

Aus der Klinik für Augenheilkunde am Campus Benjamin Franklin  
der Medizinischen Fakultät Charité - Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

**Nah-Infrarot-Autofluoreszenz bei Patienten mit  
exsudativer altersabhängigen  
Makuladegeneration**

zur Erlangung des akademischen Grades  
Doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät  
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Elena Torres Suárez

aus Madrid

Gutachter: 1. Prof. Dr. med. U. Kellner

2. Prof. Dr. med. K. Rüther

3. Priv.-Doz. Dr. med. J. Wachtlin

Datum der Promotion: 29.01.2010

# Inhaltsverzeichnis

<b>Abkürzungsverzeichnis.....</b>	<b>5</b>
<b>1 Einführung .....</b>	<b>6</b>
1.1 Ziele der Arbeit.....	8
<b>2 Grundlagen .....</b>	<b>9</b>
2.1 Exsudative altersabhängige Makuladegeneration .....	9
2.1.1 Überblick der Erkrankung .....	9
2.1.2 Pathophysiologie der altersabhängigen Makuladegeneration .....	10
2.1.3 Gegenwärtige diagnostische Methoden.....	15
2.2 Autofluoreszenz des Augenhintergrundes.....	20
2.2.1 Herkunft der Autofluoreszenz .....	20
2.2.2 Aufnahme der Autofluoreszenz.....	21
2.2.3 Fundusautofluoreszenz .....	25
2.2.4 Nah-Infrarot-Autofluoreszenz .....	30
<b>3 Material und Methoden .....</b>	<b>33</b>
3.1 Auswahl der Patienten.....	33
3.2 Bildaufnahmen .....	33
3.3 Datensammlung und Datenklassifikation.....	34
3.4 Bewertungsschema und Bildanalyse .....	35
3.4.1 Allgemeine Daten .....	35
3.4.2 Farbbilder.....	36
3.4.3 Fundusautofluoreszenz .....	36
3.4.4 Nah-Infrarot-Autofluoreszenz .....	37
3.4.5 Fluorescein-Angiografie.....	39
3.4.6 Korrespondenz zwischen Nah-Infrarot- und Fundusautofluoreszenz .....	39
3.5 Statistische Methoden.....	40
<b>4 Ergebnisse .....</b>	<b>41</b>
4.1 Demographische und deskriptive Ergebnisse.....	41
4.2 Auswertung der digitalen Farbfundusfotografie .....	43

4.3 Fundusautofluoreszenz .....	45
4.4 Nah-Infrarot-Autofluoreszenz .....	50
4.5 Fluorescein-Angiografie .....	56
4.6 Nah-Infrarot-Autofluoreszenz vs. Fundusautofluoreszenz .....	57
4.7 Mittelwertvergleich der Läsionsflächen .....	59
4.7.1 Durchschnittsvergleich nach Gruppen in der Farbfundusfotografie .....	62
4.7.2 Durchschnittsvergleich nach Gruppen in der Fundusautofluoreszenz .....	62
4.7.3 Durchschnittsvergleich nach Gruppen in der Nah-Infrarot-Autofluoreszenz .....	63
4.8 Visusentwicklung .....	64
4.8.1 Visusentwicklung nach Gruppen in der Farbfundusfotografie .....	64
4.8.2 Visusentwicklung nach Gruppen in der Fundusautofluoreszenz .....	65
4.8.3 Visusentwicklung nach Gruppen in der Nah-Infrarot-Autofluoreszenz .....	65
4.9 Korrelationsanalyse .....	67
<b>5 Diskussion .....</b>	<b>69</b>
5.1 Auswertung der Fragen .....	70
5.1.1 Folgt die NIA-Verteilung einem bestimmten Muster? .....	70
5.1.2 Gibt es gewisse NIA-Muster, die mit einer schlechteren Visusprognose korrelieren? .....	71
5.1.3 Ist die FAF-Klassifikation von Bindewald et al reproduzierbar? .....	73
5.1.4 Präsentieren sich Läsionen in FAF und NIA unterschiedlich? .....	73
5.1.5 Besteht ein Unterschied in der Fläche der Läsionen gemessen mit Autofluoreszenztechniken vs. FAG? .....	75
5.1.6 Besteht eine Korrelation der NIA-Fläche mit der FAF- und FAG-Fläche? Korrelieren die NIA-Muster mit den FAF-Mustern? Korrelieren die NIA-, FAF- und FAG-Flächen mit der Sehschärfe? .....	76
5.1.7 Gehen die NIA-Veränderungen den FAF-Veränderungen in der Zeit voraus? .....	77
<b>6 Zusammenfassung .....</b>	<b>78</b>
<b>7 Literaturverzeichnis .....</b>	<b>79</b>
<b>Danksagung .....</b>	<b>87</b>
<b>Lebenslauf .....</b>	<b>88</b>

## Abkürzungsverzeichnis

A2E	N-Retinyln-Retinylidene Ethanolamin
Abb.	Abbildung
AMD	altersabhängige Makuladegeneration
ARM	age-related maculopathy (altersabhängige Makulopathie)
CNV	Choroidale Neovaskularisation
cSLO	Konfokales Scanning-Laserophthalmoskop
FAF	Fundusautofluoreszenz
FAG	Fluorescein-Angiografie
fFAG	frühe Fluorescein-Angiografie
sFAG	späte Fluorescein-Angiografie
GA	geographische Atrophie
HRA	Heidelberg Retina Angiograph
ICGA	Indocyaningrün-Angiografie
NIA	Nah-Infrarot-Autofluoreszenz
OCT	Optische Kohärenztomografie
RPE	Retinales Pigmentepithel
SA	Standardabweichung
Tab.	Tabelle
VEGF	vascular endothelial growth factor

# 1 Einführung

Die altersabhängige Makuladegeneration (AMD), insbesondere die exsudative Form, ist die häufigste Erblindungsursache von Patienten jenseits des 50. Lebensjahrs in den westlichen Industrieländern. Die Prävalenz dieser Erkrankung steigt mit zunehmendem Alter stark an. Mit zunehmender Lebenserwartung wächst die Bedeutung altersabhängiger Erkrankungen: Der Bevölkerungsanteil älter als 85 Jahre wird sich in den Vereinigten Staaten bis zum Jahr 2020 schätzungsweise verdreifachen, und von diesen Menschen werden etwa 30% Zeichen einer AMD aufweisen [47,87]. Vergleichbare Entwicklungen sind in den anderen Industrienationen zu erwarten.

Das retinale Pigmentepithel (RPE) hat eine entscheidende Bedeutung für den Stoffwechsel der Fotorezeptoren und spielt eine wichtige Rolle bei der Pathogenese der AMD und anderer retinaler Erkrankungen [10,21,22,60]. Die Beurteilung der Integrität des RPE ist daher entscheidend für das Verständnis des Ablaufs retinaler Erkrankungen und der Wirkung therapeutischer Interventionen [15,75,85]. Aufgrund der derzeitigen Behandlungsoptionen ist insbesondere die Früherkennung der Entstehung einer choroidalen Neovaskularisation (CNV) im Rahmen der exsudativen AMD von Bedeutung, jedoch ist aufgrund der sich abzeichnenden Entwicklung möglicher Therapieoptionen auch für die nicht-exsudative AMD die RPE-Evaluation wesentlich.

Bisher umfasste die routinemäßige Diagnostik der exsudativen AMD die Ophthalmoskopie, Fluorescein-Angiografie (FAG) und Indocyaningrün-Angiografie (ICGA), ergänzt durch die optische Kohärenztomografie (OCT).

Die Weiterentwicklung der Scanning-Laser-Ophthalmoskopie ermöglicht die Verteilung der Autofluoreszenz des Augenhintergrundes mit zwei verschiedenen Techniken, die Fundusautofluoreszenz (FAF) und die Nah-Infrarot-Autofluoreszenz (NIA), nicht-invasiv zu untersuchen. Diese bildgebenden Verfahren messen die Emission von verschiedenen Fluorophoren in der Netzhaut nach der Erregung durch Licht mit unterschiedlichen Wellenlängen. Damit lassen sich Informationen über die Integrität des RPE gewinnen. In den letzten Jahren sind eine Reihe von Publikationen erschienen, die Veränderungen der FAF

[62,78,82,83,85] und, da später eingeführt, bisher weniger häufig der NIA bei zahlreichen Netzhauterkrankungen beschrieben haben [36,38,43,57,92]. Es wird vermutet, dass bestimmte FAF- und NIA-Muster einen Visusverlust besser als die FAG prognostizieren können. Obwohl die FAG noch der Goldstandard für die Diagnose der exsudativen AMD ist, wurde für die FAF insbesondere bei der trockenen, aber auch der exsudativen AMD eine prognostische Bedeutung nachgewiesen [4,26,27,29,82]. Darüber hinaus werden mit der FAF ergänzende Phänomene dargestellt, deren Bedeutung noch prospektiv untersucht werden muss.

Außerdem haben einige Autoren [36,43,81] über Unterschiede zwischen FAF- und NIA-Befunden und deren Entstehungszeit berichtet und die Hypothese aufgestellt, dass die NIA-Befunde neue Hinweise zum Verständnis der Pathophysiologie der AMD und der Entwicklung der CNV ergeben können. Die Faktoren, die eine Rolle für die Integrität und den Stoffwechsel des RPE-Fotorezeptorenkomplexes spielen, sind derzeit nur teilweise bekannt. Deswegen würden die frühe Diagnosestellung und mögliche Identifizierung neuer pathogenetischer und prognostischer Faktoren durch die NIA potenziell die Betreuung des Patienten und die Therapie der Erkrankung verbessern.

## 1.1 Ziele der Arbeit

Ziel dieser Arbeit ist eine prospektive systematische Bildersammlung und Analyse von einer repräsentativen Anzahl von Patienten mit exsudativer AMD. Die Bilder werden am gleichen Tag mit vier unterschiedlichen Untersuchungstechniken (Fundusfotografie, FAF, NIA und FAG) aufgenommen. Die Aufnahmen werden registriert, analysiert und verglichen. Ein weiteres Ziel ist festzustellen, inwieweit die NIA-Veränderungen bei AMD in Muster klassifizierbar sind.

Die Arbeit hat diese Zielsetzung anhand der folgenden Fragen verfolgt:

1. Folgt die NIA-Verteilung einem bestimmten Muster?
2. Gibt es gewisse NIA-Muster, die mit einer schlechteren Visusprognose korrelieren?
3. Ist die FAF-Klassifikation von Bindewald et al [6] reproduzierbar?
4. Präsentieren sich Läsionen in FAF und NIA unterschiedlich?
5. Besteht ein Unterschied in der Fläche der Läsionen gemessen mit Autofluoreszenztechniken vs. FAG? Spielt die Vorbehandlung mit Anti-VEGF Medikamenten eine Rolle bei der Fläche der Läsionen?
6. Besteht eine Korrelation der NIA-Fläche mit der FAF- und FAG-Fläche? Korrelieren die NIA-Muster mit den FAF-Mustern? Korrelieren die NIA-, FAF- und FAG-Flächen mit der Sehschärfe?
7. Gehen die NIA-Veränderungen den FAF-Veränderungen in der Zeit voraus?

## 2 Grundlagen

### 2.1 Exsudative altersabhängige Makuladegeneration

#### 2.1.1 Überblick der Erkrankung

Die AMD ist ab dem 50. Lebensjahr die häufigste Erblindungsursache (35%) in den westlichen Industrienationen. Sie betrifft 6-10% der Bevölkerung zwischen 65 und 74 Jahren und 19-30% der Bevölkerung älter als 75 Jahre [47,96]. Die 5-Jahres-Inzidenz für eine Erkrankung des zweiten Auges beträgt ungefähr 40%. Bei einem schon an einer exsudativen AMD erkrankten Auge steigt die Häufigkeit des Auftretens einer CNV am zweiten Auge auf bis zu 26% innerhalb von 5 und auf 50% innerhalb von 10 Jahren [87].

Das Frühstadium der Erkrankung ist die altersabhängige Makulopathie (ARM), die durch in der Ophthalmoskopie sichtbare Veränderungen am RPE und durch Drusen gekennzeichnet ist. Die Drusen oder abnormale Lipoproteinablagerungen befinden sich in der extrazellulären Matrix zwischen dem RPE und der Bruch-Membran. Die ARM kann zu zwei Spätstadien der AMD fortschreiten. Die trockene oder nicht-exsudative Spätform ist die geographische Atrophie (GA), die ca. 80-85% der späten AMD-Fälle umfasst. Die exsudative Spätform betrifft ca. 15-20% der Patienten mit später AMD.

Die feuchte, exsudative oder neovaskuläre Form wird als die Bildung einer CNV oder einer RPE-Abhebung definiert (*Abb. 2.1.*). Die neuen aus der Aderhaut stammenden Gefäße wachsen durch die Bruch-Membran in den sub-RPE Raum und können das RPE durchbrechen. Die assoziierten Exsudation und Blutungen können zu lokaler Netzhautabhebung, Schädigung der Fotorezeptoren und einer möglichen Narbenbildung führen. Die exsudative Form verursacht ungefähr 90% des Visusverlustes wegen AMD [96].

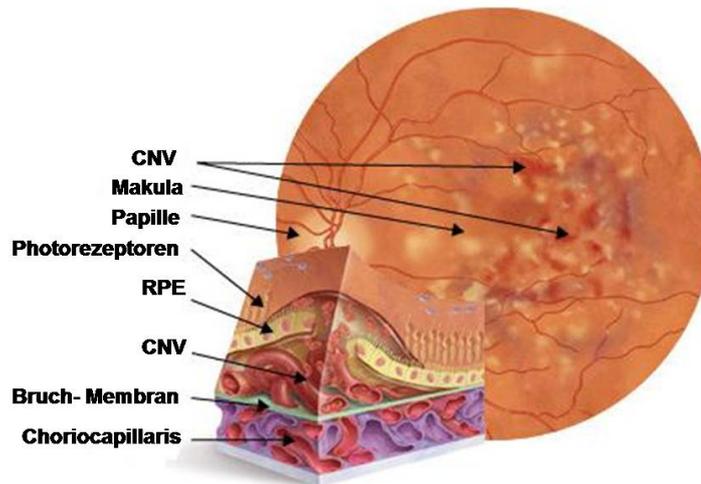


Abb. 2.1: CNV bei AMD. Modifiziert von [2]

### 2.1.2 Pathophysiologie der altersabhängigen Makuladegeneration

AMD ist eine komplexe Erkrankung, die durch mehrere genetische und umweltbedingte Faktoren entsteht. Die Alterungsprozesse spielen dabei eine fundamentale Rolle. Andere Risikofaktoren neben dem zunehmenden Alter sind eine positive Familienanamnese, genetische Prädisposition, weibliches Geschlecht und Nikotinabusus. Auch die Ernährungsweise, Übergewicht, Fototoxizität, helle Iris, Hypertonus und kardiovaskuläre Krankheiten scheinen eine Rolle zu spielen [96]. Mehrere genetische Studien haben auf die Erblichkeit der AMD hingewiesen. Bestimmte Polymorphismen in verschiedenen Genen sind je nach Kombination mit einem bis zu 200fach erhöhten AMD-Risiko verbunden. Die Gene sind der *complement factor H* (CFH), *complement component 2* (C2), *complement component 3* (C3), *complement factor B* (CFB), *HtrA serine Peptidase 1* (HTRA1), *age-related maculopathy susceptibility* (ARMS2) und *apolipoprotein E* (APOE) [5, 54].

Die Außensegmente der Fotorezeptoren werden im physiologischen Prozess durch Nachwachsen regeneriert, wobei die ältesten Anteile an der Spitze der Außensegmente abgespaltet, von den RPE-Zellen phagozytiert und in deren Lysosomen verarbeitet werden. Ein Teil der Abbauprodukte wird auch physiologisch als nicht weiter abbaubares Lipofuszin in den RPE-Zellen gespeichert. Die Menge von gespeichertem Lipofuszin nimmt altersabhängig zu [41,75].

Neue Studien weisen auf eine Verbindung zwischen Lipofuszinablagerung und Entzündung, Komplementsystem-Aktivierung und oxidativem Schaden hin [68,98]. Auch longitudinale Studien haben darauf hingewiesen, dass die Ablagerung autofluoreszenten Materials dem RPE-Zell-Verlust vorangehen kann [28]. Die mit Lipofuszin voll geladenen RPE-Zellen werden vermutlich weniger Außensegmente der Fotorezeptoren phagozytieren und zu verminderter retinalen Sensitivität führen [68].

Basal der RPE-Zelle entsteht eine Akkumulation von nicht transportiertem Material in Form von Lipiden und Proteinen, die in Form von Drusen zwischen RPE-Zellen und Bruch-Membran sichtbar ist [96]. Bei der AMD führt die Ablagerung im Bereich der Bruch-Membran außerdem zu einer zunehmenden Verdickung dieser Membran [60]. Es wird angenommen, dass der dadurch erhöhte Diffusionswiderstand zur Choriocapillaris und die entsprechende Hypoxie zu einer Kaskade von Prozessen führt, wie Ausschüttung von Wachstumsfaktoren und Entzündungsmediatoren, Ablagerung von Immunokomplex, Aktivierung des Komplementsystems, Entstehung von freien Radikalen und hochreaktiven Sauerstoffverbindungen, die alle zusammen zu der Entstehung einer CNV führen, indem sie die Auslösung angiogener Faktoren fördern [86].

Die Pathophysiologie der CNV ist noch nicht in allen Aspekten geklärt. Abnormale Vaskularisationen entstehen aus einem Ungleichgewicht zwischen den regulierenden proangiogenen und antiangiogenen Faktoren. Eine CNV ist ein komplexes Gewebe, das aus vaskulären Teilen (Endothelzellen, Perizyten) und extravaskulären Teilen (Myofibroblasten, Gliazellen, Entzündungszellen und RPE) besteht [86].

Der die Angiogenese und vaskuläre Permeabilität fördernde *vascular endothelial growth factor (VEGF)* ist in den letzten Jahren als entscheidend für die Bildung der Neovaskularisation betrachtet worden. Die VEGF-Gruppe besteht aus sechs *growth factors*: VEGF-A, -B, -C, -D, -E und der PlGF oder *placental growth factor*. Diese Faktoren binden an drei verschiedene *tyrosine kinase* Rezeptoren: VEGF-R1 (Flt-1), VEGF-R2 (FLK-2 oder KDR) und VEGF-R3. VEGF-A ist der Hauptanreger der Angiogenese, und wird in mehreren Geweben produziert. Die VEGF-A Formen binden an VEGF-R1 und VEGF-R2, dagegen binden PlGF und VEGF-B nur an VEGF-R1. Die VEGF-R3 binden VEGF-C und VEGF-D und regulieren die Lymphangiogenese. Die Hauptsignale für die Angiogenese werden durch VEGF-R2 erregt, aber die VEGF-R1 regulieren die Aktivität der VEGF-R2 (Abb. 2.2). Intensive Forschung in diesem Bereich hat zu der

Entwicklung einer Therapie zur Behandlung der AMD durch Blockierung von VEGF oder VEGF-Rezeptoren geführt [54].

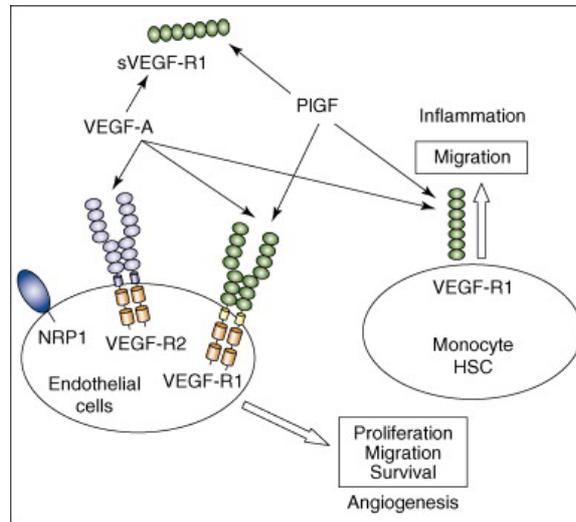


Abb. 2.2: VEGF Signalweg. Modifiziert von Noël et al [54]

Andere proangiogene Wachstumsfaktoren, die in der Pathogenese einer CNV eine Rolle spielen, sind FGF2 (Basic Fibroblastic Growth Factor), TGF $\beta$  (Transforming Growth Factor  $\beta$ ) und TNF $\alpha$  (Tumor Necrosis Factor  $\alpha$ ). Im Gegenzug ist der PEDF (Pigment Epithelium Derived Growth Factor) als Hauptvertreter der Antiangiogenese und VEGF-Gegenspieler mitbeteiligt [86].

Die Ausschüttung von VEGF ist mit der Hochregulation von Plasminogenaktivatoren und Metalloproteinasen und dem Aufweichen der extrazellulären Matrix verbunden. Dadurch wird ein Auswachsen der CNV von der Choriocapillaris aus in den subretinalen Raum gefördert [54,86]. Trotz der wichtigen Rolle von VEGF in der Pathogenese der CNV, reicht die Überexpression von VEGF experimentell nicht, um eine CNV auszulösen wenn die Bruch-Membran intakt ist [55].

Aus der Entdeckung von EPC Zellen (*endothelial progenitor cells*) im Knochenmark wurde gefolgert, dass die Bildung neuer Gefäßen nach der Geburt nicht nur auf die Angiogenese angewiesen ist, aber auch auf die Vaskulogenese, d.h. das Anwerben und Differenzierung aus dem Knochenmark stammenden Angioblasten in reife endotheliale Zellen. In diesem Bereich der Angiogenese wird zurzeit intensiv geforscht [72].

Die aktuellen Therapien der CNV sind auf die VEGF-Blockade durch die intravitreale Injektionen von Antiangiogenese-Medikamenten gerichtet (Abb. 2.3). Diese Substanzen hemmen das Wachstum der CNV und haben einen antiödematösen, permeabilitätsmindernden und gefäßabdichtenden Effekt [86].

