

2. Patienten und Methoden

2.1. Patientenauswahl

Insgesamt wurden 63 Patienten mit Angiomatosis retinae in Bezug auf ihren okulären Krankheitsverlauf und auf das Vorliegen eines VHL untersucht. 42 Patienten waren im Zeitraum von 1988 bis 1999 in der Augenklinik des Universitätsklinikum Benjamin Franklin in Behandlung. 13 weitere Patienten wurden von 1978 bis 1996 in der Universitätsaugenklinik Essen behandelt. Die Erfassung der aufgetretenen Angiome erfolgte bei einem Patienten nur anamnestisch, bei 13 Patienten retrospektiv, bei 24 Patienten retrospektiv und prospektiv und bei 13 Patienten rein prospektiv. Die erhobenen Daten setzten sich aus der Anamnese, der Auswertung alter Krankenakten, der Funduskopie und Fundusphotographie bei der erstmaligen Vorstellung und aus den Befunden regelmäßiger Nachkontrollen zusammen. Die Untersuchungen beinhalteten den besten korrigierten Visus, Spaltlampenuntersuchung und binokulare indirekte Funduskopie mit einer Volk 2.2 Linse und eine Spaltlampenbiomikroskopie mit einer Volk 78 Dioptrien Linse. Eine Fluoreszeinangiographie (FAG) wurde zur Bestätigung einer neu entdeckten Angiomatosis retinae und zur Feststellung von Mikroangiomen, die nicht sicher mit der indirekten bzw. bei der biomikroskopischen Funduskopie diagnostiziert werden konnten durchgeführt. Besondere Beachtung galt der Lokalisation der retinalen Angiome am Fundus, der Größe der Angiome und den von ihnen verursachten

sekundären Veränderungen wie Lipidexsudation und exsudativen oder traktiven Netzhautablösungen. Die Lokalisation am Augenhintergrund wurde funduskopisch eingeschätzt. Falls Angiome zu einem früheren Zeitpunkt schon behandelt worden waren, wurden deren Lage anhand der Netzhautnarben oder mit Hilfe alter Fundusfotos oder Netzhautskizzen lokalisiert und ihre Größe geschätzt.

2.2. Größenbestimmung retinaler Angiome

Angiome wurden klinisch in fünf Gruppen eingeteilt (Abb. 20-25, Farbbilder S.91). Mit Größe I (Abb.20) wurden Mikroangiome bezeichnet, welche mittels der indirekten Ophthalmoskopie gerade eben nachweisbar waren. Diese Mikroangiome hatten einen Durchmesser bis zu ca. 0,2 PD, befanden sich im Niveau der Retina und zeigten keine vergrößerten zu- und abführenden Gefäße. In der Regel erfolgte die Bestätigung des Befundes eines Mikroangioms mittels FAG, insbesondere, wenn es sich um die erste nachgewiesene okuläre Manifestation des Patienten handelte (Abb. 21). Angiome der Größe II (Abb.22) zeigten einen Durchmesser bis zu 0,5 PD. In der Regel zeigten sie bereits diskret dilatierte zu- und abführende Gefäße und eine geringe Prominenz, jedoch noch kein umgebendes Netzhautödem oder Lipidexsudate. Angiome der Größe III (Abb. 23) zeigten einen Durchmesser zwischen 0,5 und 1,0 PD, das klassische Erscheinungsbild eines prominenten Angiomknotens mit deutlich erweiterten und geschlängelten versorgenden Gefäßen sowie ein umgebendes Netzhautödem und Lipidexsudate. Angiome der Größe IV (Abb. 24) zeigten einen Durchmesser von 1-2 PD, ausgeprägte, auch angiomferne Lipidexsudate, teilweise auch eine umgebende oder auch angiomferne exsudative Netzhautablösung sowie sekundäre Glaskörperveränderungen. Angiome der Größe V (Abb.25) zeigten einen Durchmesser von mehr als 2 PD, in der Regel eine ausgeprägte begleitende exsudative oder auch traktive Netzhautablösung und gelegentlich auch Glaskörperblutungen.

Für die Analyse des Wachstumsverhalten der Angiome erfolgte eine quantitative Größenbestimmung anhand von Fundusfotografien. Für mit der Zeiss FF 4 Funduskamera (Carl Zeiss, Oberkochen) erstellte Diapositive erfolgte die Größenberechnung mittels der von Bengtsson angegebenen vereinfachten Littmann'schen Formel [134]. Für mit der Topcon TRC-50 VT Funduskamera (Topcon Co., Tokyo/Japan) mit einem Bildwinkel von 50° erstellte Diapositive erfolgte die Größenbestimmung mittels des vom Hersteller angegebenen Korrekturfaktors.

