lehrte, begleitete und leitete mich an. Er gab mir anspruchsvolle Aufgaben, wertvolle Hinweise und ließ mich nie aus den Augen. Durch ihn konnte ich das Handwerk von unschätzbarem Wert für die wissenschaftliche und klinische Arbeit erlernen. Dieses Wissen werde ich lebenslang hochachten.

Auch möchte ich PD Dr. med. Sibylle Winterhalter einen herzlichen Dank aussprechen für die kollegiale und freundschaftliche Förderung meiner klinischen und wissenschaftlichen Ausbildung. Viele konstruktive und bereichernde Diskussionen gaben mir den Impuls für das Thema dieser Habilitationsschrift. Gemeinsam mit ihr sind viele erfolgreiche Publikationen entstanden, die meine wissenschaftliche Arbeit beflügelt haben. Den letzten Schliff meiner Schriften verdanke ich ihr ebenfalls.

Meinem Doktorvater, Prof. Dr. rer. nat. Andreas Thiel danke ich für den Zugang zur Immunologie, sowie die Weiterverfolgung der experimentellen Forschung während meiner klinischen Arbeit. Gemeinsam mit Dr. rer. nat. Julian Braun aus der AG Thiel haben wir fantastische und erfolgreiche experimentelle Projekte entwickelt und durchgeführt. Beeindruckt haben mich nicht nur seine wissenschaftliche Expertise und seine strukturierte Herangehensweise an experimentellen Studien, sondern auch seine unermüdliche freundschaftliche Hilfsbereitschaft. Ein Dank an dieser Stelle gilt auch Beate Kruse, die immer herzlich, kompetent und ebenfalls hilfsbereit den Überblick über unsere Laborarbeit und unsere Befindlichkeiten bewahrte.



Außerdem möchte ich mich bei meinen Kolleg\*innen PD Dr. med. Catharina Busch, Dr. med. Milena Pahlitzsch, Dr. med. Anja Davids, Dr. med. Anne Rübsam, Dr. med. Matthias Lenglinger, Dr. med. Gerrit vom Brocke, Steffen Künzel, Sergio Macedo, Jan Klonner für die freundschaftliche und kollegiale Zusammenarbeit bedanken. Auch danke ich PD Dr. med. Güliz Acker für ihre treibende Kraft und Motivation für die Anfertigung der Schrift. Alle standen mir immer mit Rat und Tat zur Seite, haben mir den Rücken freigehalten und waren nicht nur klinische Wegbegleiter, sondern teilweise auch Mitautoren an wissenschaftlichen Arbeiten.

Ebenfalls möchte ich mich bedanken bei allen, auch nicht namentlich genannten, die mich in dem intensiven Lebensabschnitt begleitet und unterstützt haben. Insbesondere danke ich Mariana Albert für ihre herzliche und positive Energie, sowie ihre aufmunternden Worte in jeglicher Situation.

Nicht zuletzt danke ich aus ganzem Herzen meinen Eltern für ihre ununterbrochene Liebe. Ihre emotionale Unterstützung in jeder Lebenslage, ihre Geduld und ihr Verständnis haben mir Sicherheit, Stärke und Vertrauen gegeben. Bei meinen Brüdern, sowie der gesamten Familie möchte mich für die entgegengebrachte Anerkennung für meine Arbeit bedanken.

Diese Habilitationsschrift widme ich meiner bezaubernden Tochter Amalia, die mein Leben vervollständigt hat.

## 7 Erklärung

§ 4 Abs. 3 (k) der HabOMed der Charité

Hiermit erkläre ich, Dominika Marta Pohlmann, dass

- weder früher noch gleichzeitig ein Habilitationsverfahren durchgeführt oder angemeldet wurde,
- die vorgelegte Habilitationsschrift ohne fremde Hilfe verfasst, die beschriebenen Ergebnisse selbst gewonnen sowie die verwendeten Hilfsmittel, die Zusammenarbeit mit anderen Wissenschaftlern/Wissenschaftlerinnen und mit technischen Hilfskräften sowie die verwendete Literatur vollständig in der Habilitationsschrift angegeben wurden,
- mir die geltende Habilitationsordnung bekannt ist.

Ich erkläre ferner, dass mir die Satzung der Charité – Universitätsmedizin Berlin zur Sicherung Guter Wissenschaftlicher Praxis bekannt ist und ich mich zur Einhaltung dieser Satzung verpflichte.

.....

Datum

.....

Unterschrift