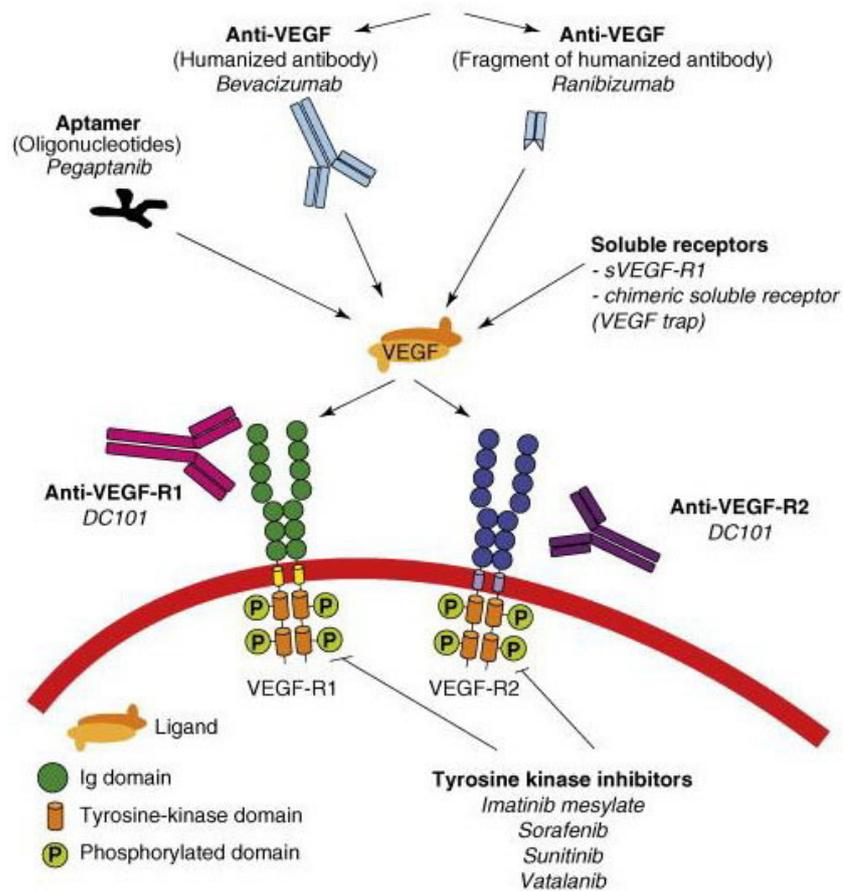


Abb. 2.3: Aktuelle Anti-VEGF Therapien. Modifiziert von Noël et al [54]

### 2.1.2.1 Rolle von Lipofuszin und Melanin

*Lipofuszin* ist ein so genanntes „Abnutzungspigment“ das protein- und cholesterinhaltig ist. Es wird altersabhängig in den Lysosomen vieler eukaryoter Zellen gespeichert. Ein charakteristisches Zeichen des Alterungsprozesses im RPE ist die zunehmende intrazelluläre Einlagerung von Lipofuszin. Die progressive Lipofuszinansammlung entsteht im RPE in erster Linie als Nebenprodukt bei der Phagozytose von Membranscheibchen der Außensegmente der Fotorezeptoren, sowie bei der Autophagie von zelleigenen Organellen zur Zellerneuerung [75,79]. Der Ausgleich zwischen Phagozytose- und Clearance-Mechanismen bestimmt die Menge von Lipofuszin im RPE. Im gesunden Auge wird vermutlich der größte Teil dieser Abbauprodukte durch Mechanismen wie Fotodegradierung, metabolischen Abbau und Exozytose über die Basalmembran Richtung Aderhaut verarbeitet, wobei bei dem normalen Alterungsprozess zunehmend Lipofuszin in den RPE-Zellen zu finden ist. Bei einigen Erkrankungen des RPE oder der Fotorezeptoren kommt es zu einer vermehrten Speicherung von Lipofuszin in Form von Lipofuszingranula [68].

Es gibt Hinweise, dass eine exzessive Lipofuszinablagerung eine zelluläre Dysfunktion bzw. Fotorezeptordysfunktion anzeigt und einem bevorstehenden Funktionsverlust von RPE oder Fotorezeptor vorausgeht, und dass sie zu der Pathogenese von retinalen Erkrankungen wie AMD und hereditären retinalen Dystrophien beiträgt [15,17,68].

Tatsächlich wird bei autosomal-rezessiven Morbus Stargardt mit *ABCA4*-Genmutationen die Ablagerung der Lipofuszin als Ursache der RPE-Atrophie und der retinalen Degeneration angesehen [58]. Das Lipofuszin in den RPE-Zellen hat bei dieser Krankheit eine ähnliche Komposition wie bei der AMD. Außerdem hat das in vivo monitoring mit der FAF von Lipofuszin im RPE bei der AMD gezeigt, dass die Regionen mit hoher FAF mit Arealen verminderter skotopischer Sensitivität korrespondieren [70], die zu Atrophie neigen [28]. Weiterhin wurde der Sehschärfeverlust bei Morbus Best und Morbus Batten der Akkumulation von Lipofuszin-ähnlichen Stoffen in den Lysosomen der RPE zugeordnet [17].

Lipofuszin enthält mindestens 10 verschiedene Fluorophore, die sich im basalen lysosomalen Bereich der RPE-Zellen anlagern [20,75]. Die Autofluoreszenz dieser Fluorophoren durch Erregung mit ultraviolettem oder blauem Licht ermöglicht die Untersuchung der Lipofuszinablagerung im RPE. N-Retinyl-N-Retinylidene Ethanolamin (A2E) ist das

wesentliche Fluorophor des Lipofuszins mit nachgewiesenen toxischen Eigenschaften, das aus der Kombination von Abbauprodukten von *All-Transretinal* entsteht [11,68]. Die das RPE schädigenden Effekte von Lipofuszin und A2E variieren von der Anfälligkeit für fototoxisch induzierte Apoptosis, Alkalisierung der Lysosomen, Inhibition der lysosomalen Digestion von Proteinen, Aktivierung des Komplementes und Aufbruch der lysosomalen Membran durch detergene Aktivität und Direktschaden der DNA [17,77,89,98]. Experimentelle Daten weisen darauf hin, dass die toxischen Eigenschaften des A2E die normale RPE-Funktion störend beeinflussen [68,76].

Das *Melanin* ist ein Pigment, das durch die enzymatische Oxidation des Tyrosins entsteht. Es spielt eine wichtige Rolle in der physiologischen Netzhaut- und Chiasmaentwicklung. Es gilt als der zweite Hauptpigment und Fluorophor im RPE, dient als Antioxidans und Schutzfaktor der RPE-Zellen vor Lichtdiffusion, Strahlung, oxidativer Stress und fototoxischen Schäden von A2E [56,88,97]. Dieser Schutzeffekt scheint mit dem Alter abzunehmen, da der Melaningehalt im RPE abnimmt. Im Erwachsenenalter entsteht der Aufbau von einem Melanin-Lipofuszin Komplex, auch als Melanolipofuszin genannt. Es wurde angenommen, dass die in vivo Fotooxidation von A2E zu der Schädigung von Melanin im RPE beiträgt und zu mehreren retinalen Erkrankungen wie AMD führt [61,88]. Das Melanin am Fundus befindet sich in Granula in den apikalen Anteilen der RPE-Zellen und in der Choroidea, und ist Grundlage der NIA [61]. In Arealen mit Verlust des RPE ist eine schwache NIA der Aderhaut erkennbar. Dies spricht dafür, dass bei intaktem RPE der wesentliche Anteil der NIA im RPE durch Melanin und seine Derivate erzeugt wird [22,41].

### **2.1.3 Gegenwärtige diagnostische Methoden**

Die Funduskopie reicht in der Regel für die AMD-Diagnose in der klinischen Praxis aus. Für die Dokumentation und Verlaufsbeobachtung der Krankheit können zusätzlich Fundusfotografien aufgenommen werden. Wenn jedoch die Symptome des Patienten (Metamorphopsien, akute Visusminderung) oder Veränderungen im Augenhintergrund auf eine CNV hinweisen (subretinale Blutungen, subretinale Lipid-Exsudation, eine gräuliche subretinale abgehobene Läsion oder eine seröse Abhebung der zentralen Netzhaut), ist eine FAG indiziert.

### **2.1.3.1 Farbfotografie und Rotfreie Fotografie**

Die digitale Fotografie des Fundus ist eine Technik zur Dokumentation von Veränderungen am Augenhintergrund. Eine ausreichende weite Pupille und Beleuchtung sind dafür erforderlich. In der Regel wird ein Aufnahmewinkel von 30° verwendet. Mehr Details sind mit 20° und ein größerer Blickwinkel mit 50° erreichbar. Klassischerweise werden Funduskameras verwendet (*Abb. 2.4*), die auch die Möglichkeit zur Angiografie anbieten. Non-Mydriatic-Funduskameras und Scanning-Lasersysteme stehen auch zur Verfügung.

Mit der Verwendung eines grünen Filters werden rotfreie Bilder aufgenommen. Dadurch werden die Netzhautgefäße und ihre Veränderung hervorgehoben, genauso wie die Blutungen, epiretinale Gliose und die Nervenfaserschicht der Netzhaut. Im Gegensatz werden die pigmentierten choroidalen Läsionen verdeckt.

#### **2.1.3.1.1 Funduskamera**

Die traditionellen Funduskamera basierten Systeme verwenden ein elektronisches Xenon-Blitzlicht, das für FAG eine ausreichende Beleuchtung erlaubt, und benutzen dabei eine Matrix von Kondensatoren, die durch eine Xenon-Blitzableiter entladen werden. Die entstandenen Bilder werden durch eine Farb-CCD-Kamera (charge-coupled device) auf einem Computersystem aufgenommen, wodurch sich der aktuelle Befund für einen späteren Vergleich festhalten lässt (*Abb. 2.4*). Eine konfokale Aufnahme ist mit der Funduskamera nicht möglich, da jede Fluoreszenzquelle im optischen Medium registriert wird [69]. Die verschiedenen Erregerfilter, die bei Farbaufnahme leer, bei rotfreier Fotografie grün, bei FAG blau und bei ICGA infrarot sind, erlauben verschiedene Untersuchungen [41]. Mit der Funduskamera lässt sich auch die FAF darstellen, jedoch stellen die Bilder neuer konfokaler Systeme die FAF des Fundus wegen der fehlenden Autofluoreszenz an der Linse besser dar und werden im klinischen Einsatz bevorzugt.

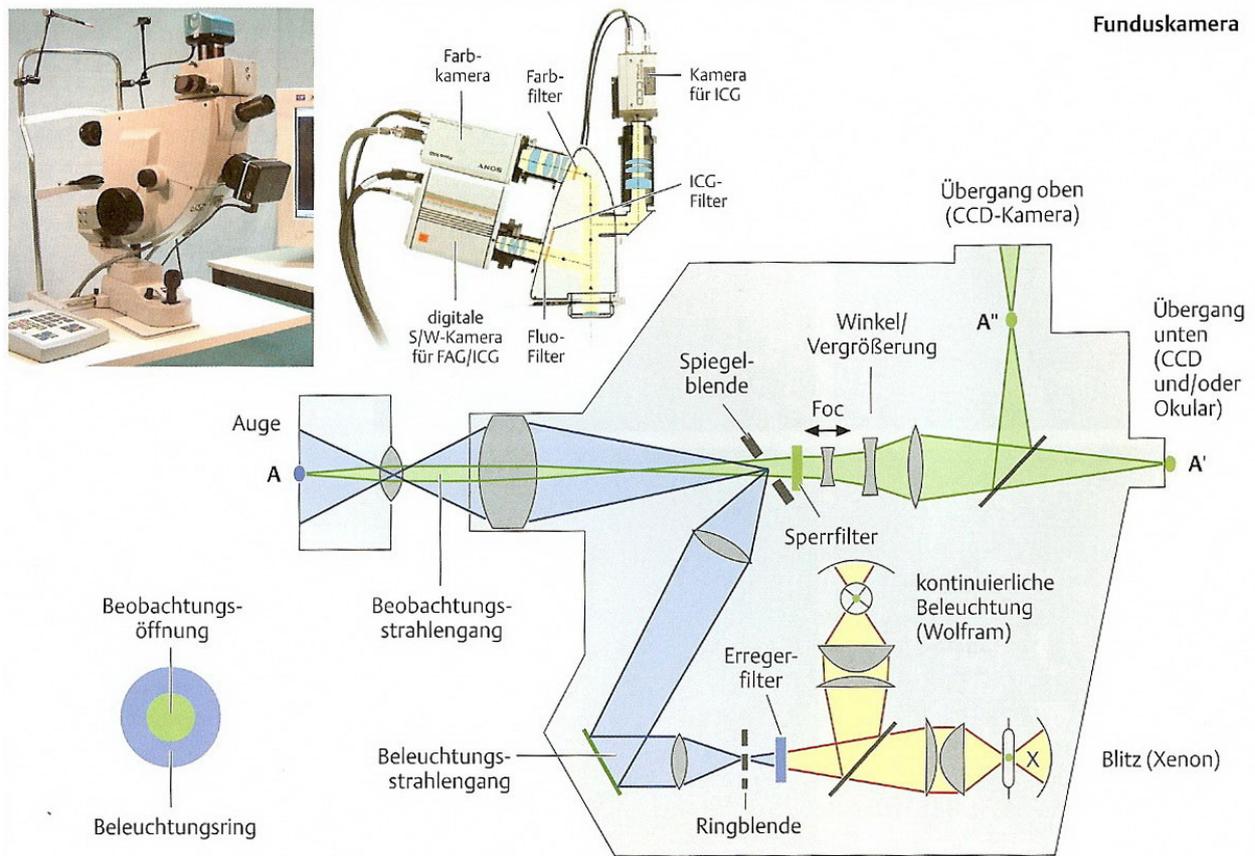


Abb. 2.4: Prinzip Funduskamera [32]

### 2.1.3.2 Fluorescein-Angiografie (FAG)

Die FAG wurde 1960 von Novotny und Alvis entwickelt. Durch die Anregung eines fluoreszierenden Farbstoffs erlaubt sie eine Darstellung normaler und pathologischer Blutgefäße in der Netzhaut und Aderhaut.

Dem Patienten wird 5 ml einer 10% oder 3 ml einer 20%igen Natriumfluoresceinlösung in die Kubitalvene als Bolus injiziert. Dieser wasserlösliche Farbstoff hat die Eigenschaft, nach einer Stimulation mit einer Wellenlänge von 465-490 nm, Licht mit einer Wellenlänge  $> 500$  nm zu emittieren. Mittels Serienfotografien kann man die dynamische Füllung der Gefäße dokumentieren. Dieses bildgebende Verfahren ist der Standard der Netzhautbeurteilung bei exsudativer AMD und wird heutzutage zumeist digital registriert.

Bei exsudativer AMD zeigt sich die klassische CNV innerhalb den ersten Sekunden des Farbstoffeinstroms als eine deutlich abgrenzbare Läsion mit hoher Fluoreszenz und darauf folgender Leckage in den subretinalen Raum um die CNV in den ersten 1-2 Minuten. Die okkulte CNV lässt sich mit der FAG nicht präzise darstellen. Die ICGA kann hierbei hilfreich sein.

### **2.1.3.3 Indocyaningrün-Angiografie (ICGA)**

Aufgrund der limitierten Aussagekraft der FAG bei okkulten CNV fand die Entwicklung der ICGA in den 70-er Jahren an. Durch ein ähnliches Prinzip wie bei der FAG, aber mit dem Farbstoff Indocyaningrün und einer Stimulation mit 800 nm Wellenlänge, können das RPE und leichtere intra- und subretinale Blutungen durchdrungen werden. Indocyaningrün bleibt in der Choriocapillaris und erlaubt eine bessere Untersuchung der choroidalen Strukturen [32]. Allerdings hat sich die Hoffnung, okkulte CNVs mit der ICGA besser abgrenzen zu können, nur zum kleineren Teil erfüllt, so dass die ICGA bis heute ein ergänzendes Verfahren geblieben ist, mit einigen spezifischen Indikationen, die FAG aber nicht als Standard ersetzen konnte. Indocyaningrün wird als lyophilisierte Trockensubstanz zu 25 mg oder 50 mg in Form von Pulver geliefert und vor der Injektion mit ca. 6 ml Aqua ad injectabile vermischt, von denen 3 ml appliziert werden.

FAG und ICGA ermöglichen eine Verlaufsdokumentation, um Veränderungen über die Zeit zu registrieren und können heutzutage auch mit Videotechnik durch die Scanning-Laser Ophthalmoskopie simultan aufgenommen werden.

### **2.1.3.4 Optische Kohärenztomografie (OCT)**

Die OCT ist ein nicht-invasives bildgebendes Verfahren, mit dem anatomische Netzhautstrukturen mit niedrigkohärentem Licht in einem Wellenlängenbereich von 800-1400 nm abgetastet und dargestellt werden. Mit Hilfe des Interferenzmusters von zwei Signalen aus dem Messarm und Referenzarm mit bekannter optischer Weglänge (*Abb. 2.5*) können die relativen optischen Weglängen innerhalb eines A-Scans herausgelesen werden. Flächige, zweidimensionale oder dreidimensionale Tomogramme können durch transversale Führung des Strahles in einer oder zwei Richtungen aufgenommen werden.

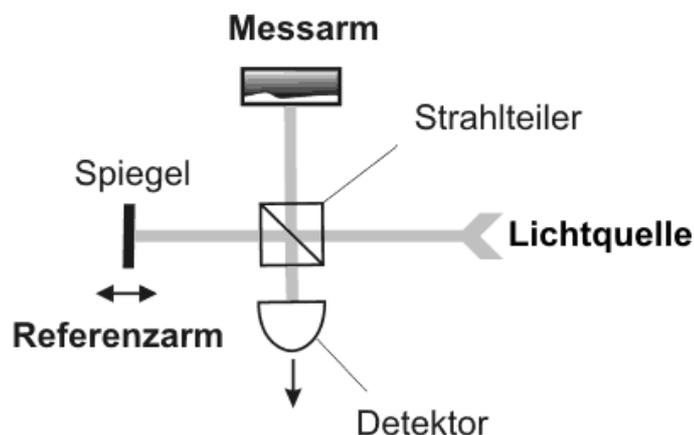


Abb. 2.5: Prinzip der OCT [53]

Das Stratus OCT3 (Carl Zeiss Meditec, Deutschland) ist wegen der weiten Verbreitung noch der Standard für die OCT-Untersuchung der Netzhaut. Jedoch wird die neue Generation von hochauflösenden Spectral domain OCT häufiger eingesetzt. Bei der neuen 4. Generation OCT-Geräten sind durch ein Spektrometer für die Detektierung vom reflektierten Licht bis zu 53000 A-Scans/sec möglich [40]. Die hochauflösenden OCT, mit einer axialen Auflösung von 3  $\mu\text{m}$  erlauben eine feine Darstellung von anatomischen retinalen Strukturen und der epiretinalen, intraretinalen und subretinalen Morphologie. Dadurch ist eine echte Dickenmessung der Netzhaut und der einzelnen Netzhautschichten möglich.

Auch bei der AMD können pigmentierte Veränderungen, weiche Drusen, RPE-Abhebungen, subretinale- und intraretinale Flüssigkeit, CNV und retinale angiomatöse Proliferationen (RAP) mit der OCT detektiert werden [25]. Die OCT ist auch für den Nachweis eines zystoiden Makulaödems sekundär zu einer CNV geeignet [59]. Die Hauptindikation für eine OCT-Untersuchung bei AMD ist die Bestätigung und/oder Quantifizierung einer RPE-Abhebung oder eines Netzhautödems sowie die Verlaufskontrolle nach der Therapie [40].

### 2.1.3.5 Autofluoreszenz des Augenhintergrundes

Die Aufnahme und Auswertung der FAF und NIA bei AMD ergibt neue Informationsmöglichkeiten über die Struktur des RPE. Sie wird in dieser Dissertation in den folgenden Abschnitten im Detail beschrieben und analysiert.

## 2.2 Autofluoreszenz des Augenhintergrundes

### 2.2.1 Herkunft der Autofluoreszenz

Fluoreszenz ist die spontane Emission von Licht beim Übergang eines elektronisch angeregten Systems in einen Zustand niedrigerer Energie. Das Phänomen der Fluoreszenz tritt nur bei bestimmten Molekülen auf [41].

Das in der FAF zu beobachtende Autofluoreszenzphänomen des Augenhintergrundes wurde nach der Einführung der FAG als Phänomen vor der Fluoresceininjektion als „Pseudofluoreszenz“ zum ersten Mal beschrieben [50]. Ebenso wurden in der Frühphase der ICGA die in der NIA darstellbaren Fluoreszenzphänomene beobachtet [57]. Diese gezielt stimulierbare Lichtemission von natürlichen Fundus-Fluorophoren, wie Lipofuszin und Melanin im RPE, erlaubt ohne externe Farbstoffe eine funktionelle Bildgebung des Fundus [68]. Veränderungen der FAF und NIA können bereits früh im Krankheitsverlauf auftreten, teilweise bevor ophthalmoskopisch sichtbaren Veränderungen feststellbar sind [41]. Die Hauptindikation für FAF und NIA ist die Differentialdiagnose und Verlaufskontrolle bei Erkrankungen mit Beteiligung des Fotorezeptor-RPE-Komplexes.

Einige Phänomene haben jedoch die Interpretation der FAF bisher erschwert. Erstens ist die Intensität der FAF niedriger als die Hintergrundfluoreszenz einer normalen FAG. Zweitens können Medientrüben und anatomische Strukturen vor der Netzhaut das Detektieren der FAF hindern, wobei dies für jedes bildgebende Verfahren des Augenhintergrundes zutrifft. Vermutlich könnten außerdem zirkadiane Rhythmen, die Dunkeladaptierung oder bleichende Effekte wegen langer Belichtung mit dem Argonblau-Laser als anregendes Licht ebenso die genaue Bewertung der FAF erschweren [68].

Man muss auch berücksichtigen, dass das überwiegende erregte Lipofuszinfluorophor von der zur Anregung verwendeten Lichtwellenlänge abhängt [68,74].

## **2.2.2 Aufnahme der Autofluoreszenz**

### **2.2.2.1 Fundus-Spektrofotometer**

Der von Delori et al entwickelter Fundus-Spektrofotometer erlaubte die Messung der FAF-Emission von kleinen Netzhautarealen von etwa 2°. Mit dieser Technik erkannte man das Lipofuszin als Hauptfluoreszenzquelle des Fundus in vivo [68].

### **2.2.2.2 Funduskamera**

Wie schon im Abschnitt 2.1.3.2. erwähnt, kann man mit einer Funduskamera die FAF des Augenhintergrundes aufnehmen. Jedoch hat diese nicht konfokale Untersuchungstechnik eine schlechtere Bildqualität als die konfokale Scanning Laser Ophthalmoskopie, vor allem weil die Autofluoreszenz der Linse mit aufgenommen wird [74].

Vor einiger Zeit wurde eine modifizierte Funduskamera vorgestellt, bei der die Anregungs- und Emissionswellenlänge in Richtung des roten Endes des Spektrums durch einen Bandpassfilter von 535 nm bis 580 nm verschoben wurde [74], um die Qualität der Aufnahme zu verbessern.

### **2.2.2.3 Konfokale Scanning Laser Ophthalmoskopie (cSLO)**

Mit der Entwicklung der Scanning-Laser-Ophthalmoskopie [90,91] ist es erstmals möglich geworden, die Verteilung der RPE abhängigen FAF nicht-invasiv in vivo zu bestimmen.

Das cSLO wurde 1987 ursprünglich für die digitale Angiografie von Webb, Hughes und Delori entwickelt und von von Rückmann et al in einem FAF Imaging System verwendet [68,84].

Der Heidelberg Retina Angiograph (HRA, Heidelberg Engineering, Heidelberg, Germany) ist das meist verbreitete Gerät im klinischen Einsatz. Der Rodenstock cSLO (RcSLO, Rodenstock, Weco, Düsseldorf, Germany) und das Zeiss Prototype SM 30 4024 (ZcSLO, Zeiss, Oberkochen, Germany) verwenden einen anderen Sperrfilter als der HRA, und ergeben Bilder mit einem anderen Kontrast und anderer Helligkeit, sind aber kommerziell nicht mehr verfügbar [3].