2.3. Screening nach weiteren VHL Organmanifestationen

Bei 42 Patienten wurde eine vollständige, bei 3 Patienten eine unvollständige Screeninguntersuchung nach weiteren Organmanifestationen eines VHL entsprechend den derzeitigen Empfehlungen (siehe Kap. 1.6.) durchgeführt. Bei den übrigen Patienten erfolgten nur vereinzelte Untersuchungen nach weiteren Organläsionen oder es standen nur anamnestische Angaben darüber zur Verfügung. Im einzelnen erfolgte eine kraniale und spinale MRT, eine 24-Stunden-Sammelurinuntersuchung auf Katecholamine sowie eine bildgebende Untersuchung des Abdomens. Bei jüngeren Personen war dies in der Regel eine Sonographie, bei unklaren Befunden oder fortgeschrittenem Lebensalter eine CT oder auch eine MRT des Abdomens.

2.4. Molekulargenetische Diagnostik des VHL

Nach einer humangenetischen Beratung erfolgte die Entnahme von EDTA-Blutproben zur genetischen Analyse des VHL-Gens im Labor von Prof. Neumann an der Universität Freiburg.

Nach Extraktion und Denaturierung der DNA mittels Standardmethoden konnte die Amplifikation der Exone durch PCR mittels spezifischer Primer erfolgen. Die denaturierten Einzelstränge konnten dann einer Polyacrylamid-Gel-Elektrophorese unterzogen (SSCP [89]) und die entstehenden Banden mittels einer Silberfärbung dargestellt werden. Die dabei vom Normalmuster abweichenden Banden waren dann Grundlage der Sequenzierung. Falls die SSCP keine aberranten Banden aufwies erfolgte ein Southern blot zum Nachweis großer Deletionen. Diese Methode ermöglicht bei etwa 80% der Patienten mit klinisch gesichertem VHL den Nachweis von Keimbahnmutationen [135, 136]. Bei der Untersuchung von Familienmitgliedern kann im Falle einer sich gut darstellenden Bandenaberration in der SSCP auf die Sequenzierung verzichtet werden.

Die Mitteilung des molekulargenetischen Befundes fand im Rahmen einer humangenetischen Beratung statt. Bei jedem Patienten erfolgte die Entnahme und Analyse einer zu einem anderen Zeitpunkt entnommenen Kontrollblutprobe zur Bestätigung des Befundes.

2.5. Diagnose des VHL

Die Diagnose des VHL basierte auf den Kriterien von Neumann [28, 66]. Die diagnostischen Minimalkriterien gelten demnach als erfüllt, wenn bei einem Patienten ein retinales Angiom oder ein zentralnervöses Hämangioblastom und bei ihm oder einem Verwandten ersten Grades eine weitere der sogenannten häufigen Läsionen (retinales Angiom, ZNS-Hämangioblastom, Nierentumoren oder -zysten, Pankreaszysten, Phäochromozytom oder Nebenhodenzystadenom) bestehen. Zusätzlich zu diesen von Neumann festgelegten Kriterien wurde eine genetische Untersuchung (siehe Kap. 2.4.) auf das Vorliegen einer Mutation des VHL-Gens durchgeführt.

2.6. Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung erfolgte mittels eines Apple Macintosh Computers und eines kommerziellen Statistikprogrammes (JMP 3.1.6, SAS institute). Falls nicht explizit anders bezeichnet, sind numerische Werte als Mittelwert \pm Standardabweichung (SD) angegeben. Für nominale X-Werte und kontinuierliche Y-Werte erfolgte die Signifikanztestung mittels ungepaartem *t*-Test. Für nominale X-Werte und nominale Y-Werte wurde mittels des „Fisher’s exact test“ geprüft. Das Signifikanzniveau wird mit * für $p < 0,05$, ** für $p < 0,01$ und *** für $p < 0,001$ bezeichnet.

Die Analyse der Angiomgröße im Verhältnis zum Lebensalter der Patienten bei Erstdiagnose erfolgte mittels des „jackknife“-Verfahrens [137]. Dabei wurden repetitive Regressionsanalysen durchgeführt, nachdem der jeweils älteste Patient sukzessive aus der Analyse ausgeschlossen wurde.