#### **2.2.2.4 Funktionsprinzip HRA**

Ein Laserstrahl mit einer geeigneten Wellenlänge zur Anregung des fluoreszierenden Farbstoffes wird auf die Netzhaut gerichtet [27]. Dieses Laserlicht wird durch eine konfokale Optik auf den Augenhintergrund projiziert und das reflektierte Licht aus der betreffenden Fokalebene im Detektor registriert.

Die Anregung mit kurzwelligem 488 nm Argonblau-Laserlicht kann durch die Emission langwelligeren Lichtes mit einem Emissionsmaximum im Bereich von 620-630 nm das Fluorescein bei der FAG und ebenso das Lipofuszin bei der FAF darstellen, und im letzteren Fall ein Bild der Lipofuszindistribution ergeben [7,31]. Die Trennung zwischen Anregung und fluoreszentelem Licht wird mittels eines Sperrfilters mit einer Grenzwellenlänge von 500 nm erreicht. Mit der gleichen Wellenlänge, jedoch ohne Filter, werden die rotfreien Reflektionsbilder erzeugt.

Bei ICGA und bei der NIA, die eine Karte der Melaninverteilung darstellt, wird ein Diodenlaser mit einer Wellenlänge von 787 nm benutzt (ICG-Mode), wobei ein Sperrfilter mit einer Grenzwellenlänge von 810 nm für die Trennung von Anregung und emittiertem Licht sorgt [31,41]. Dabei wird ein rechteckiger zweidimensionaler Bereich des Augenhintergrundes durch den fokussierten Laserstrahl und mit Hilfe zwei oszillierender Spiegel abgetastet. Mittels einer lichtempfindlichen konfokalen Detektionseinheit wird die Intensität des emittierten Lichtes an jedem Illuminationspunkt der Fokalebene auf der Netzhaut gemessen. Das Streulicht aus anderen nicht-illuminieren Punkten wird dabei unterdrückt und die unerwünschten Autofluoreszenzeinflüsse von anatomischen Strukturen anterior der Netzhaut reduziert. Diese Unterdrückung nimmt mit der Entfernung zur Fokalebene zu, damit ein kontrastreiches Bild entsteht [27,68].

Die von der Kamera aufgenommenen Bilder werden direkt von einem Rechner bis zu 20 Bilder pro Sekunde digitalisiert, mittels eines Grafikprozessors bearbeitet und auf einem Computerbildschirm dargestellt. Zur Kompensation von Augenbewegungen können mehrere Bilder einer Serie automatisch gemittelt werden.

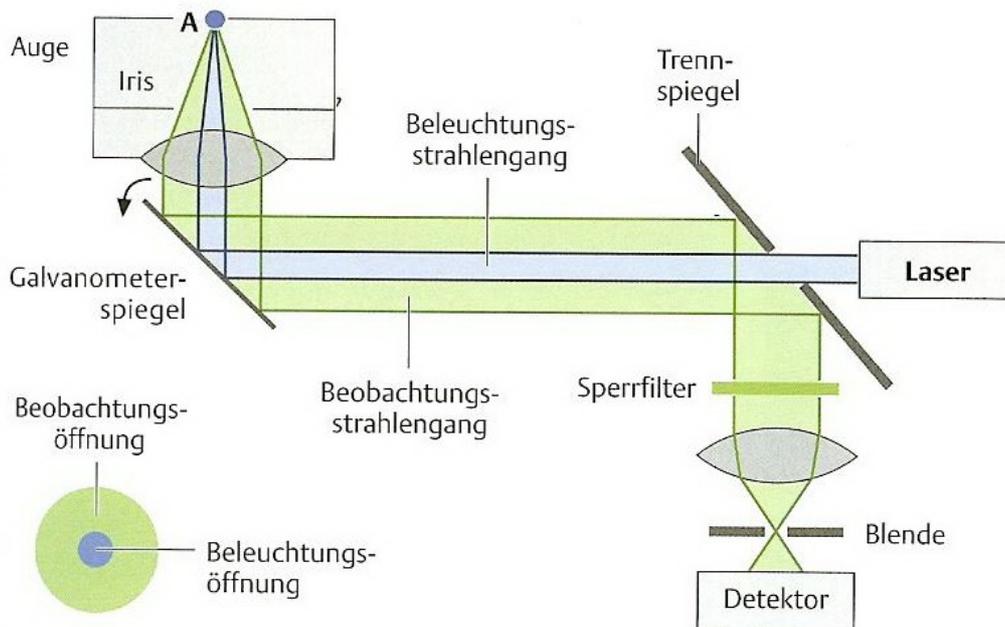


Abb. 2.6: Prinzip des Laserscanners. Modifiziert von [32]

Das cSLO System erlaubt eine viel niedrigere Lichtintensität und besseren Komfort für den Patienten als die Funduskamera. Die maximale retinale Strahlungsintensität über eine Fläche von  $10^\circ \times 10^\circ$  liegt mit ca.  $2,0 \text{ mW/cm}^2$  deutlich unter der zulässigen maximalen Grenze internationaler Standards. Der Laser kann eine Wellenlänge im sichtbaren Spektrum oder im Nah-Infrarot-Spektrum haben, und ergibt ein monochromatisches Bild. Dadurch werden auch chromatische Aberrationen vermieden [68].

Das Nah-Infrarotlicht wird vom Fundus mehr reflektiert als das sichtbare Licht, was eine noch niedrigere Illuminationsstärke erlaubt. Das Nah-Infrarotlicht dringt tiefer in den Fundus und ermöglicht gute Aufnahmen sowohl von der Aderhaut als auch von der Netzhaut. Die Nah-Infrarot-Wellenlängen scheinen eine bessere Transmission durch Linsentrübungen zu haben [51].

In jedem Aufnahme-Modus können Einzelaufnahmen sowie zeitliche Bildsequenzen oder fokale Bildserien aufgenommen werden. Die Bilder werden simultan mit einer Auflösung zwischen  $384 \times 384$  und  $1536 \times 1536$  Pixel digitalisiert. Die Größe des Bildausschnittes kann wahlweise auf  $30 \times 30$ ,  $20 \times 20$  oder  $15 \times 15$  Grad eingestellt werden.

### 2.2.2.5 Anwendungsgebiete

Wie schon erwähnt, ermöglicht der HRA-2 eine hohe Auflösung und hohen Kontrast der FAG und ICGA, sowie rotfreie Aufnahmen und Infrarotbilder und rotfreie Reflexionsbilder. Außerdem ist es mit dem cSLO erstmal möglich geworden, simultane Aufnahmen von FAG und ICGA durchzuführen [33].

Die Technik der Autofluoreszenz ermöglicht nicht-invasiv und wenig belastend die Untersuchung von RPE-Veränderungen bei vererbaren oder erworbenen Netzhauterkrankungen. Verglichen mit konventioneller Fundusfotografie, verbessert das Nah-Infrarot-SLO Imaging die Visualisierung des choroidalen Gefäßsystems, RPE-Anomalien und Laserkoagulationsnarben.

Das Gerät kann ebenso dynamische high-speed Filme bis zu 16 Bildern pro Sekunde in Echtzeit erstellen. Dies ist besonders hilfreich, um die Gefäßfüllung der ersten Phasen der FAG zu dokumentieren. Bei der ICGA kann man leichter okkulte CNV dokumentieren, sowie retinochoroidale Anastomosen (RCA) und retinale angiomatöse Proliferation (RAP) detektieren.

Die Vielseitigkeit der cSLO erlaubt durch den Wechsel der Imagingmodus wahlweise die unerwünschten Details des Fundus herauszufiltern.

### 2.2.2.6 Gerätekomponenten

Der HRA-2 besteht aus den folgenden Hauptkomponenten (*Abb. 2.7*):

- a) Die **Laserscanner-Kamera (1)** enthält den Großteil der Elektronik und das Abtastsystem. Das Laserlicht von der der Festkörperlaserquelle im Netzteil wird durch optische Faser an die Kamera übertragen. Die Nah-Infrarot-Diodenlaser befinden sich im Kamerakopf. Durch das Objektiv an der Vorderseite der Kamera wird die Intensität des emittierten fluoreszierenden Lichtes gemessen.
- b) Die Kamera wird auf einer speziellen **Kamerahalterung mit Kopfstütze (2)** befestigt. Diese Halterung erlaubt eine Drehung der Kamera um zwei orthogonale Achsen, wodurch die Messposition auf dem Fundus bestimmt wird.
- c) Die Steuerung und Auslösung der Bildaufnahme erfolgt über das **Touch-Panel (3)**.
- d) Das **Netzteil mit dem Lasermodul** enthält den Argon-Ionen-Laser sowie zwei Diodenlaser, die über zwei Glasfasern mit der Laserscanner-Kamera angekoppelt sind.

- e) Der HRA-2 wird durch einen PC-Kompatiblen **Rechner (4)** betrieben, der eine spezielle Hardware und die Betriebssoftware des HRA-2 enthält.
- f) Die Verarbeitung und Analyse der Bildaufnahmen sowie die Dokumentation der Untersuchungsergebnisse wird mit Hilfe der **Betriebssoftware** durchgeführt.



*Abb. 2.7: Gerätekomponenten HRA-2*

## **2.2.3 Fundusautofluoreszenz**

### **2.2.3.1 Physiologische FAF-Verteilung**

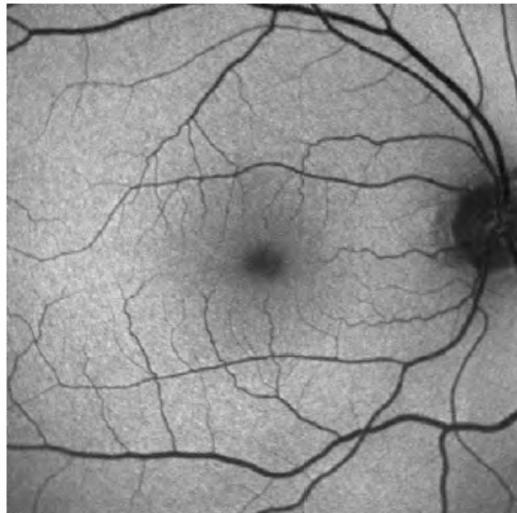
Die Rolle der Lipofuszin im RPE wurde im Abschnitt 2.1.2.1. behandelt.

Die Lipofuszinfluorophore zeigen eine charakteristische Autofluoreszenz durch Erregung mit ultraviolettem oder blauem Licht. Diese Eigenschaft erlaubt die Analyse der Verteilung von Lipofuszin und damit die Untersuchung der Integrität des RPE-Fotorezeptorenkomplexes durch die Bewertung der FAF. Wie bei konventionellen FAG, stellen niedrige Pixelwerte (dunkel) eine niedrige Intensität und hohe Pixelwerte (hell) eine hohe Intensität dar [68].

Die Verteilung der FAF von Probanden mit normalem Augenhintergrund zeigt eine niedrige Intensität im Bereich der Fovea, aufgrund der Absorption von Wellenlänge kürzer als 520 nm durch das gelbe Makulapigment -Lutein und Zeaxanthin- und die erhöhte subfoveale RPE-Melaninkonzentration [31,41].

Der Sehnervkopf scheint auch dunkel wegen des Fehlens von RPE und Lipofuszin. Die Netzhautgefäße stellen sich ebenso dunkel dar, da das Blut die Lichtstrahlung absorbiert. Jedoch zeigen die Gefäße oft eine begleitende enge Linie von erhöhter FAF, die von Refraktionsphänomenen an den Gefäßwänden verursacht werden können.

Die Intensität der FAF ist niedrig in der Fovea, und nimmt allmählich im parafovealen Bereich bis zu einem Maximum in einem ringförmigen Bereich um 7°-13° von der Fovea entfernt auf Grund des höheren Lipofuszingehalts der RPE-Zellen in diesem Gebiet zu. Das parafoveale Signal erreicht ein Maximum um 12° temporal und superior, und ist inferior und nasal niedriger. Im Bereich nasal der Fovea ist die FAF maximal bei 7°-8° Abstand von der Fovea [17]. Zur Peripherie hin erkennt man eine kontinuierliche Abnahme der FAF. In der Peripherie ist die FAF gleichmäßig verteilt. In Arealen mit einer Atrophie des RPE ist keine FAF nachweisbar.



*Abb. 2.8: Physiologische FAF Verteilung [37]*

Die Quantifizierung der FAF und interindividuelle Vergleiche werden durch verschiedene Einflussfaktoren erschwert, wie optische Medientrübungen, Pupillenweite und Laserleistung des Geräts [93]. Für die Beurteilung der FAF sind daher nicht der absolut gemessene Wert, sondern Änderungen des FAF-Verteilungsmuster gegenüber der normalen Verteilung entscheidend. Aus diesem Grunde wird das FAF-Bild in der Regel normalisiert, d.h. die Skala der Grauwerte wird für eine optimale Darstellung der Grauwerte den individuellen Werten des jeweiligen Bildes angepasst.

### **2.2.3.2 Erhöhte FAF**

Die Ursachen für ein erhöhtes FAF-Signal werden wie folgt klassifiziert [30,39,68]:

1. Übermäßige RPE-Lipofuszin-Ablagerung
  - Lipofuszin an RPE in der Grenzzone vor Ausdehnung der geographischen Atrophie bei AMD
  - Lipofuszinakkumulation bei hereditären Netzhautdystrophien: Morbus Stargardt, Morbus Best, Musterdystrophie und adulte vitelliforme Makuladystrophie
2. Fluorophoren anterior oder posterior der RPE-Zellen
  - intraretinale Flüssigkeit (Makulaödem)
  - Flüssigkeit unter einer RPE-Abhebung
  - alte intraretinale- oder subretinale Blutungen
  - Drusen im subpigment epithelialen Raum
  - Choroidale Gefäße bei RPE- und Choriocapillarisatrophie
  - Aderhautnävi und Aderhautmelanom mit Drusen oder „orange pigment“
  - migrierte RPE-Zellen, d.h. Makrophagen mit Lipofuszin oder Melanolipofuszin
3. Mangel an absorbierenden Material
  - Depletion des Luteins: z. B. idiopathische Makulateleangiektasia
  - Verlagerung von Lutein: z. B. zystoidem Makulaödem
4. Drusen in der Papille
5. Artefakte

### **2.2.3.3 Reduzierte FAF**

Die Ursachen eines reduzierten FAF-Signals sind folgende [30,39,68]:

1. Reduktion in Dichte der Lipofuszin von RPE
  - hereditäre Netzhautdystrophien: z.B. RPE65-Mutationen
  - RPE-Atrophie: z.B. geographische Atrophie
2. Erhöhtes Melanin im RPE
  - RPE-Hypertrophie
3. Von Zellen, Flüssigkeit oder extrazellulären Substanzen anterior des RPE durchgeführte Absorption
  - intraretinale Flüssigkeit
  - frische intraretinale oder subretinale Blutungen
  - kristalline Drusen oder kristallin-ähnliche Ablagerungen
  - migrierte Zellen, die Melanin enthalten
  - Fibrose
  - Narbengewebe
  - retinale Gefäße
  - Makulapigment (Lutein, Zeaxanthin)
  - Medientrübungen (Hornhaut, Vorderkammer, Linse, Glaskörper)

### **2.2.3.4 FAF bei AMD**

Bisher war die Untersuchung von AMD und altersabhängige Makulopathie auf die Analyse von Farbbildern des Fundus, Fluoresceinbilder des Fundus und OCT Ergebnisse begrenzt. Wie es in verschiedenen Publikationen der letzten Jahren festgestellt worden ist, ist die Beurteilung der Integrität des RPE entscheidend, um den Ablauf der Krankheit und den therapeutischen Erfolg zu verstehen [16,46,66,95].

Mehrere Autoren haben bislang die FAF bei AMD untersucht [3,19,74,94]. Sie sind zum Schluss gekommen, dass die Drusen auf Farbbilder nicht unbedingt mit sichtbaren FAF-Veränderungen korreliert sind und vice versa. Allgemein zeigten große Drusen häufiger FAF-Veränderungen als kleinere Drusen. Laut dieser Studien zeigen hypopigmentierte Bereiche auf Farbbildern in der

Regel ein vermindertes FAF-Signal, dass der Abwesenheit von RPE-Zellen oder dem Vorhandensein von RPE-Zellen mit weniger Lipofuszininhalt entspricht.

Bindewald et al haben ein Klassifikationssystem von verschiedenen FAF-Mustern bei früher AMD beschrieben [6,8]. Nach dieser Klassifikation besteht eine schlechte Korrelation zwischen Veränderungen in Fundusfarbbildern und FAF. Es scheint, dass FAF-Veränderungen sichtbaren Läsionen vorangehen.

Bei geographischer Atrophie (GA) ist eine reduzierte FAF in den Bereichen mit bereits eingetretenem RPE- und Fotorezeptorenverlust festzustellen. Am Rande der GA zeigt sich eine erhöhte FAF im Randsaum die Bereiche an, in denen die Atrophie mit der Zeit fortschreitet [28]. Bei der Fundusautofluoreszenz in Age-Related Macular Degeneration Study stellte sich heraus, dass bestimmte FAF-Muster (bandförmige und diffuse FAF-Muster) eine schnelle Atrophievergrößerung entwickelten und damit prognostisch bedeutsam sind [29].

Über FAF bei neovaskulärer AMD gibt es bisher deutlich weniger Studien [52,82,85]. Blutungen und intraretinale Exsudate bedingen meistens eine reduzierte FAF, obwohl reorganisierendes Blut sich als verstärkt fluoreszent darstellt. Die meisten RPE-Abhebungen zeigen eine hohe und homogene Erhöhung des FAF-Signals umgeben von einem gut definierten und weniger autofluoreszenten Halo [68].

Einige Autoren haben die FAF bei Patienten mit verschiedenen Stadien einer CNV untersucht. Bei AMD-Patienten mit CNV in einem frühen Stadium kann man einen normalen FAF-Befund zusammen mit einer deutlichen Hyperfluoreszenz bei der FAG feststellen, was auf ein zumindest am Anfang noch relativ intaktes und damit lebensfähiges RPE hinweist [15,82]. Jedoch sind bei fortgeschrittener CNV Areale verminderter FAF als Konsequenz von Fotorezeptorenverlust und RPE-Atrophie häufig. Die Grenzen der abnormalen FAF-Läsionen sind typischerweise breiter als die korrespondierenden fluorescein-angiografischen Grenzen [68]. Es scheint wichtig, die Integrität der RPE zu evaluieren, da das RPE das Verhalten der CNV beeinflussen kann und die Visusprognose von der physiologischen Funktion der RPE abhängt [15].

Vujosevic et al [85] haben ein Abstufungsmodell entwickelt, um einen Vergleich zwischen angiografischen Bildern, Farbbildern und FAF-Bildern zu ermöglichen. Wie von diesen Autoren gezeigt, kann die Anwendung der FAF bei der Visusprognose bei AMD nützlich sein.

Bisher gab es widersprechende Ergebnisse in der FAF-Beurteilung von klassischer und okkulten CNV [52,78]. Das FAF-Muster „Großfleckig“ [6] scheint ein Hoch-Risiko Marker für die Progression zu fortgeschrittener AMD. Die Rolle von erhöhten FAF-Arealen im Verhältnis zur CNV Entwicklung ist noch nicht geklärt, und weitere Studien sind zur Klärung erforderlich [68,95].

#### **2.2.4 Nah-Infrarot-Autofluoreszenz**

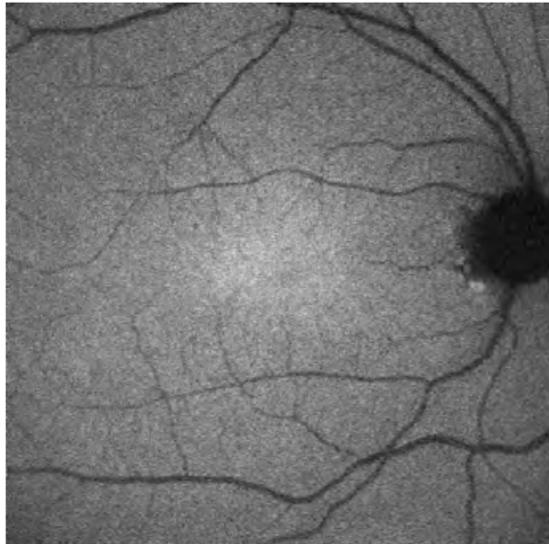
Zusätzlich zu der kurzwelligen Anregung (FAF), kann man Autofluoreszenzbilder durch Anregung mit nah-infrarotem Licht mit einer Wellenlänge von 787 nm erhalten. Diese werden daher als Nah-Infrarot-Autofluoreszenz bezeichnet (NIA). Mit dem ICG Modus des cSLO wird ein schwaches Signal ausgelöst, etwa 60-100 Mal schwächer als das durch kurze Wellenlänge erzeugte Signal. Die NIA ergibt andere und damit ergänzende Informationen zur FAF [17].

Das Melanin in den RPE-Zellen und der Aderhaut sowie andere ähnliche komplexe Verbindungen wie oxidiertes Melanin oder Melanolipofuszin sind die an der NIA beteiligten Fluorophore [17,36,68,92]. Basierend auf der zur Melaninverteilung im RPE korrespondierenden NIA-Verteilung, auf den Beitrag von RPE und Aderhaut zur NIA und auf die ausgesprochen erhöhte NIA bei choroidalen Nevi, ist es sehr wahrscheinlich, dass der größte Beitrag der NIA aus okularem Melanin stammt [36,93]. In einer Studie mit Aufnahmen an Menschen und verschiedenen Tiermodellen haben Gibbs et al gezeigt, dass die NIA sehr genau mit den Melanosomen in den RPE-Zellen korreliert [22]. Als Vorteil von NIA gegenüber FAF wiesen Ham et al darauf hin, dass die Schwelle für einen retinalen Schaden bei der Fundusuntersuchung exponentiell mit abnehmenden Wellenlängen fällt [24].

Weitere Fluorophore sind in Netzhaut und RPE vorhanden. Das metabolische Mapping dieser Fluorophore könnte ein diagnostisches Instrument für die Bestimmung der Faktoren in degenerativen Erkrankungen werden [68].

#### **2.2.4.1 Physiologische NIA-Verteilung**

Das Melanin vom RPE und Chorioidea zeigt Autofluoreszenz nach Erregung mit einem Diodenlaser der Wellenlänge 787 nm. Die Rolle des Melanins im RPE wurde im Abschnitt 2.1.2.1 behandelt. Die NIA bei gesunden Probanden stellt ein ungefähr in der Fovea zentriertes Areal höchster Intensität dar. Dies entspricht einem zentralen Bereich höherer Melaninkonzentration in den RPE-Zellen. Eine deutliche Abnahme der NIA-Intensität in Richtung perifovealem Gebiet ist zu finden. Das Verhältnis der NIA-Intensität in der perifovealen Region zu der in der Fovea verschiebt sich mit zunehmendem Alter zugunsten der schwächeren NIA. Die Papille und retinale Gefäße stellen sich als dunkle Schatten bei der NIA dar, genauso wie bei der FAF [36,41].



*Abb. 2.9: Physiologische NIA-Verteilung [37]*

#### **2.2.4.2 Erhöhte NIA**

Folgende Ursachen sind für ein erhöhtes NIA-Signal verantwortlich [17,41]:

1. RPE Pigment
  - RPE-Hyperpigmentierung
2. Choroidales Pigment
  - Nävi
3. Hyperpigmentierung im subretinalen und sub-RPE Raum

- Melanin
  - Melanolsosomen
  - Melanolipofuszin
4. Verlagerung von Melanosomen nach anterior in der RPE-Zelle
- M. Stargardt

### **2.2.4.3 Reduzierte NIA**

Die Ursachen für ein reduziertes NIA-Signal werden wie folgt klassifiziert [41]:

1. Fehlen des RPE
  - geographische Atrophie
2. Blockade durch davor liegende Strukturen
  - Blut, Gefäße, Glaskörpertrübungen
3. Verlagerung von Melanosomen in der RPE-Zelle nach posterior
  - anteriore Lipofuszinakkumulation bei M. Stargardt
4. Veränderte, „verdünnende“ Verteilung der Melanosomen in der RPE Zelle
  - massive Lipofuszinakkumulation bei M. Stargardt

### **2.2.4.4 NIA bei AMD**

Bisher ist wenig über die NIA bei AMD bekannt. Bei trockener AMD ist von einigen Autoren eine reduzierte NIA in Regionen mit GA beschrieben worden, die einem kompletten RPE-Verlust entspricht [36]. Die hohe NIA am Rand der GA korrelierte mit Hyperpigmentierung auf den Farbbildern. Bei degradiertem Blut bei exsudativer AMD ist eine erhöhte NIA zu sehen [92]. In einer neuen Studie [45] zeigten die meisten Patienten mit exsudativer AMD eine verminderte NIA und nach dem Vergleich zwischen FAF und NIA wurde vorgeschlagen, dass die NIA die Exsudationsareale schlechter detektieren kann.

## **3 Material und Methoden**

### **3.1 Auswahl der Patienten**

Eine konsekutive Serie von Patienten mit exsudativer AMD wurde zwischen Oktober 2007 und Dezember 2008 im AugenZentrum Siegburg prospektiv in der Studie aufgenommen. Eingeschlossen wurden Patienten beider Geschlechter älter als 50 Jahre mit einer durch FAG bestätigten subfovealen oder juxtafovealen CNV oder AMD-bedingten RPE-Abhebung in wenigstens einem Auge. Alle bildgebenden Untersuchungen (Farbfoto, FAF, NIA, FAG) wurden am gleichen Tag durchgeführt.

Ausgeschlossen wurden Patienten mit durch FAG diagnostizierter trockener AMD, Patienten mit extrafovealen CNV und Patienten mit anderen koexistenten retinalen Erkrankungen, z.B. diabetischer Retinopathie.

Die Ethikkommission der Ärztekammer Nordrhein hat der Durchführung der Studie zugestimmt.

Bei allen Patienten wurde zunächst ein bilateraler Visustest durchgeführt. Die Aufnahme von FAF- und NIA, FAG und Farbfundusfotografien wurden an beiden Augen von einem qualifizierten und erfahrenen Untersucher nach der Erweiterung der Pupillen auf mindestens 5 mm Durchmesser mit Phenylephrin 2,5% und Tropicamid 1% durchgeführt.

### **3.2 Bildaufnahmen**

Es wurde das konfokale Scanning-Laser-Ophthalmoskop HRA-2 (Heidelberg Engineering, Heidelberg, Germany) verwendet, mit gerätespezifischen Kameraobjektiven für 30° und Weitwinkel. Die Bildauflösung betrug 768x768 Pixel und die maximale Beleuchtung eines Fundusareals von 10°x10° lag bei 2 mW/cm<sup>2</sup>.

Mit Hilfe des ametropischen Korrektors wurde die Brennebene der Refraktion des untersuchten Auges angepasst.

Das Fokussieren wurde im Rotfrei-/IR- (Reflektions-) Modus mit dem Scanwinkel 30° erreicht, um die Blendung des Patienten zu reduzieren. Die FAF- und NIA-Aufnahmen wurden im FAG- bzw. ICGA-Modus vor Durchführung der FAG aufgenommen.

Die Aufzeichnung der FAF erfolgte mit Anregung durch Argon-Laser-Licht mit einer Wellenlänge von 488 nm nach Verfeinerung der Fokussierung. Die Emissionen wurden mittels Breitbandfilter nur oberhalb der Wellenlänge von 500 nm aufgenommen. Sechs Bilder pro Sekunde wurden aufgenommen und ca. 10 Scans pro Auge wurden je nach Fixation des Patienten gemittelt.

Nachfolgend wurde die NIA mit dem gleichen Kameraobjektiv und derselben Aufnahmegeschwindigkeit wie für die FAF-Aufnahme durchgeführt. Dioden-Laser-Licht einer Wellenlänge von 787 nm wurde benutzt, um die NIA anzuregen. Ein Sperrfilter mit einem Transmissionsbereich von über 800 nm entsprechend der Autofluoreszenzwellenlänge von Melanin (über 820 nm) wurde eingesetzt. Sechs Bilder pro Sekunde wurden aufgenommen und ungefähr 15 Scans wurden je nach Fixation des Patienten gemittelt.

Nach der 5ml intravenöser Angabe einer 10%igen Natriumfluoresceinlösung wurde die FAG durchgeführt. Die Spätaufnahmen der FAG wurden bis zu 10 Minuten nach der Injektion aufgenommen.

Die Fundusbilder von beiden Augen wurden schließlich mit der TOPCON TRC 50I-X Retinal Camera (Topcon Corporation, Tokyo Japan) aufgenommen.

### **3.3 Datensammlung und Datenklassifikation**

Sowohl die Bildaufnahme als auch die Verarbeitung der Daten wurden in digitaler Form vorgenommen. Die Analyse erfolgte mit Hilfe der HRA-2 Software. Die zur Analyse ausgewählten NIA- und FAF-Bildern wurden von der Software gemittelt und aligniert.

Für jeden Patienten wurde ein separates Verzeichnis der verschiedenen Bilder erstellt, um einen Vergleich zu erleichtern. Weiterhin wurde ein getrenntes Verzeichnis der NIA-Aufnahmen angelegt, um die Gruppenzuordnung vorzunehmen.

Als frühe FAG (fFAG) wurde eine Aufnahme von innerhalb der ersten Minute und als späte FAG (sFAG) eine Aufnahme 9 bis zu 10 Minuten nach der Injektion gewählt.

Die aufgenommenen Bilder wurden am Bildschirm der HRA-2 Einheit mit standardisierten Kontrast und Helligkeit nach den Analysenkriterien ausgewertet.

### **3.4 Bewertungsschema und Bildanalyse**

Anhand eines Microsoft Excel-Arbeitsblattes wurde eine Datenbasis erstellt. Folgende Daten wurden registriert:

#### **3.4.1 Allgemeine Daten**

1. Patientenummer
2. Geschlecht
3. Geburtsdatum
4. Untersuchungsdatum
5. Alter am Untersuchungstag
6. Untersuchtes Auge
7. Bester korrigierter Visus gemessen mit einer Snellen Tafel und im metrischen System angegeben.
8. Vorbehandelt wegen AMD oder nicht vorbehandelt
9. Bester postoperativer korrigierter Visus bis Ende Januar 2009 bei den mit Anti-VEGF Medikamenten ab dem ersten Untersuchungsdatum behandelten Patienten.

### 3.4.2 Farbbilder

Die Bewertung der Farbbilder wurde nach dem Kriterium „überwiegender Phänotyp“ von Vujosevic et al [85], basierend auf der Klassifikation der International ARM Epidemiological Study Group [80], durchgeführt. Die Bilder wurden in folgenden Kategorien klassifiziert:

0. Normal
1. Harte Drusen
2. Weiche Drusen
3. Geographische Atrophie
4. RPE-Abhebung
5. CNV
6. Andere Veränderungen

### 3.4.3 Fundusautofluoreszenz

1. Läsionfläche: die Ränder der NIA-Läsionen wurden manuell mit der Computermaus auf dem Bildschirm markiert, und die Fläche wurde automatisch von der HRA-2 Software gemessen und in mm<sup>2</sup> ausgedrückt.
2. Muster: Die FAF Befunde wurden auf der definierten Klassifikation von Bindewald et al basiert [6]. Da bei unseren Patienten eine exsudative AMD bestand, wurde die Klassifikation wie folgt erweitert:
  - I. *Verzweigt* („*branching*“): mehrere verzweigte-geradlinige Strukturen erhöhter FAF.
  - II. *Geographisch* („*geographic*“): FAF-Läsionen umschrieben von einem stärker definierten hyperfluoreszenten Rand ähnlich zu einer Landkarte.
  - III. *Ring*: zentral reduzierte FAF umgeben von einem Ring erhöhter und einem weiteren Ring reduzierter FAF.
  - IV. *Blockade*: großes Areal (Durchmesser >200 µm) reduzierter FAF mit gut definierten Grenzen.

- V. *Gefleckt* („*speckled*“): große getüpfelte Areale erhöhter und reduzierter FAF. Patienten mit diesem Muster und mit einem Areal von FAF-Blockade wurden in der Untergruppe „*Gefleckt+Blockade*“ geteilt.
- VI. *Bandförmig* („*banded*“): kontinuierliches Band oder einzelner breiter Ring erhöhter FAF. Patienten mit diesem Muster und mit einem Areal von FAF-Blockade wurden in der Untergruppe „*Bandförmig+Blockade*“ geteilt. Die Patienten mit einem konzentrischen Doppelband wurden als „*Bandförmig konzentrisch*“ bezeichnet. Patienten mit einem gefransten Halo wurden als „*Bandförmig Halo*“ klassifiziert.
- VII. *Gefleckt+Bandförmig*: Mischung aus den Mustern „*Gefleckt*“ und „*Bandförmig*“.
- VIII. *Großfleckig* („*patchy*“): mindestens ein großes Areal (Durchmesser >200 µm) erhöhter FAF. Die Grenzen der Läsionen sind schlechter definiert als bei dem Muster „Fokal erhöht“.
- IX. *Fokal erhöht* („*focal increased*“): mindestens ein gut begrenzter Fleck (Durchmesser <200 µm) erhöhter FAF, viel heller als die Hintergrundfluoreszenz.
- X. *Retikulär* („*reticular*“): multiple kleine Areale (Durchmesser <200 µm) reduzierter FAF. Die Grenzen sind schwer definierbar.
- XI. *Linear* : mindestens ein geradliniges Areal erhöhter FAF.

### 3.4.4 Nah-Infrarot-Autofluoreszenz

- a. NIA-Bildqualität
  - 0. Kein Bild vorhanden
  - 1. Sehr gut
  - 2. Gut
  - 3. Akzeptabel
  - 4. Schlecht, aber noch teilweise auswertbar
  - 5. Sehr schlecht, nicht auswertbar
- b. Abnormale NIA-Areale
  - 0. Abwesend / Vorhanden
  - 1. Reduzierte /Erhöhte NIA
  - 2. Unifokal / Multifokal / Diffus
  - 3. Homogen / heterogen

4. Grenze gut / schlecht definiert. Im Fall eines gemischten Befundes wurde das gut oder schlecht definierte Teil der Läsion größer als 50% der gesamten Fläche gewählt.
5. Läsionsfläche: die Ränder der NIA-Läsionen wurden manuell mit der Computermaus auf dem Bildschirm markiert, und die Fläche wurde automatisch von der HRA-2 Software gemessen und in mm<sup>2</sup> ausgedrückt.
6. Lokalisation: das EDTRS Gitter wurde auf die Fovea nach Vergleich mit dem Farbbild platziert. Das Gitter besteht aus drei konzentrischen Kreisen von 1200 µm, 3600 µm und 7200 µm, die in 12 Quadranten geteilt wurden. Für jeden von der Läsion betroffenen Quadrant wurde ein Punkt berechnet.
7. Muster: Basierend auf der FAF Klassifikation von Vujosevic et al [85], auf der Klassifikation von Bindewald et al [6] und nach der Bewertung der NIA-Befunde wurden die folgenden Gruppen und Untergruppen definiert:
  - I. *Verzweigt („branching“)*: multiple Areale erhöhter NIA in einem Schleifen-ähnlichen Muster, mit schlecht definierten Rändern.
  - II. *Geographisch („geographic“)*: NIA-Läsionen umschrieben von einem stärker definierten hyperfluoreszenten Rand ähnlich einer Landkarte.
  - III. *Ring*: zentral reduzierte NIA umgeben von einem Ring erhöhter und einem weiteren Ring reduzierter NIA. Diese Patienten wurden in die Untergruppe „*Ring W-S-W*“ (W=weiß, S=schwarz) unterteilt. Patienten mit gegensätzlicher NIA-Intensitätsverteilung wurden als „*Ring S-W-S*“ definiert.
  - IV. *Gefleckt („speckled“)*: große getüpfelte Areale multiple erhöhter und reduzierter NIA. Patienten mit diesem Muster und mit einem Areal deutlich reduzierter NIA in der Mitte der Läsion wurden in die Untergruppe „*Gefleckt Mitte schwarz*“ eingeteilt.
  - V. *Bandförmig („banded“)*: kontinuierlicher Halo oder einzelner breiter Ring erhöhter NIA. Patienten mit diesem Muster mit einem Areal deutlich reduzierter NIA in der Mitte der Läsion wurden in der Untergruppe „*Bandförmig Mitte schwarz*“ geteilt. Die Patienten mit einem konzentrischen Doppelband wurden als „*Bandförmig konzentrisch*“ bezeichnet.
  - VI. *Gefleckt+Bandförmig*: Mischung aus den Mustern „*Gefleckt*“ und „*Bandförmig*“.

### **3.4.5 Fluorescein-Angiografie**

1. Läsionfläche: die Ränder der fFAG- und sFAG-Läsionen wurden mit der HRA-2 Software berechnet. Frühläsionen zeigten sich in Aufnahmen innerhalb der ersten Minute; Spätläsionen in Aufnahmen zwischen Minute 9 und 10 nach der Injektion der Natriumfluoresceinlösung.

### **3.4.6 Korrespondenz zwischen Nah-Infrarot- und Fundusautofluoreszenz**

1. NIA-Intensität verglichen mit der FAF-Intensität
  - I. Gleiche Intensität
  - II. Niedrigere Intensität bei der NIA-Aufnahme
  - III. Höhere Intensität bei der NIA-Aufnahme
  - IV. Reduziert fluoreszente Areale weniger dunkel und verstärkt fluoreszente Areale heller bei der NIA-Aufnahme
  - V. Reduziert fluoreszente Areale weniger dunkel und verstärkt fluoreszente Areale weniger hell bei der NIA-Aufnahme
  - VI. Reduziert fluoreszente Areale dunkler und verstärkt fluoreszente Areale heller bei der NIA-Aufnahme
  - VII. Reduziert fluoreszente Areale dunkler und verstärkt fluoreszente Areale weniger hell bei der NIA-Aufnahme
2. Gleiche (I) oder gegensätzliche (II) Richtung der Fluoreszenz (gleiche Richtung bedeutet, beide Aufnahmen zeigen eine verstärkte oder beide eine reduzierte Autofluoreszenz der Läsionen)
3. NIA-Fläche verglichen mit der FAF-Fläche
  - I. Gleiche Größe
  - II. NIA-Fläche kleiner als die FAF-Fläche
  - III. NIA-Fläche größer als die FAF-Fläche
4. NIA-Auflösung verglichen mit der FAF-Auflösung
  - I. Gleiche Schärfe
  - II. Bessere Auflösung bei der NIA-Aufnahme
  - III. Schlechtere Auflösung bei der NIA-Aufnahme

### **3.5 Statistische Methoden**

Das Statistikprogramm SPSS 16.0 für Windows wurde für die Bewertung der Daten verwendet.

Nach der Eingabe der Daten in die Datenmatrix vom SPSS-Programm wurde die Analyse durchgeführt. Zunächst wurde eine deskriptive statistische Analyse der numerischen und alphanumerischen Variablen durchgeführt.

Durch den Kolmogorov-Smirnov-Test wurde die Normalverteilung der verschiedenen Variablen geprüft, um die geeigneten parametrischen oder nicht parametrischen Tests zu verwenden.

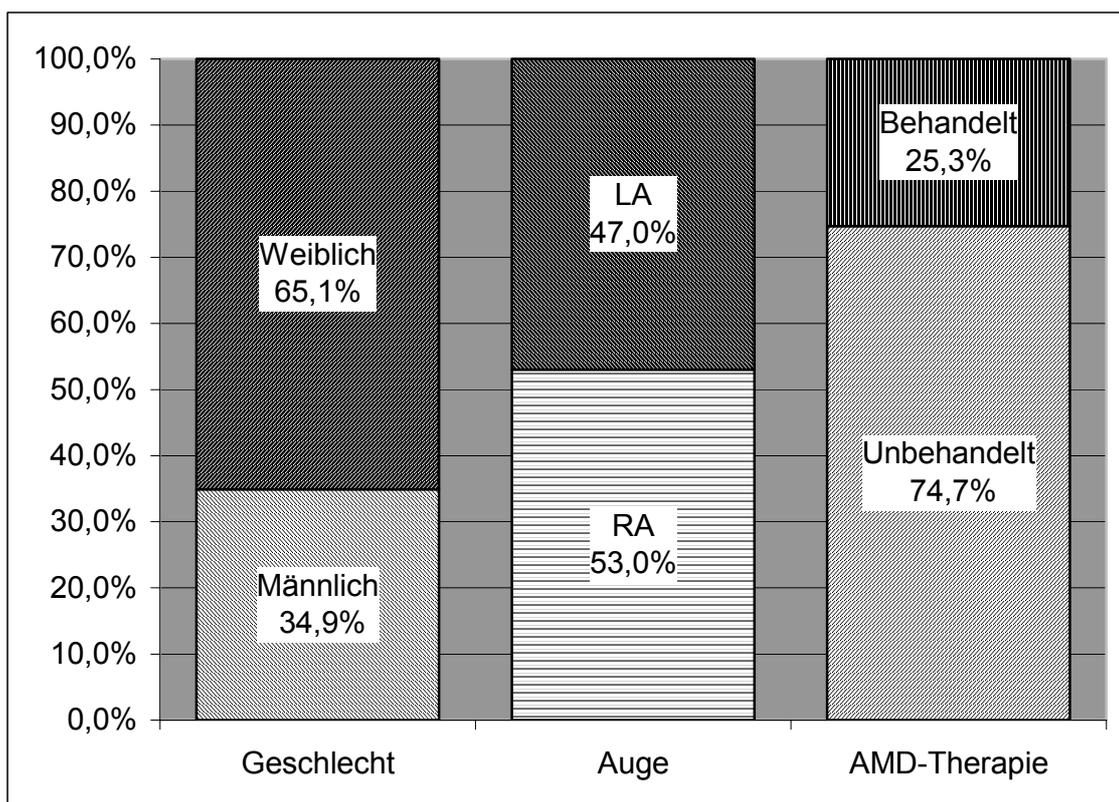
Zur Überprüfung signifikanter Unterschiede der verschiedenen Variablen wurde ein zweiseitiger Student-t-Test mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 5% ( $p < 0.05$ ) verwendet.

Die Korrelation zwischen den NIA-, FAF- und FAG-Läsionsflächen wurde untersucht und mittels des Pearson-Koeffizientes wiedergegeben.

## 4 Ergebnisse

### 4.1 Demographische und deskriptive Ergebnisse

Insgesamt wurden 83 Augen von 74 kaukasischen Patienten untersucht. Der jüngste Patient war 50 Jahre, der älteste 94 Jahre alt. 29 Augen waren von männlichen Patienten und 54 von weiblichen Patienten. Von den untersuchten Augen wurden 62 bisher noch nicht wegen AMD behandelt und bei 21 Augen war bereits eine Behandlung der exsudativen AMD erfolgt. Die demographische Verteilung ist in der folgenden Graphik zusammengefasst.



*Abb. 4.1: Demographische Verteilung  
LA=linkes Auge; RA=rechtes Auge*

68,7% der Augen (N=57) bekamen nach der Untersuchung in dieser Arbeit zum ersten Mal eine Therapie mit intravitrealen Anti-VEGF Medikamenten. Diese Gruppe wurde für den weiteren Vergleich der Entwicklung der Sehschärfe betrachtet. Die anderen Augen (N=26) wurden entweder bereits mit Anti-VEGF Medikamenten behandelt, oder die Patienten lehnten die Therapie ab, und wurden daher bei der Analyse des Sehschärfeanstiegs nicht berücksichtigt.

Die deskriptive Analyse verschiedener Variablen vom gesamten Patientengut ergab folgende Ergebnisse:

*Tab. 1: Deskriptive Werte der untersuchten Parameter*

	<b>N</b>	<b>Minimum- wert</b>	<b>Maximum- wert</b>	<b>Mittel- wert</b>	<b>Standard- abweichung</b>
<b>Alter</b>	83	50	94	76,06	8,72
<b>Visus</b>	83	0,01	0,8	0,26	0,18
<b>NIA-Q</b>	78	1	5	2,77	1,65
<b>NIA</b>	78	0,55	37,33	16,17	8,25
<b>EDTRS Gitter</b>	73	4	12	10,71	2
<b>FAF</b>	83	0,38	49,81	17,32	10,6
<b>fFAG</b>	83	0,24	50,95	13,83	10,6
<b>sFAG</b>	83	1,04	50,98	15,57	10,84

*NIA-Q=NIA Bildqualität; NIA=Fläche der NIA-Läsionen; FAF=Fläche der FAF-Läsionen;  
fFAG=Fläche der frühen FAG-Läsionen; sFAG=Fläche der späten FAG-Läsionen  
(die Flächen der Läsionen wurden in mm<sup>2</sup> gemessen);*

*EDTRS Gitter=Anzahl von EDTRS Gitter Quadranten betroffen von den NIA-Veränderungen.*

## 4.2 Auswertung der digitalen Farbfundusfotografie

Nach dem Kriterium „überwiegender Phänotyp“ nach Vujosevic [85] wurden die Farbbilder in folgenden Gruppen unterteilt (Abb. 4.2). Die größte Gruppe besteht aus Patienten mit einer sichtbaren CNV auf dem Farbbild, die sich danach in der FAG-Aufnahme meistens als CNV mit klassischem Anteil bestätigt hat.

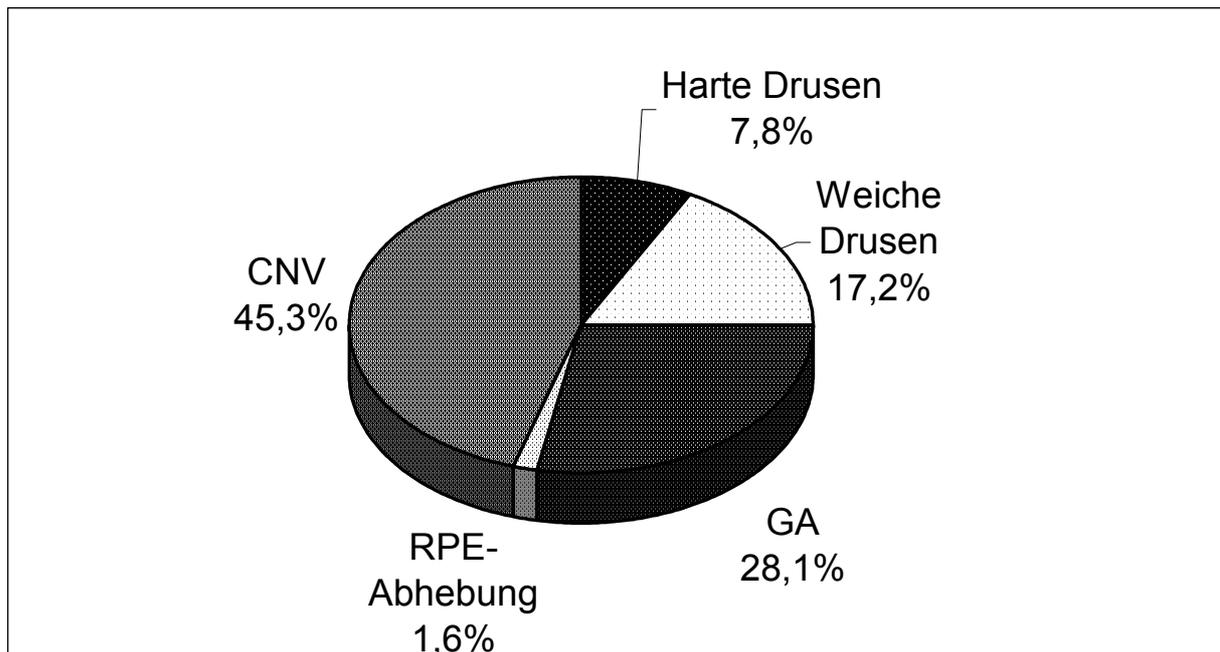


Abb. 4.2: Farbbilder Gruppen Unterteilung

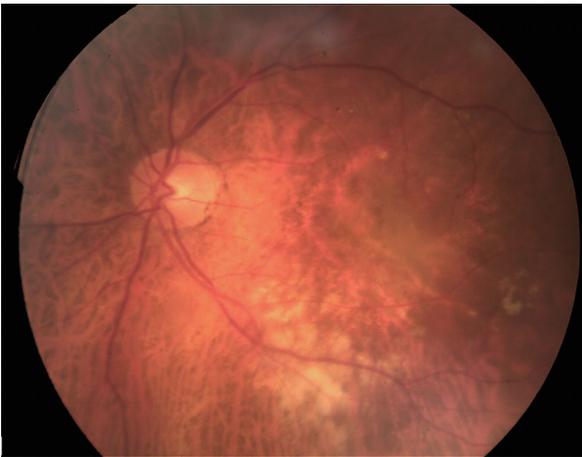
Folgende Abbildung (Abb. 4.3) zeigt jeweils ein repräsentatives Fundusbild einer jeden der oben genannten Gruppen.



*Harte Drusen*



*Weiche Drusen*



*Geographische Atrophie*



*RPE-Abhebung*



*CNV*

*Abb. 4.3: Beispiele von den unterschiedlichen Mustern in der Farbfundusfotografie*

### 4.3 Fundusautofluoreszenz

Bei den untersuchten FAF-Läsionen betrug die minimale FAF-Fläche 0,38 mm<sup>2</sup>, die maximale FAF-Fläche 49,81 mm<sup>2</sup>, und der Mittelwert 17,32 mm<sup>2</sup> (Tab. 1). Nach der Untersuchung der FAF-Aufnahmen wurden die Patienten in folgenden Muster und Subgruppen nach dem im Kapitel 3.4 beschriebenen Kriterien unterteilt:

Tab. 2: Unterteilung der FAF-Gruppen und Subgruppen

FAF Gruppe	N	Prozent (%)	Subgruppe	N
Verzweigt	8	9,6		
Geographisch	8	9,6		
Ring	3	3,6		
Blockade	1	1,2		
Gefleckt	16	19,3	Gefleckt	12
			Gefleckt+Blockade	4
Bandförmig	22	26,5	Bandförmig	10
			Bandförmig+Blockade	5
			Bandförmig konzentrisch	4
			Bandförmig Halo	3
Gefleckt+Bandförmig	15	18,1		
Großfleckig	1	1,2		
Fokal erhöht	3	3,6		
Retikulär	5	6,0		
Linear	1	1,2		

In den folgenden Abbildungen (Abb. 4.4-Abb. 4.10) sind einige Beispiele zu jeder FAF-Gruppe und Subgruppe angegeben.

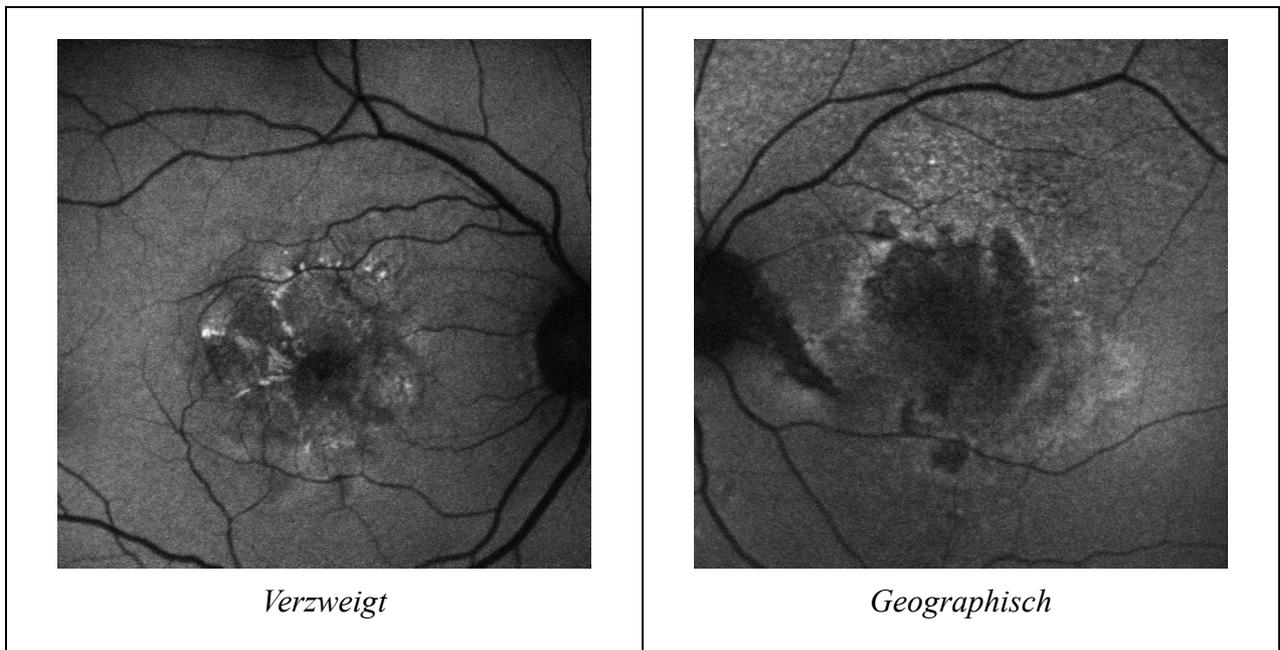


Abb. 4.4: Beispiele der FAF-Gruppen „Verzweigt“ und „Geographisch“

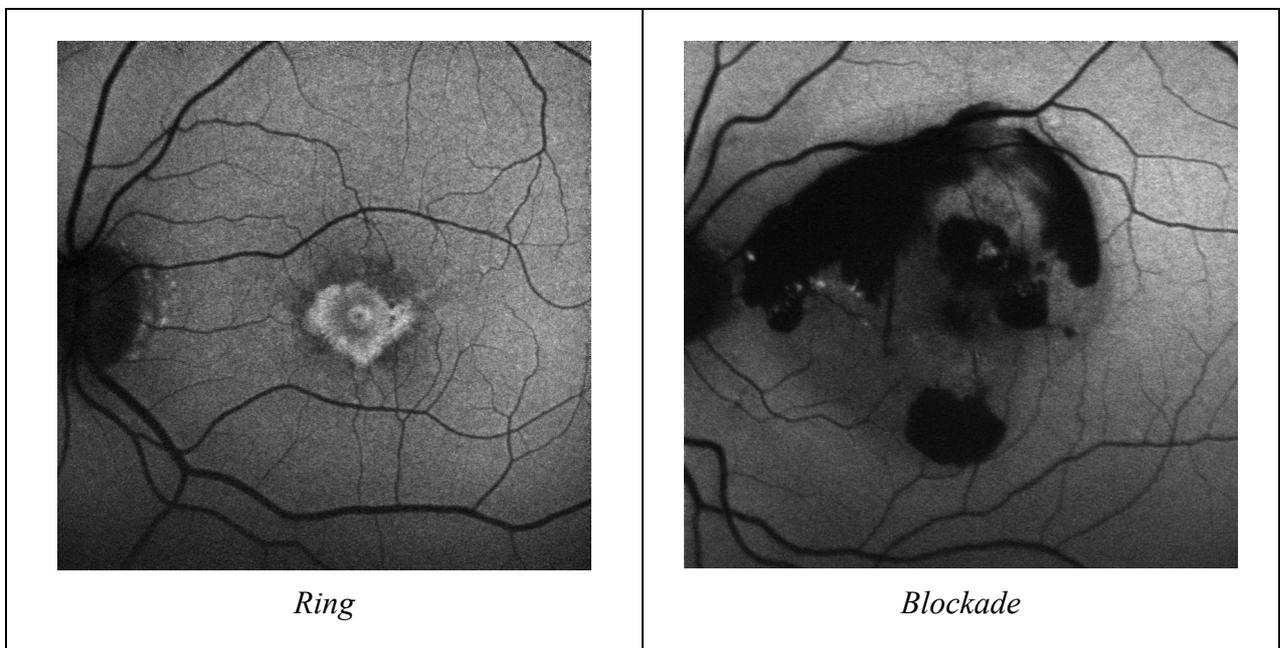
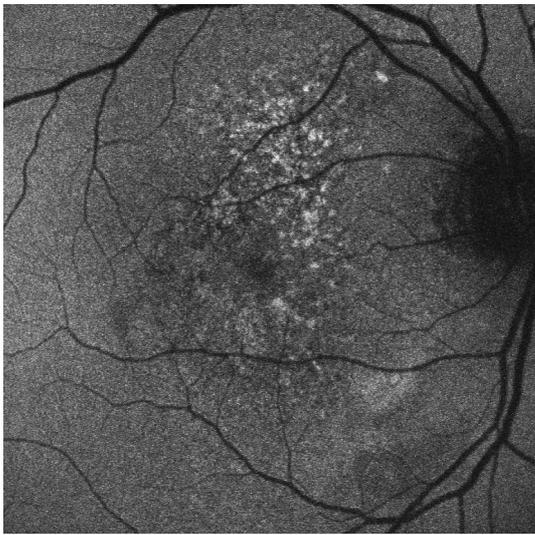
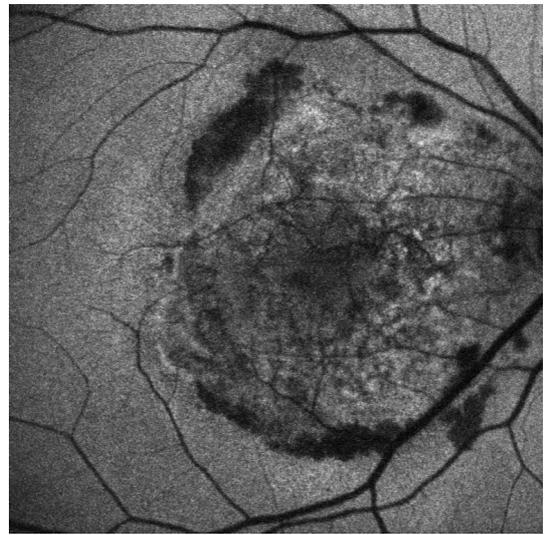


Abb. 4.5: Beispiele der FAF-Gruppen „Ring“ und „Blockade“



*Gefleckt*

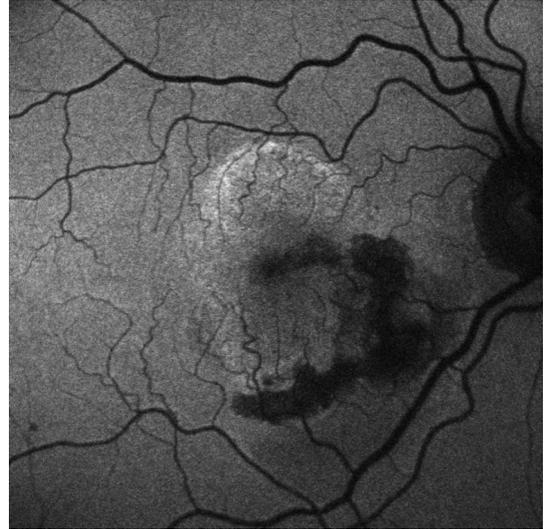


*Gefleckt+Blockade*

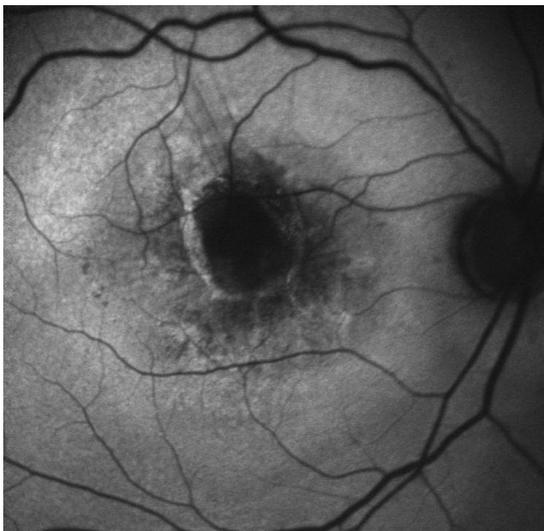
*Abb. 4.6: Beispiele der FAF-Gruppe „Gefleckt“ und FAF-Subgruppe „Gefleckt+Blockade“*



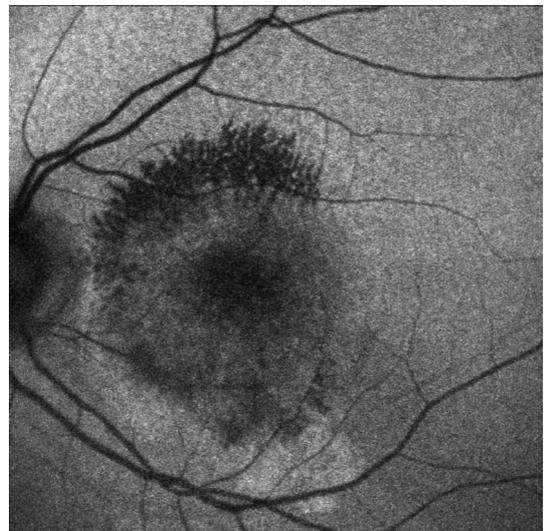
*Bandförmig*



*Bandförmig+Blockade*



*Bandförmig konzentrisch*

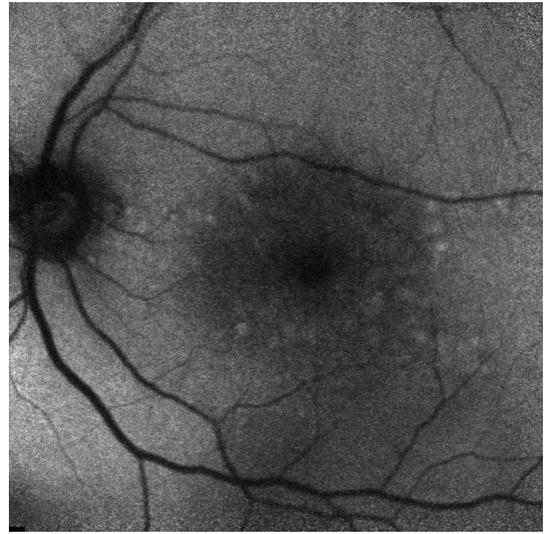


*Bandförmig Halo*

*Abb. 4.7: Beispiele der FAF-Gruppe „Bandförmig“ und deren Subgruppen*

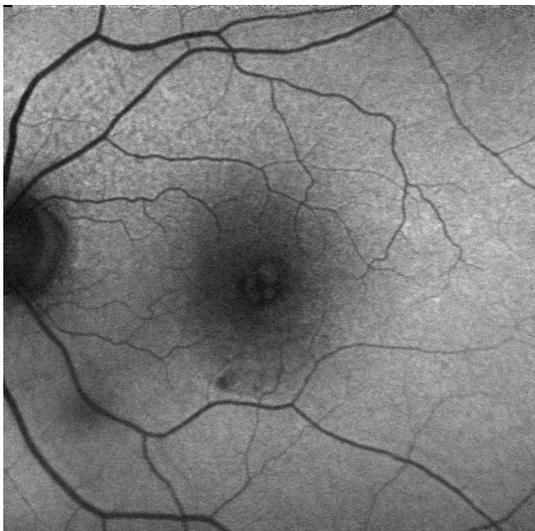


*Gefleckt+Bandförmig*

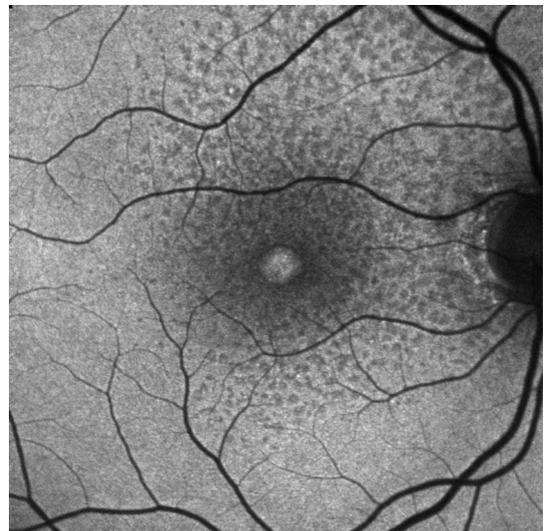


*Großfleckig*

*Abb. 4.8: Beispiele der FAF-Gruppen „Gefleckt+Bandförmig“ und „Großfleckig“*

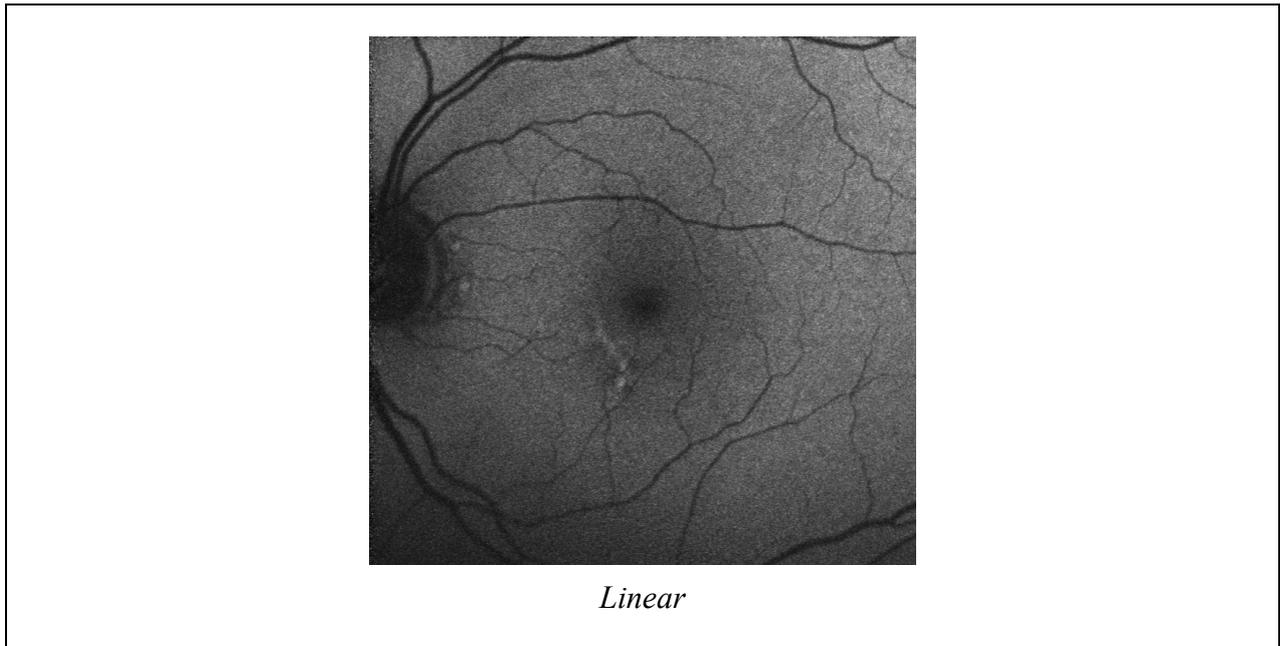


*Fokal erhöht*



*Retikulär*

*Abb. 4.9: Beispiele der FAF-Gruppen „Fokal erhöht“ und „Retikulär“*



*Abb. 4.10: Beispiele der FAF-Gruppe „Linear“*

#### **4.4 Nah-Infrarot-Autofluoreszenz**

Die minimale Fläche der NIA-Läsion betrug 0,55 mm<sup>2</sup>, die maximale NIA-Läsionsfläche 37,33 mm<sup>2</sup>, und der Mittelwert 16,17 mm<sup>2</sup> (Tab. 1).

Bei 16,9% der Augen (N=14) wurde die NIA-Bildqualität als „sehr gut“ bezeichnet, bei 22,9% (N=19) als „gut“, bei 30,1% (N=25) als akzeptabel, bei 24,1% (N=20) als „schlecht aber teilweise auswertbar“ und bei 6,0% (N=5) als „sehr schlecht, nicht auswertbar“ oder „nicht vorhanden“ bezeichnet. Die hierfür eingesetzten Kriterien sind in Kapitel 3.4 beschrieben.

In allen auswertbaren NIA-Aufnahmen stellte sich ein pathologischer Befund der NIA dar, der in allen Fällen heterogene Läsionen mit erhöhter und verminderter Intensitäten abnormaler NIA aufwies. 80,7% der Augen zeigten ein unifokales Areal pathologischer NIA, 10,8% ein diffuses Areal und 1,2% multifokale pathologische NIA-Areale. Die Grenze der NIA-Areale waren bei 98,7% der Augen schlecht definiert.

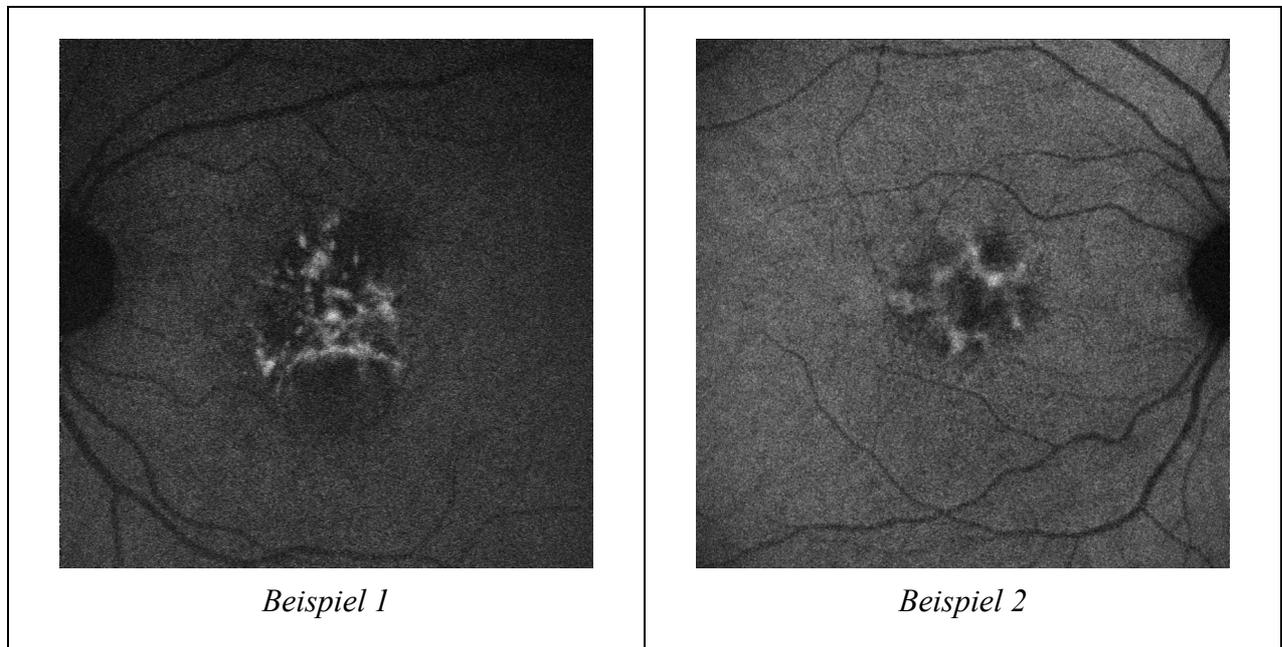
Die verschiedenen NIA-Muster nach der Klassifikation, die im Kapitel 3.4.4 erklärt wurde, fanden sich in folgender Häufigkeit:

*Tab. 3: Unterteilung der NIA-Gruppen und Subgruppen*

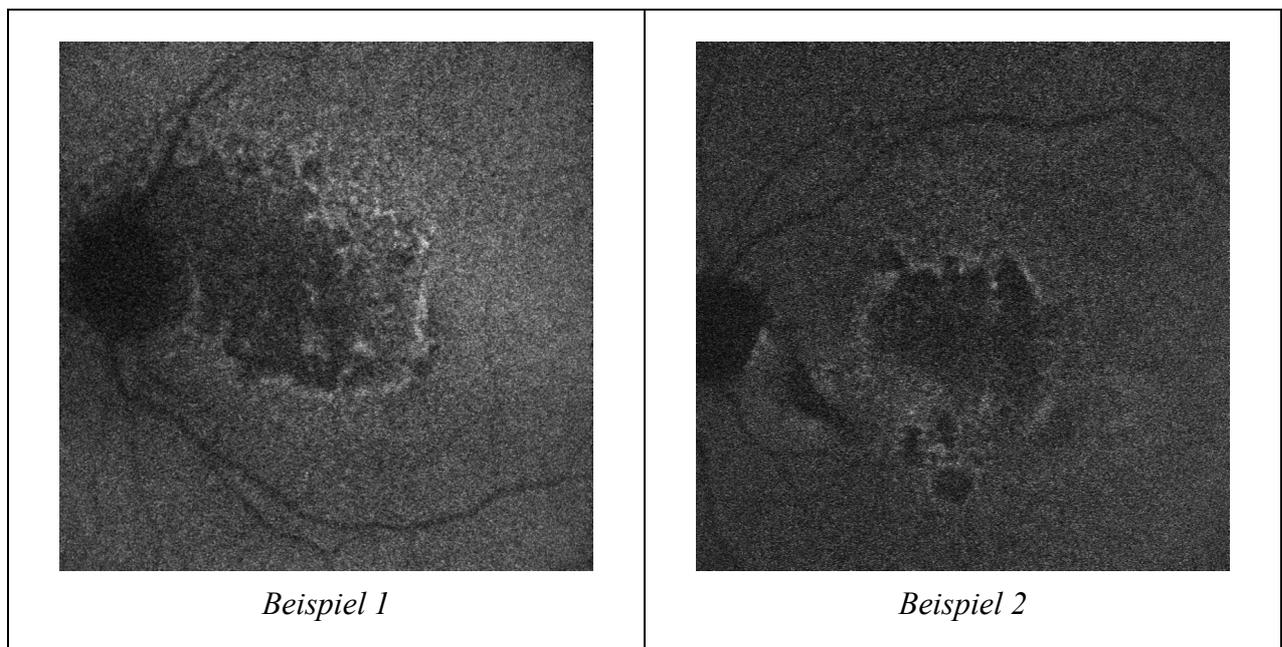
<b>NIA-Gruppe</b>	<b>N</b>	<b>Prozent (%)</b>	<b>Subgruppe</b>	<b>N</b>
Verzweigt	11	14,1		
Geographisch	11	14,1		
Ring	4	5,13	Ring W-S-W	3
			Ring S-W-S	1
Gefleckt	19	24,36	Gefleckt	15
			Gefleckt Mitte schwarz	4
			Bandförmig	6
Bandförmig	25	32,05	Bandförmig Mitte schwarz	11
			Bandförmig konzentrisch	8
			Gefleckt+Bandförmig	7
Gefleckt+Bandförmig	8	10,26	Gefleckt+Bandförmig+Mitte schwarz	1

*Ring W-S-W= Ring weiß-schwarz- weiß; Ring S-W-S= Ring schwarz-weiß-schwarz*

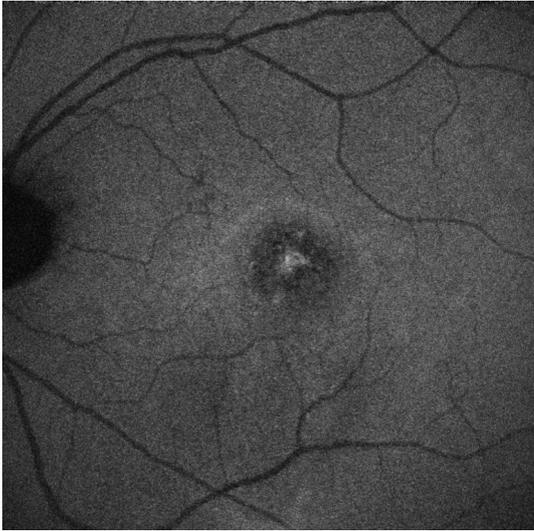
Mehrere Beispiele zu jeder NIA-Gruppe und Subgruppe sind in den folgenden Abbildungen (Abb. 4.11- Abb. 4.16) dargestellt.



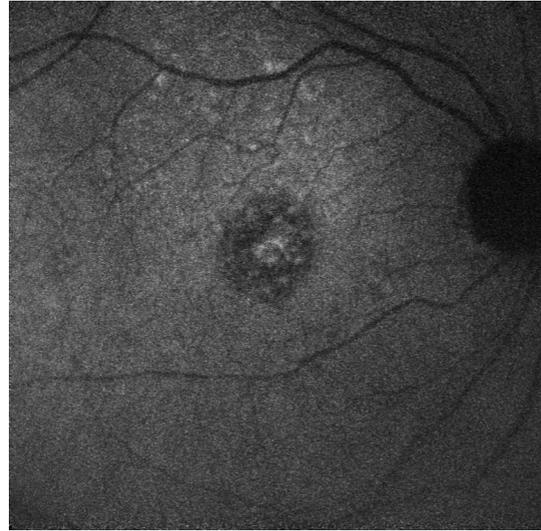
*Abb. 4.11: Zwei Beispiele der NIA-Gruppe „Verzweigt“*



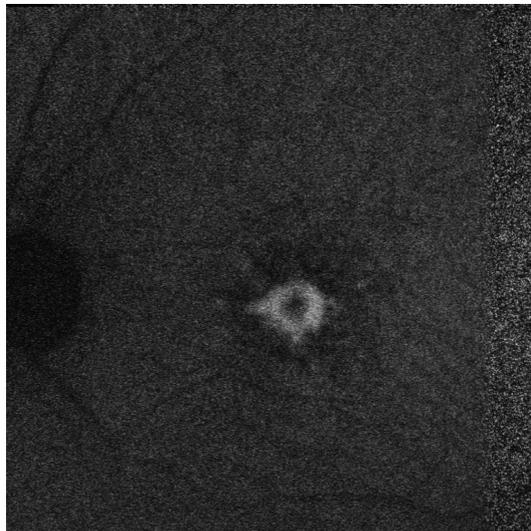
*Abb. 4.12: Zwei Beispiele der NIA-Gruppe „Geographisch“*



*Ring W-S-W Beispiel 1*

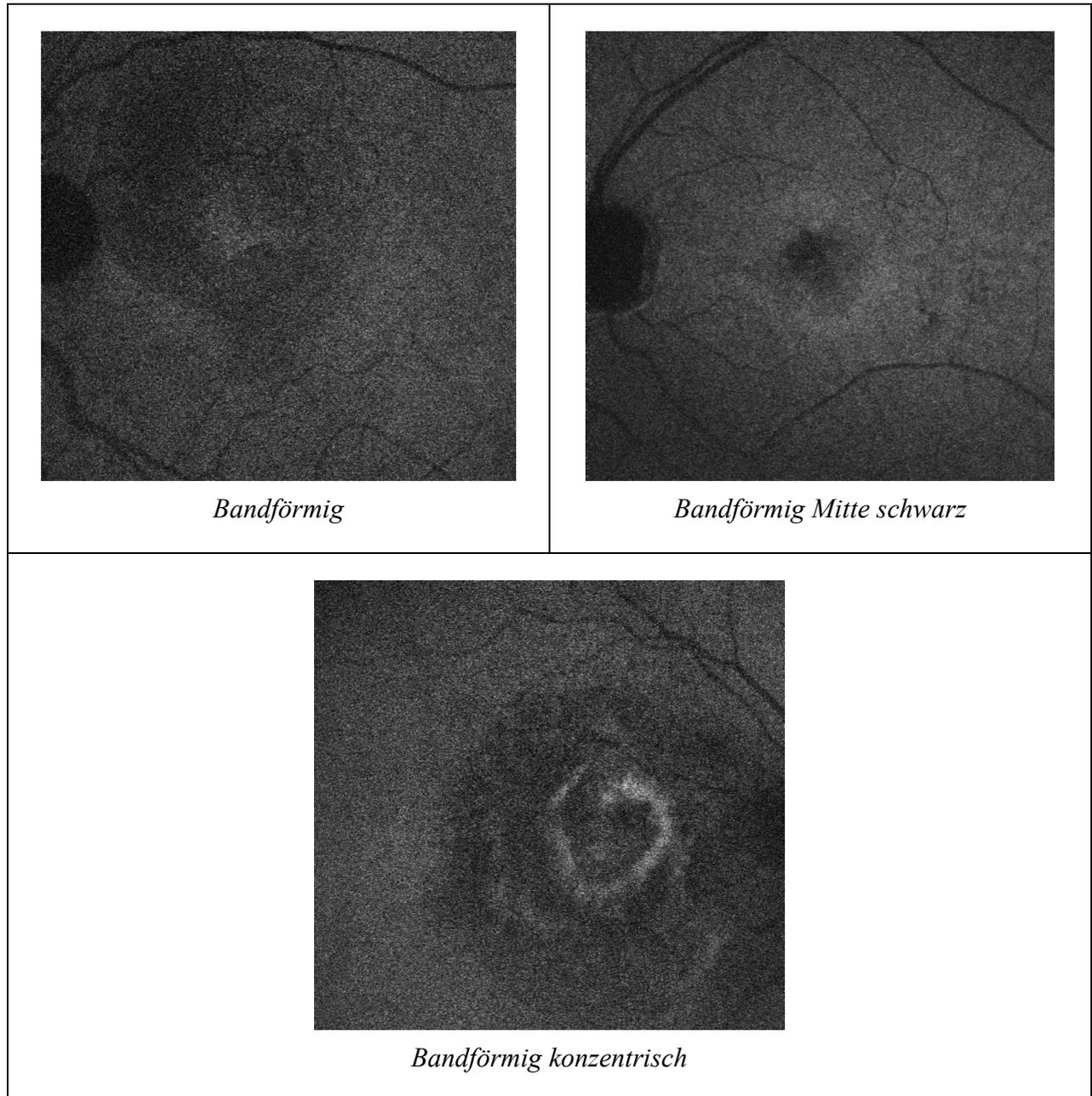


*Ring W-S-W Beispiel 2*

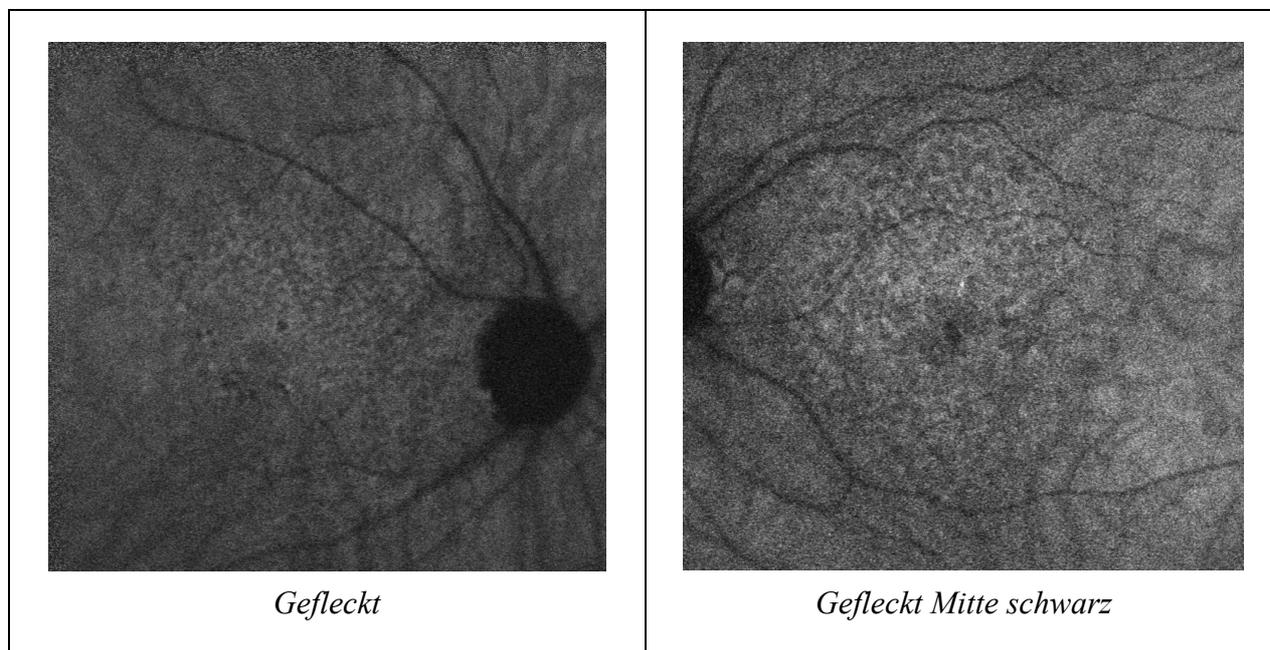


*Ring S-W-S*

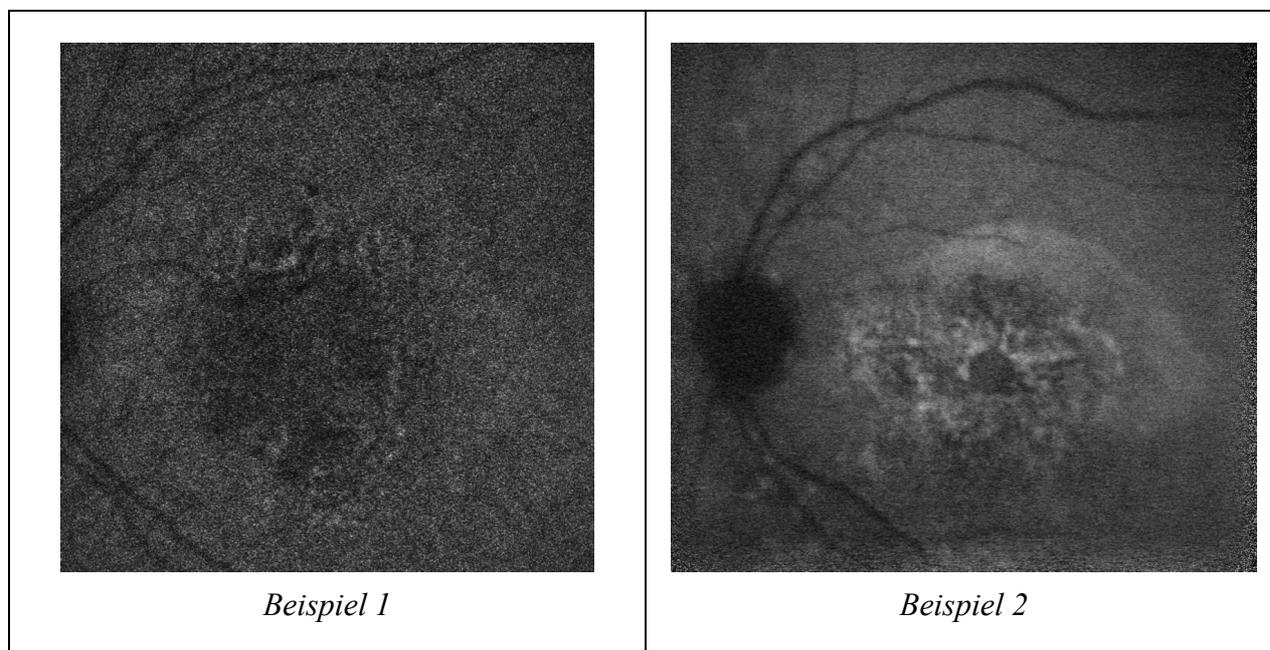
*Abb. 4.13: Beispiele der NIA-Gruppe „Ring“ und deren Subgruppen „Ring W-S-W“ und „Ring S-W-S“*



*Abb. 4.14: Beispiele der NIA-Gruppe „Bandförmig“ und deren Subgruppen*



*Abb. 4.15: Beispiele der NIA-Gruppe „Gefleckt“ und deren Subgruppen*



*Abb. 4.16: Zwei Beispiele der NIA-Gruppe „Gefleckt+Bandförmig“*

## 4.5 Fluorescein-Angiografie

Die minimale Fläche der Läsion in der fFAG betrug  $0,24 \text{ mm}^2$ , die maximale  $50,95 \text{ mm}^2$ , und der Mittelwert  $13,83 \text{ mm}^2$ . Die minimale Fläche der Läsion in der sFAG betrug  $1,04 \text{ mm}^2$ , die maximale  $50,98 \text{ mm}^2$ , und der Mittelwert  $15,57 \text{ mm}^2$  (Tab. 1). Beispiele zunehmender Fluoreszenz und Leckage sind in folgender Abbildung (Abb. 4.17) angegeben.

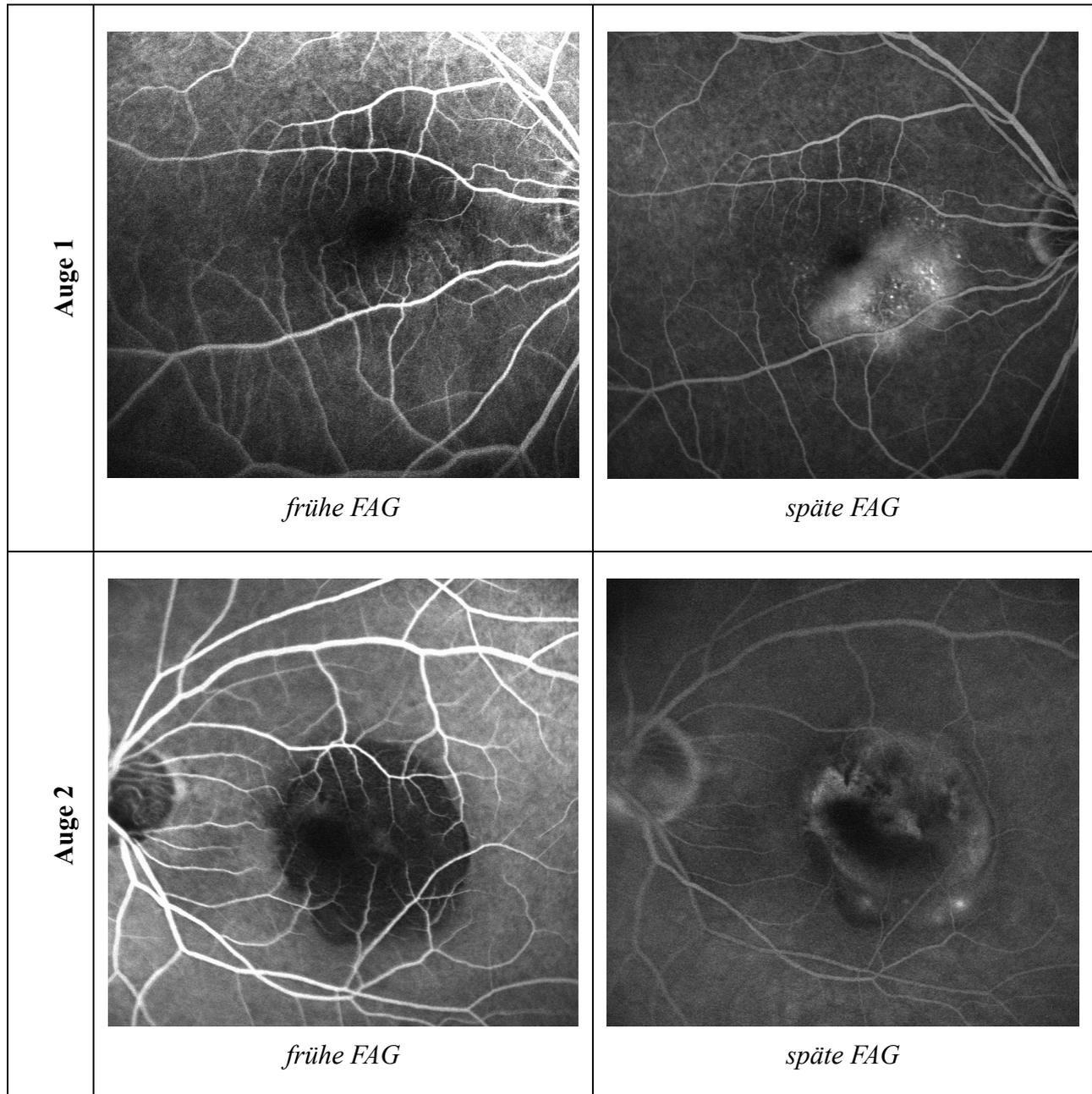


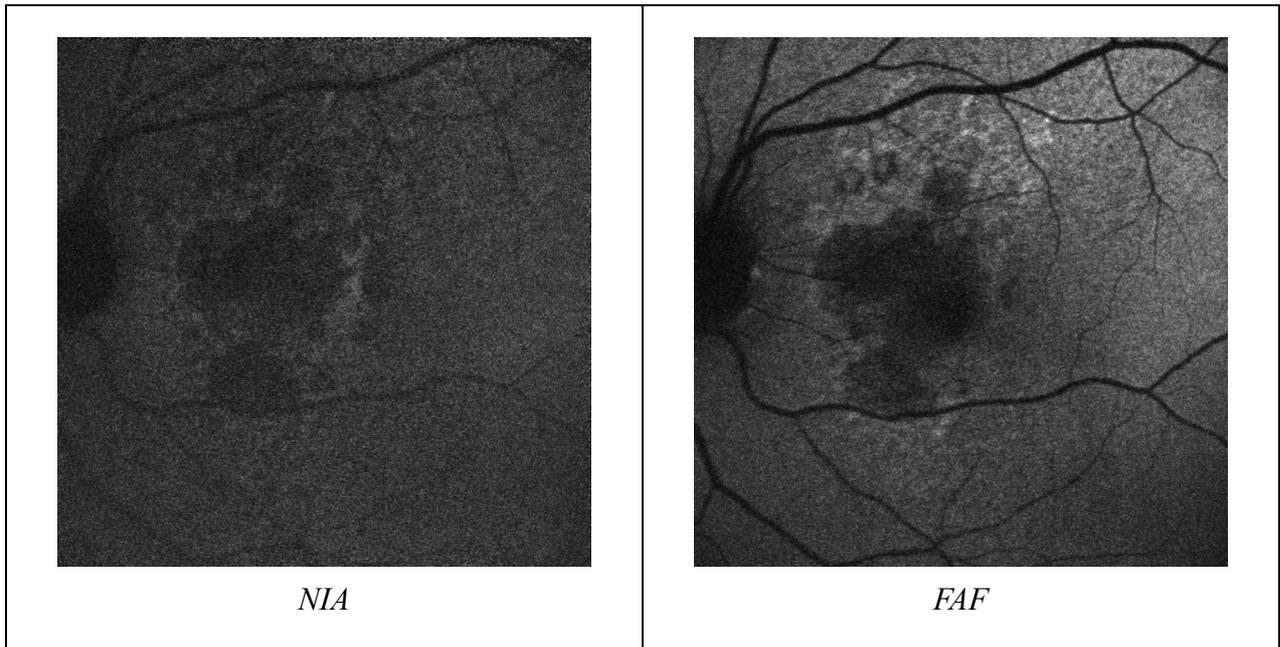
Abb. 4.17: Beispiele für fFAG und korrespondierende sFAG bei zwei Augen

## 4.6 Nah-Infrarot-Autofluoreszenz vs. Fundusautofluoreszenz

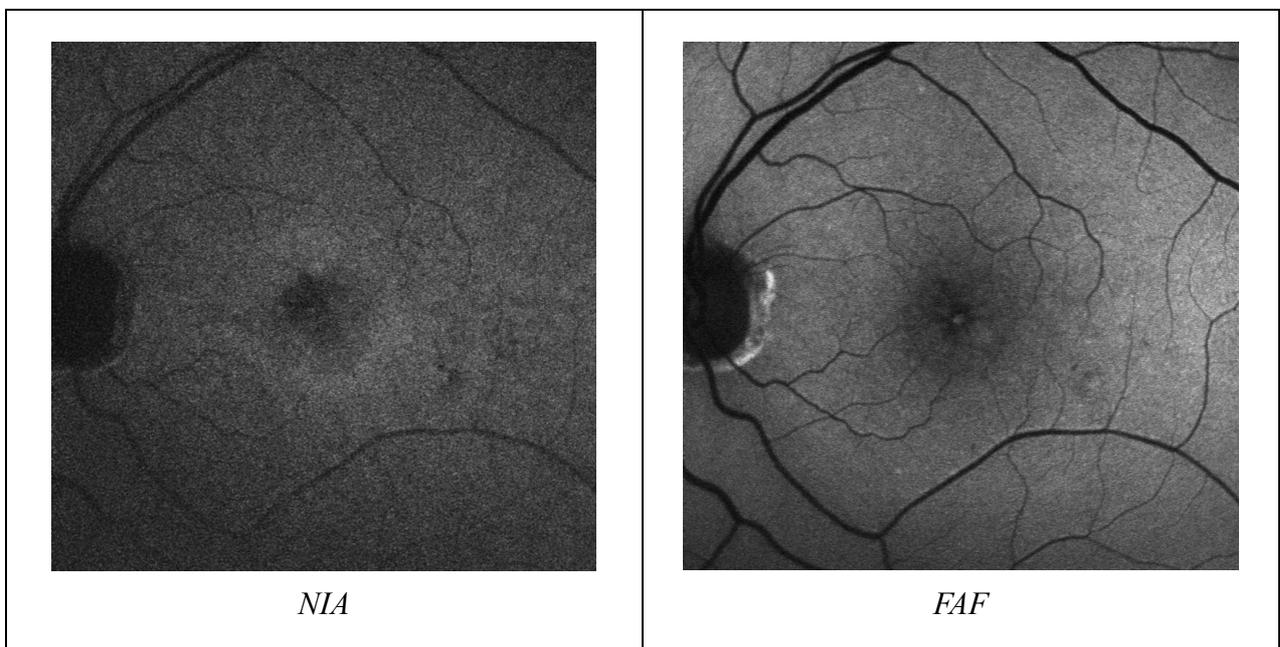
Bei 5 Augen waren die NIA-Aufnahmen nicht auswertbar und bei 4 Augen der Gruppe „schlecht aber teilweise auswertbar“ konnte die Läsionsfläche nicht bestimmt werden. Deshalb wurde der Läsionsflächenvergleich nur für 74 Augen durchgeführt. Von dieser Gruppe war die NIA-Fläche bei 36 Augen (48,65%) kleiner als die entsprechende FAF-Fläche des gleichen Auges. Bei 38 Augen (51,35%) war die NIA-Fläche größer als die entsprechende FAF-Fläche. Die durchschnittliche Fläche der NIA- und FAF-Läsionen betrug 16,17 mm<sup>2</sup> bzw. 16,97 mm<sup>2</sup>.

Von den 78 Augen mit auswertbaren NIA- und FAF-Bildern wurden 37 Augen (47,44%) in beiden Untersuchungen in der gleichen Mustergruppe klassifiziert. 41 Augen (52,56%) wurden in verschiedenen Gruppen eingeteilt.

Zum weiteren Vergleich der Intensität, Richtung und Randdefinition der Fluoreszenz konnten 76 Augen berücksichtigt werden. Bei 44,74% der Augen (N=34) waren in der NIA die Areale mit reduzierter Fluoreszenz weniger dunkel als bei der FAF und bei der NIA die Areale mit verstärkter Fluoreszenz weniger hell als die FAF-Läsionen. Ein gegenteiliger Befund konnte in 11,84% (N=9) der Augen festgestellt werden, d.h. die NIA-Areale mit reduzierter Fluoreszenz waren dunkler als bei der FAF und die NIA-Areale mit verstärkter Fluoreszenz waren heller als bei der FAF. Bei 31,58% (N=24) waren die NIA-Areale mit reduzierter Fluoreszenz weniger dunkel als bei der FAF und die NIA-Areale mit verstärkter Fluoreszenz heller als bei der FAF. Bei 11,84% (N=9) waren die NIA-Areale mit reduzierter Fluoreszenz Areale dunkler als bei der FAF und die NIA-Areale mit verstärkter Fluoreszenz weniger hell als bei der FAF. Bei 47,37% der Fällen (N=36) war die Richtung der Autofluoreszenz äquivalent, und bei 52,63% (N= 40) wurde ein Unterschied in der Richtung festgestellt. In den meisten Augen 90,79% (N=69) waren die Ränder der Läsion in der NIA schlechter definiert als in der FAF. Das Gegenteil zeigte sich nur in 3,95% der Augen (N=3). Bei 4 Augen (5,26%) wurde die Auflösung als gleich klassifiziert, wie in den Abbildungen (*Abb. 4.18* und *Abb. 4.19*) beispielhaft dargestellt.



*Abb. 4.18: Beispiel 1: gleiche Richtung der Autofluoreszenz, Ränder schlechter definiert bei der NIA als bei der FAF. Areale reduzierter Autofluoreszenz dunkler bei der FAF und Areale erhöhter Autofluoreszenz heller bei der FAF*



*Abb. 4.19: Beispiel 2: gegenseitige Richtung in Autofluoreszenz. Läsionen besser definiert bei der NIA als bei der FAF*

## 4.7 Mittelwertvergleich der Läsionsflächen

Die Variablen NIA-, FAF-, fFAG- und fFAG-Läsionsfläche wurden mittels Kolmogorov-Smirnov Test [48] auf die Normalverteilung geprüft. Die asymptotische zweiseitige Signifikanz für die vier Variablen war 0,959, 0,314, 0,166 bzw. 0,458. Da die Nullhypothese ( $H_0$ ) [48] eine Normalverteilung impliziert, liegt bei den vier Variablen eine Normalverteilung vor. Aus diesem Grund ist die statistische Analyse mittels parametrischen Tests gerechtfertigt.

Mittels des gepaarten zweiseitigen Student-t-Tests wurde bei der Stichprobe die Läsionsfläche ( $\text{mm}^2$ ) mit den verschiedenen Untersuchungstechniken für das gleiche Auge verglichen. Die Nullhypothese lautet: „die analysierten Läsionen mit den zwei gewählten Techniken unterscheiden sich nicht in ihren Flächen für das gleiche Auge“. Die Alternativhypothese ist demnach: „es besteht ein Unterschied zwischen den beiden Läsionsflächen“.

Die geprüften Paare und die Ergebnisse für ein Signifikanzniveau von 95% sind in folgender Tabelle (*Tab. 4*) ausgedrückt, mit fetter Schrift falls statistisch signifikant.

Nach dieser Analyse besteht in unserer Stichprobe kein signifikanter Unterschied in der Läsionsfläche gemessen mittels NIA, FAF und sFAG. Im Gegensatz war der Unterschied in der Durchschnittsläsionsfläche zwischen NIA und fFAG, zwischen FAF und fFAG und zwischen fFAG und sFAG statistisch signifikant.

Tab. 4: Gepaarter Mittelwertvergleich zwischen mit unterschiedlichen Verfahren gemessenen Läsionsflächen (mm<sup>2</sup>)

Paare	Mittelwert Läsionsfläche		p-Wert
NIA-sFAG	NIA	16,1665	0,388
	sFAG	15,5011	
FAF-sFAG	FAF	17,3251	0,06
	sFAG	15,5718	
NIA-fFAG	NIA	16,1665	<b>0,02</b>
	fFAG	13,6014	
FAF-fFAG	FAF	17,3251	<b>0,000</b>
	fFAG	13,8333	
NIA-FAF	NIA	16,1665	0,216
	FAF	16,9723	
fFAG-sFAG	fFAG	13,6014	<b>0,000</b>
	sFAG	15,5718	

Die gleiche Analyse wurde für die Augen zusätzlich unter Berücksichtigung einer Vorbehandlung mit Anti-VEGF Medikamenten wiederholt und in Tabelle (Tab. 5) zusammengefasst. Statistisch signifikante Ergebnisse sind mit fetter Schrift hervorgehoben.

Nach dieser Analyse sind bei den vorbehandelten Patienten die Unterschiede zwischen FAF- und sFAG-Werte, und zwischen NIA und FAF signifikant. Die Unterschiede NIA-fFAG und FAF-fFAG sind signifikant für die unbehandelte Gruppe und nicht signifikant für die vorbehandelte Gruppe.

Tab. 5: Gepaarter Mittelwertvergleich zwischen mit unterschiedlichen Verfahren gemessenen Läsionsflächen (mm<sup>2</sup>) bei unbehandelten und vorbehandelten Patienten

Paare	Gruppe	Mittelwert Läsionsfläche		p-Wert
NIA-sFAG	UB	NIA	16,353	0,396
		sFAG	15,635	
	VB	NIA	15,542	0,793
		sFAG	15,052	
FAF-sFAG	UB	FAF	17,120	0,056
		sFAG	15,932	
	VB	FAF	17,930	<b>0,046</b>
		sFAG	14,510	
NIA-fFAG	UB	NIA	16,353	<b>0,000</b>
		fFAG	13,259	
	VB	NIA	15,542	0,709
		fFAG	14,749	
FAF-fFAG	UB	FAF	17,120	<b>0,000</b>
		fFAG	13,560	
	VB	FAF	17,930	0,062
		fFAG	14,640	
NIA-FAF	UB	NIA	16,353	0,814
		FAF	16,527	
	VB	NIA	15,542	<b>0,030</b>
		FAF	18,465	

*UB=unbehandelt; VB=vorbehandelt;*

#### 4.7.1 Durchschnittsvergleich nach Gruppen in der Farbfundusfotografie

Die durchschnittlich gemessenen Variablen „Läsionsfläche“ (mm<sup>2</sup>) und „Visus“ (Snellen) wurden in jeder Gruppe nach der Klassifikation in der Farbfundusfotografie untersucht und in folgender Tabelle (Tab. 6) dokumentiert. Die höchsten und kleinsten Werte sind in fetter Schrift gekennzeichnet.

Tab. 6: Durchschnittswerte der Läsionsfläche und Visus bei den unterschiedlichen Gruppen in der Farbfundusfotografie

Gruppe	NIA	FAF	fFAG	sFAG	Visus
Harte Drusen	<b>18,72</b>	18,58	12,01	15,67	<b>0,43</b>
Weiche Drusen	11,61	11,87	12,08	13,86	0,34
GA	18,26	<b>20,28</b>	<b>16,94</b>	<b>18,85</b>	0,21
RPE-Abhebung	<b>7,80</b>	<b>5,87</b>	<b>5,10</b>	<b>4,97</b>	<b>0,10</b>
CNV	15,79	18,24	14,09	15,65	0,23

#### 4.7.2 Durchschnittsvergleich nach Gruppen in der Fundusautofluoreszenz

Die gleichen Variablen (Läsionsflächen und Visus) wurden in den verschiedenen FAF Gruppen gemessen und in folgender Tabelle (Tab. 7) zusammengefasst. Die höchsten und kleinsten Werte sind in fetter Schrift gekennzeichnet.

Tab. 7: Durchschnittswerte der Läsionsfläche und Visus bei den unterschiedlichen FAF-Gruppen

FAF Gruppe	NIA	FAF	fFAG	sFAG	Visus
Verzweigt	10,18	11,52	11,49	12,81	0,30
Geographisch	<b>22,26</b>	21,55	20,17	21,53	0,21
Ring	<b>4,56</b>	<b>3,14</b>	<b>4,21</b>	<b>4,13</b>	0,47
Blockade		<b>26,31</b>	<b>25,91</b>	<b>27,18</b>	0,50
Gefleckt	18,42	20,23	17,24	20,35	0,24
Gefleckt+Bandförmig	14,74	19,21	14,45	15,63	0,22
Bandförmig	18,40	19,50	14,00	15,69	<b>0,20</b>
Großfleckig		15,63	12,08	11,29	0,30
Fokal erhöht	15,28	6,21	3,46	6,27	0,33
Retikulär	11,36	10,20	4,75	6,17	0,42
Linear	13,98	11,74	9,50	11,95	<b>0,60</b>

Die FAF-Gruppen mit den höchsten und niedrigsten Parameterwerten wurden zusätzlich mit dem Student-t-Test verglichen. Bei dem NIA-Flächenvergleich zwischen den FAF-Gruppen „Geographisch“ und „Ring“ zeigte sich ein signifikanter Unterschied ( $p=0,000$ ). Ein signifikanter Unterschied ( $p=0,010$ ) war ebenso zwischen den FAF-Läsionsflächen der FAF-Gruppen „Ring“ und „Blockade“ zu finden, sowie zwischen den fFAG-Läsionsflächen der FAF-Gruppen „Blockade“ und „Fokal erhöht“ ( $p=0,01$ ). Die sFAG-Läsionsflächen der FAF-Gruppen „Ring“ und „Blockade“ waren signifikant unterschiedlich ( $p=0,016$ ). Der Sehschärfenunterschied zwischen den FAF-Gruppen „Bandförmig“ und „Linear“ war ebenso statistisch signifikant ( $p=0,020$ ).

### 4.7.3 Durchschnittsvergleich nach Gruppen in der Nah-Infrarot-Autofluoreszenz

Die Durchschnittswerte der verschiedenen NIA-Gruppen sind in der folgenden Tabelle (Tab. 8) zusammengefasst. Die höchsten und niedrigsten Werte sind hier ebenfalls mit fetter Schrift markiert. Die NIA-Gruppen mit den höchsten und niedrigsten Parameterwerten wurden zusätzlich mit dem Student-t-Test geprüft, um Unterschiede festzustellen. Der NIA-Flächenvergleich zwischen den NIA-Gruppen „Ring“ und „Gefleckt+Bandförmig“ zeigte einen signifikanten Unterschied ( $p=0,02$ ). Ein signifikanter Unterschied war zwischen den FAF-Läsionsflächen der NIA-Gruppen „Geographisch“ und „Ring“ ( $p=0,04$ ), und den fFAG- und sFAG-Läsionsflächen der NIA-Gruppen „Ring“ und „Gefleckt+Bandförmig“ zu finden (bzw.  $p=0,026$  und  $p=0,018$ ). Der Sehschärfenunterschied zwischen den NIA-Gruppen „Verzweigt“ und „Bandförmig“ war ebenso statistisch signifikant ( $p=0,035$ ).

Tab. 8: Durchschnittswerte der Läsionsfläche und Visus bei den unterschiedlichen NIA-Gruppen

NIA Gruppe	NIA	FAF	fFAG	sFAG	Visus
Verzweigt	10,29	11,45	11,07	12,77	<b>0,37</b>
Geographisch	19,56	<b>24,04</b>	19,29	22,21	0,22
Ring	<b>5,57</b>	<b>6,50</b>	<b>2,91</b>	<b>3,19</b>	0,31
Gefleckt	13,10	13,77	9,23	12,52	0,31
Gefleckt+Bandförmig	<b>21,56</b>	22,31	<b>22,63</b>	<b>22,79</b>	0,24
Bandförmig	19,64	19,95	15,22	16,70	<b>0,20</b>

## 4.8 Visusentwicklung

Nur die Patienten, die eine Therapie mit Anti-VEGF Medikamenten zum ersten Mal nach der Untersuchung in dieser Arbeit bekamen, wurden für die Visusentwicklung berücksichtigt und analysiert. In dieser Untergruppe betrug der durchschnittlicher Visus vor Behandlung 0,27 (Standardabweichung: SA=0,19) und der beste Visus nach der Behandlung 0,32 (SA=0,24). Der maximale Visusanstieg betrug 4 Linien und der maximale Visusverlust trotz Behandlung entsprach ebenfalls 4 Linien. Der durchschnittliche Gewinn lag bei 0,38 Linien und die SA betrug 1,57.

### 4.8.1 Visusentwicklung nach Gruppen in der Farbfundusfotografie

Die Mittelwerte für die Visusentwicklung bei den verschiedenen Farbbildgruppen sind in folgender Tabelle (Tab. 9) zusammengefasst. Die höchsten und niedrigsten Werte sind mit fetter Schrift markiert.

Tab. 9: Postoperative Visusentwicklung bei unterschiedlichen Farbgruppen

Farbgruppe	N	Visus	Visus Postinjektion	Visusanstieg
Harte Drusen	2	<b>0,400</b>	<b>0,450</b>	1,000
Weiche Drusen	5	0,384	0,400	<b>0,100</b>
Geographische Atrophie	3	0,133	0,333	<b>1,667</b>
RPE-Abhebung	1	<b>0,100</b>	<b>0,160</b>	0,500
CNV	8	0,194	0,307	0,800

Augen mit geographischer Atrophie profitierten durchschnittlich am meisten von der Anti-VEGF Medikamenten, und die Gruppe mit weichen Drusen zeigte die kleinste Visusverbesserung nach der Behandlung.

## 4.8.2 Visusentwicklung nach Gruppen in der Fundusautofluoreszenz

Die Mittelwerte für die Visusentwicklung der verschiedenen FAF-Mustern sind in folgender Tabelle (Tab. 10) zusammengefasst. Die höchsten und kleinsten Werte sind in fetter Schrift gekennzeichnet.

Tab. 10: Postoperative Visusentwicklung bei unterschiedlichen FAF-Gruppen

FAF Gruppe	N	Visus	Visus Postinjektion	Visusanstieg
Verzweigt	6	0,34	0,43	0,14
Geographisch	7	0,21	<b>0,14</b>	-0,70
Ring	2	0,40	0,40	0,00
Blockade	1	0,50	0,50	0,00
Gefleckt	9	0,23	0,27	0,06
Gefleckt+Bandförmig	9	0,26	0,36	<b>1,33</b>
Bandförmig	15	<b>0,19</b>	0,29	0,72
Fokal erhöht	2	0,35	0,20	<b>-1,00</b>
Retikulär	5	0,42	0,54	1,10
Linear	1	<b>0,60</b>	<b>0,60</b>	0,00

Nach dieser Analyse kann man feststellen, dass die Gruppe „Gefleckt+Bandförmig“ am meisten von der Anti-VEGF Therapie profitiert hat, im Gegensatz zu der Gruppe „Fokal erhöht“, die trotz Therapie eine Visuslinie im Durchschnitt verloren hat. Dieser Unterschied war aber nicht statistisch signifikant.

## 4.8.3 Visusentwicklung nach Gruppen in der Nah-Infrarot-Autofluoreszenz

Die Mittelwerte für die verschiedenen NIA-Muster sind in folgender Tabelle (Tab. 11) dargestellt. Die höchsten und kleinsten Werte sind in fetter Schrift markiert.

Tab. 11: Postoperative Visusentwicklung bei unterschiedlichen NIA-Gruppen

NIA Gruppe	N	Visus	Visus Postinjektion	Visusanstieg
Verzweigt	8	<b>0,383</b>	<b>0,46</b>	0,243
Geographisch	8	0,213	0,196	<b>-0,429</b>
Ring	3	0,350	0,400	0,667
Gefleckt	17	0,316	0,421	0,922
Gefleckt+Bandförmig	4	0,225	0,400	<b>2,500</b>
Bandförmig	17	<b>0,207</b>	<b>0,191</b>	-0,103

Der postoperative Visus war am höchsten bei der Gruppe „Verzweigt“ und am niedrigsten bei der Gruppe „Bandförmig“, jedoch war der Unterschied nicht statistisch signifikant ( $p=0,05$ ). Die postoperative Visuszunahme war in der Gruppe „Gefleckt+Bandförmig“ am höchsten und in der Gruppe „Geographisch“ am niedrigsten, mit einem statistisch signifikanten Unterschied ( $p=0,023$ ).

Die Anfangssehstärke, die postoperative Sehstärke und der Visusanstieg wurden zwischen Patienten mit einer zentral reduzierten NIA und Patienten ohne zentral reduzierte NIA verglichen (Tab. 12). Die höchsten und kleinsten Werte sind in fetter Schrift gekennzeichnet. Die Mittelwerte wurden mit dem Student-t-Test verglichen, und ein statistisch signifikanter Unterschied wurde für die Visusanstiegswerte festgestellt. Eine zentral reduzierte NIA geht mit einer reduzierten Chance auf Visuserholung einher.

*Tab. 12: Postoperative Visuentwicklung je nach zentraler NIA*

<b>Zentral reduzierte NIA</b>	<b>Visus</b>	<b>Visus Postinjektion</b>	<b>Visusanstieg (Linien)</b>
Ja	0,340	0,268	-0,645
Nein	0,258	0,339	0,634
<b>p-Wert</b>	0,238	0,444	<b>0,021</b>

## 4.9 Korrelationsanalyse

Eine direkte Korrelation, dargestellt in folgender Tabelle (Tab. 13), zwischen den NIA-, FAF-, fFAG- und FAG-Läsionsfläche wurde mit einem Signifikanzniveau von 99% ( $p < 0,001$ ) festgestellt. Eine inverse Korrelation zwischen Visus und FAF-Läsionsfläche sowie Visus und Alter ist ebenso vorhanden ( $p < 0,001$ ). Je älter der Patient ist, desto geringer ist der Visus, und je größer die FAF-Läsionen sind, desto niedriger ist die Sehschärfe. Eine inverse Korrelation zwischen Visus und fFAG lässt sich für einen Signifikanzniveau von 95% ( $p < 0,05$ ) nachweisen. D.h., je größer die fFAG-Läsionen sind, desto niedriger ist die Sehschärfe.

Tab. 13: lineare Korrelationsanalyse

		NIA	FAF	fFAG	sFAG	Alter	Visus	Geschlecht
NIA	Pearson	1	0,860**	0,770**	0,801**	0,176	-0,213	0,136
	p-Wert		0,000	0,000	0,000	0,134	0,069	0,248
	N	74	74	74	74	74	74	74
FAF	Pearson	0,860**	1	0,858**	0,854**	0,173	-0,301**	0,062
	p-Wert	0,000		0,000	0,000	0,117	0,006	0,578
	N	74	83	83	83	83	83	83
fFAG	Pearson	0,770**	0,858**	1	0,937**	0,113	-0,279*	0,078
	p-Wert	0,000	0,000		0,000	0,308	0,011	0,485
	N	74	83	83	83	83	83	83
sFAG	Pearson	0,801**	0,864**	0,937**	1	0,088	-0,201	0,105
	p-Wert	0,000	0,000	0,000		0,431	0,068	0,346
	N	74	83	83	83	83	83	83
Alter	Pearson	0,176	0,173	0,113	0,088	1	-0,356**	0,174
	p-Wert	0,134	0,117	0,308	0,431		0,001	0,115
	N	74	83	83	83	83	83	83
Visus	Pearson	-0,213	-0,301**	-0,279*	-0,201	-0,356**	1	-0,189
	p-Wert	0,690	0,006	0,011	0,068	0,001		0,087
	N	74	83	83	83	83	83	83
Geschlecht	Pearson	0,136	0,062	0,078	0,105	0,174	-0,189	1
	p-Wert	0,248	0,578	0,485	0,346	0,115	0,087	
	N	74	83	83	83	83	83	83

\*\* = Statistisch signifikante Korrelation für 99% Signifikanzniveau;

\* = Statistisch signifikante Korrelation für 95% Signifikanzniveau;

**Pearson** = Pearson Korrelationskoeffizient

Die Korrelation zwischen Visus, Visus nach Behandlung mit Anti-VEGF Medikamenten und Visusanstieg wurde bei den mit Anti-VEGF Medikamenten behandelten Augen analysiert und in folgender Tabelle (Tab. 14) zusammengefasst.

Tab. 14: lineare Korrelationsanalyse bei vorbehandelten Patienten

		Alter	Visus	Visus Postinjektion	Visusanstieg
<b>Alter</b>	Pearson	1	-0,346**	-0,414**	-0,173
	p-Wert		0,080	0,030	0,230
	N	57	57	50	50
<b>Visus</b>	Pearson	-0,346**	1	0,749**	-0,087
	p-Wert	0,080		0,000	0,549
	N	57	57	50	50
<b>Visus Postinjektion</b>	Pearson	-0,414**	0,749**	1	0,566**
	p-Wert	0,030	0,000		0,000
	N	50	50	50	50
<b>Visusanstieg</b>	Pearson	-0,173	-0,087	0,566**	1
	p-Wert	0,230	0,549	0,000	
	N	50	50	50	50

\*\* = Statistisch signifikante Korrelation für 99% Signifikanzniveau

Eine inverse Korrelation zwischen Visus und Alter und postoperativer Visus und Alter wurde festgestellt. Eine starke direkte Korrelation (Pearsonkoeffizient= 0,749) zwischen Visus vor und Visus nach der Anti-VEGF Therapie war ebenso vorhanden, d.h. je höher der Visus vor der Injektion ist, desto höher ist der Visus nach der Injektion. Eine direkte Korrelation zwischen dem Visusanstieg und dem postoperativen Visus lässt sich ebenso nachweisen.

## 5 Diskussion

Die Untersuchung und Beurteilung der Netzhaut bei Patienten mit exsudativer AMD ist wegen der hohen Prävalenz der Krankheit ein wichtiger Teil der täglichen augenärztlichen Praxis [47,87]. Der erhebliche Zeitaufwand und die hohen Kosten der Behandlung dieser Patienten haben die aktuelle Forschung zur Suche nach neuen Indikatoren und Prognoseparametern geführt, die eine bessere Patientenberatung und eine effektivere und gezieltere Therapie ermöglichen.

Nach mehreren Studien in den letzten Jahren scheint die Beurteilung der Integrität des RPE für das Verständnis der Pathophysiologie der Krankheit und ihres Verlaufs wichtig zu sein [14,16,46,85,95].

Bisher ist die FAG immer noch der „Goldstandard“ in der Diagnose und Bewertung der exsudativen AMD, insbesondere für die Therapieentscheidung und die Kontrolle der Therapie. Die Scanning-Laser-Ophthalmoskopie hat es ermöglicht, die Verteilung der Autofluoreszenz des Augenhintergrundes nicht-invasiv zu untersuchen und die Integrität der RPE zu evaluieren [1,43,44,63,74,85,92].

Einige Autoren haben die FAF- und NIA-Befunde bei verschiedenen Netzhauterkrankungen verglichen und darauf hingewiesen, dass die Unterschiede zwischen FAF- und NIA-Befunden eine Rolle zum Verständnis der pathophysiologischen Mechanismen spielen könnten und dass ihre Bewertung einen möglichen Einfluss auf die Therapie und Betreuung dieser Patienten haben könnte [12,36,37,38,42,45].

Ziel der vorliegenden Arbeit war die Untersuchung der Verwendung der NIA in der standardisierten Evaluierung der exsudativen AMD. In einer prospektiven Studie wurden die digitale Farbfundusfotografie, NIA-, FAF- und FAG-Aufnahmen in einer Datenbank systematisch registriert und verglichen. Ein weiteres Ziel war die NIA-Befunde in Muster zu unterteilen und eine mögliche Klassifikation zu definieren.

## 5.1 Auswertung der Fragen

Im Folgenden werden die in dem Abschnitt Zielsetzung 1.1 aufgeworfenen Fragestellungen beantwortet und diskutiert.

### 5.1.1 Folgt die NIA-Verteilung einem bestimmten Muster?

Bei allen eingeschlossenen Augen bestand eine fortgeschrittene AMD, und alle zeigten einen pathologischen NIA-Befund mit Läsionen erhöhter und verminderter NIA-Intensität. Die Mehrheit der NIA-Läsionen wurde als unifokal definiert, und nur ein Auge zeigte multifokale NIA-Läsionen, die sich bei der FAG als zwei verschiedene CNV herausstellten.

Die 78 Patienten mit einem auswertbaren NIA-Befund sind nach Ähnlichkeiten in den NIA-Mustern in 6 Gruppen und 11 Subgruppen unterteilt worden.

Die häufigsten Gruppen waren die Muster „Bandförmig“ (32,05%) und „Gefleckt“ (24,36%). Die seltenste Gruppe war das „Ring“ Muster (5,13%). Die Gruppen der NIA-Muster der vorliegenden Klassifikation sind auch in der FAF-Musterklassifikation von Bindewald et al vorhanden [6], obwohl nicht alle Patienten in der vergleichbaren Gruppe nach dem NIA- oder FAF-Muster klassifiziert wurden.

Die verschiedenen Muster entstehen vermutlich durch die verschiedenen pathophysiologischen Prozesse im Melanin- und Lipofuszin-Stoffwechsel. Ein Unterschied in diesen Mustern könnte die Prädominanz eines von mehreren involvierten pathophysiologischen Mechanismen bedeuten, die eventuell mit einer besseren oder schlechteren Prognose verbunden wären.

Da dass Melanin und Melanofuszin die dominierenden Fluorophore bei NIA sind, lässt sich der Befund einer überwiegenden NIA-Hyperfluoreszenz bei Patienten mit AMD durch folgende Hypothesen erklären. Erstens, neu synthetisiertes Melanin in den RPE-Zellen würde das NIA-Signal erhöhen. Zweitens, die Melaninaktivierung durch oxidativen Prozesse würde ebenfalls eine NIA-Hyperfluoreszenz verursachen. Drittens, die stärkere Verschiebung von Melaningranula in den apikalen Bereich der RPE-Zelle würde ein erhöhtes NIA-Signal verursachen, entweder wegen erhöhter Konzentration von Lipofuszingranula, die das Melanin anterior verlagern, oder wegen anderen Mechanismen.

Im Gegensatz wären der Abbau von Melanin, die Verdünnung der Melaningranula oder die posteriore Verschiebung der RPE-Zellen drei mögliche Mechanismen für eine verminderte NIA.

### **5.1.2 Gibt es gewisse NIA-Muster, die mit einer schlechteren Visusprognose korrelieren?**

Die Datenanalyse hat gezeigt, dass die Gruppe „Bandförmig“ die schlechteste präoperative Sehschärfe hatte (0,20), und die Gruppe „Verzweigt“ den besten präoperativen Visus erreichte (0,37). Die gesamte Läsionsfläche der Gruppe „Bandförmig“ war durchschnittlich die zweitgrößte (19,64 mm<sup>2</sup>) nach der Gruppe „Gefleckt+Bandförmig“ (21,56 mm<sup>2</sup>), und die durchschnittliche NIA-Fläche der Gruppe „Verzweigt“ war die zweitkleinste (10,29 mm<sup>2</sup>) nach der Gruppe „Ring“ (5,57 mm<sup>2</sup>). Dies weist darauf hin, dass die NIA Läsionsfläche mit der präoperativen Sehschärfe assoziiert sein kann, insbesondere wenn die exsudativen Veränderungen sich subfoveal oder juxtafoveal befinden. Die Analyse der Korrelation zwischen dem präoperativen Visus und der NIA-Läsionsfläche war jedoch nicht statistisch signifikant (*Tab. 13*). Es gibt möglicherweise andere Faktoren außer der Läsionsfläche wie z.B. die NIA-Muster, die eine Rolle spielen, und erklären können, warum die Gruppe mit der kleinsten NIA-Läsionsfläche nicht den besten präoperativen Visus erreichte.

Ebenso wurde die Korrelation zwischen Läsionsfläche und Sehschärfe vor Behandlung für die Variablen FAF und FAG untersucht, und bei beide zeigten eine inverse Korrelation, d.h. je größer die Läsionsfläche in FAG und FAF war, desto niedriger war die Sehschärfe. Die Ergebnisse stimmen mit der ANCHOR Studie [34] überein. Die 12 monatige Datenanalyse der ANCHOR Studie hat gezeigt, dass die Prädiktoren für die visuelle Entwicklung der anfängliche Visus, die Größe der CNV bei FAG und das Alter sind [34], geordnet nach der Auswirkung. Daher ist zu vermuten, dass die Läsionsfläche eine wichtige Rolle bei subfovealen und juxtafovealen Veränderungen spielt. Weiterhin hatte die Gruppe mit dem FAF-Muster „Bandförmig“ den schlechtesten Visus vor Behandlung, und der Unterschied zwischen dieser Gruppe und der Gruppe „Linear“, die den besten Visus vor Behandlung aufwies, war statistisch signifikant ( $p=0,020$ ).

Die Visusentwicklung wurde bei den Augen, die eine erstmalige Anti-VEGF Therapie erhielten, separat bewertet (*Tab. 14*). Eine signifikante inverse Korrelation zwischen Visus vor Behandlung und Alter sowie Visus nach Behandlung und Alter wurde festgestellt. D.h. je älter der Patient

war, desto niedriger war der Visus vor und nach der Anti-VEGF Therapie. Eine starke direkte Korrelation zwischen Visus vor und Visus nach Anti-VEGF Therapie war ebenso zu beobachten, d.h. ein Auge mit einem guten Visus vor der Applikation wird wahrscheinlich einen hohen Visus nach der Applikation behalten.

Jedoch wurde keine statistische Korrelation zwischen den Variablen Visus vor der Behandlung und einem Visusanstieg gefunden (*Tab. 14*). Daraus könnte man ableiten, dass die präoperative Sehschärfe möglicherweise nicht der einzige entscheidende Faktor ist, um eine Verbesserung durch die Anti-VEGF Therapie zu prognostizieren. Dies könnte aber auch dadurch bedingt sein, dass das mögliche Ausmaß der Visusbesserung bei Augen mit einem initial guten Visus geringer ist als bei Augen mit einem deutlich reduzierten Visus.

Bei der Analyse der verschiedenen NIA-Muster bezüglich der Visusentwicklung zeigte sich ein statistisch signifikanter Unterschied zwischen den NIA-Mustern. Die Gruppe „Gefleckt+Bandförmig“ entwickelte einen Visusanstieg von 2,5 Zeilen und die Gruppe „Geographisch“ eine Visusabnahme von 0,43 Zeilen trotz Anti-VEGF Therapie (*Tab. 11*). Diesen Ergebnissen folgend würde die Gruppe „Geographisch“ am wenigsten von einer Anti-VEGF Therapie profitieren. Ein möglicher Grund dafür könnte sein, dass diese Patienten schon eine länger bestehende nicht exsudative AMD mit starkem andauerndem RPE-Schaden haben, die erst im Laufe der Zeit eine exsudative Komponente entwickeln. Von den 11 Augen mit einem NIA-Muster als „Geographisch“ bezeichnet, zeigten 5 Augen auch das Muster „Geographisch“ bei der FAF Untersuchung. Bei diesen Augen war ein Bereich erhöhter NIA sowie FAF festzustellen, der die geographische Atrophie umringt. Mehrere Studien über FAF haben diesen Befund mit einem hohen Progressionsrisiko verbunden [8,27,65]. Äquivalente NIA-Studienergebnisse sind zurzeit noch nicht bekannt.

Im Gegensatz hat die NIA-Gruppe „Gefleckt+Bandförmig“ das beste Ergebnis mit der Anti-VEGF Therapie erreicht (*Tab. 11*), deshalb wären die Patienten mit diesem NIA-Muster die besten Kandidaten für diese Therapie. Möglicherweise ist dieses Muster mit einem kleineren Schaden der Struktur der externen Netzhautschichten verbunden, so dass eine gewisse Erholung der Sehschärfe noch möglich wäre.

Folgerichtig haben die Augen mit einer zentral reduzierten NIA eine statistisch signifikant schlechtere Visusentwicklung gezeigt als der Rest der Augen nach Anti-VEGF Therapie (*Tab.*

12). Im normalen NIA-Befund (siehe Kapitel 2.2.4) ist ein Areal höchster Intensität zentral zu sehen, das der physiologischen Melaninkonzentration in den RPE-Zellen entspricht. Es ist zu erwarten, dass Augen mit einer beschädigten zentralen RPE-Architektur auch eine schlechte Visusprognose zeigen. Heimes et al haben ebenfalls festgestellt, dass die Visusprognose bei Augen mit erhöhter zentraler FAF schlechter ist, was auch einer Änderung der normalen Verteilung der zentralen FAF entspricht [26].

### **5.1.3 Ist die FAF-Klassifikation von Bindewald et al reproduzierbar?**

Es war möglich, die in dieser Arbeit untersuchten Augen nach den von Bindewald et al [6] verschiedenen beschriebenen FAF-Gruppen zu klassifizieren. Zu der vorhandenen Klassifikation wurde noch die ergänzende Gruppe „Blockade“ hinzugefügt. Die Abwesenheit der „Blockade“ Gruppe bei der Klassifikation von Bindewald et al liegt daran, dass nur Patienten mit nicht exsudativen AMD untersucht wurden.

Von den Augen, die als „Blockade“ in Gruppen oder Subgruppen in dieser Arbeit klassifiziert wurden, war bei 88,8% eine CNV bereits auf der Farbfundusfotografie zu sehen, und bei 66,6% eine Blutung in der Farbfundusfotografie erkennbar.

Darüber hinaus ermöglichte die Anzahl der Augen zusätzliche Nuancen und gemeinsame Ähnlichkeiten in einigen von den FAF-Gruppen zu beobachten, und unter dieser Gruppierung wurden noch Subgruppen vorgeschlagen. Die Gruppe „Gefleckt“ wurde in „Gefleckt“ und „Gefleckt+Blockade“ unterteilt, und die Gruppe „Bandförmig“ wurde in „Bandförmig“, „Bandförmig+Blockade“, „Bandförmig konzentrisch“ und „Bandförmig Halo“ weiter unterteilt. Da die Anzahl der Patienten in diesen Subgruppen gering ist, wurde in dieser Arbeit keine statistische Signifikanz in der nach Gruppen separat durchgeführten Ergebnisbeurteilung festgestellt. Die Existenz von gemeinsamen detektierbaren Charakteristika in den FAF-Aufnahmen von verschiedenen Patienten könnte eventuell für zukünftige Analysen von Bedeutung sein, insbesondere bei einer ausgedehnten Mustergröße.

### **5.1.4 Präsentieren sich Läsionen in FAF und NIA unterschiedlich?**

In Übereinstimmung mit anderen Arbeiten war die mittlere Intensität der NIA-Aufnahmen allgemein schwächer als die der FAF-Aufnahmen [92]. Alle Augen wurden in Mydriasis untersucht um den Pupilleneinfluss zu reduzieren. 39,8% der NIA-Aufnahmen sind als „gut“

oder „sehr gut“ bewertet worden, und 6% konnten nicht bewertet werden. Der Hauptgrund dafür war die niedrige Intensität der NIA-Aufnahmen. Bei 90,8% der Augen war die Grenze der Läsionen bei der NIA schlechter definierbar als bei der FAF. Die Interpretation der Intensitätsunterschiede zwischen den NIA- und FAF-Befunden ist schwierig. Ein wichtiger Grund dafür ist die allgemein schwächere Intensität der NIA-Aufnahmen verglichen mit den FAF-Aufnahmen (laut Delori et al von 60 bis 100 Fach schwächer) [36]. Zusätzliche Faktoren wie Medientrübungen im optischen System des Auges haben einen störenden Effekt auf die Erfassung des ausstrahlenden Signals bei der FAF- so wie bei der NIA-Aufnahme und spielen eine Rolle in der Interpretation der Intensität. Dies erschwert objektive quantitative Intensitätsmessungen der Autofluoreszenz [36]. Eine Methodenentwicklung zum quantitativen Intensitätsvergleich der NIA- und FAF-Läsionen war nicht Ziel dieser Arbeit, deshalb wurde der Vergleich zwischen NIA- und FAF-Intensitäten auf qualitativen, auf dem gleichen Bildschirm wahrnehmbaren Unterschieden basiert.

Bei 51,35% der Augen war die NIA-Läsionsfläche größer als die entsprechende FAF-Läsionsfläche. Andererseits war bei allen Augen die durchschnittliche FAF-Läsionsfläche (16,97 mm<sup>2</sup>) größer als die durchschnittliche NIA-Läsionsfläche (16,17 mm<sup>2</sup>), obwohl der Unterschied nicht statistisch signifikant war (Tab. 4). Kellner et al haben die Fläche von NIA- und FAF-Läsionen bei Patienten mit hereditären Netzhautdystrophien verglichen und dokumentierten größere NIA-Läsionen als die korrespondierenden FAF-Läsionen [37]. Bemerkenswert in der vorliegenden Arbeit ist, dass bei den 51,35% der Augen, bei denen die NIA-Läsionsfläche größer war, der Durchschnittswert der NIA-Läsionsflächen 14,91 mm<sup>2</sup> betrug, verglichen mit einem Durchschnittswert der FAF-Läsionsflächen von 11,78 mm<sup>2</sup>. Bei den restlich untersuchten 48,65% der Augen, bei denen die FAF-Läsionsfläche größer war, lag der Durchschnittswert der NIA-Läsionsflächen bei 17,52 mm<sup>2</sup>, verglichen mit einem Durchschnittswert der FAF-Läsionsflächen von 22,60 mm<sup>2</sup>. Damit lässt sich auf der einen Seite das Ergebnis der Durchschnittswerte der NIA- und FAF-Läsionsflächen bei allen Augen erklären und auf der anderen Seite unterstützt es die Hypothese, dass NIA eher bei den kleinen Läsionen eine größere Fläche als FAF wiedergibt. Zur Bestätigung dieser Hypothese können die Daten in kleinen und großen Läsionsflächen unterteilt werden, wobei hierfür die gemessene FAF-Läsionsfläche sowie deren Mittelwert (16.97 mm<sup>2</sup>) als Grenze benutzt wird. Bei einer solchen Unterteilung ist für die Gruppe der kleinen Läsionsflächen die NIA-Läsionsfläche in 72,5% der Fälle größer als die entsprechenden FAF-Läsionsfläche mit einem Mittelwert von jeweils 11,03 mm<sup>2</sup> (NIA) und 9,34 mm<sup>2</sup> (FAF). Der durchschnittliche Visus, postoperativer Visus und Visusentwicklung sind bei

dieser Gruppe jeweils 0,228; 0,367 und 0,687. Die zweite Gruppe der großen Läsionsflächen weist den umgekehrten Vergleich auf. In dieser Gruppe ist die FAF-Läsionsfläche in 72,7% der Fälle größer als die entsprechende NIA-Läsionsfläche mit einem Mittelwert von jeweils 26,21 mm<sup>2</sup> (FAF) und 22,38 mm<sup>2</sup> (NIA). Für diese Gruppe waren der durchschnittliche Visus, postoperativer Visus und Visusentwicklung jeweils 0,226; 0,261 und 0,145. Nach diesen Ergebnissen haben die Patienten mit kleineren Läsionen eine höhere prä-, postoperative Sehschärfe und einen höheren Therapiegewinn.

Die Richtung der Autofluoreszenz bei den FAF und NIA war gegensätzlich bei 52,63% der Augen. Das heißt, dass das gleiche Anteil oder die ganze Läsion eines Patienten sich als niedrig fluoreszent bei der NIA und erhöht fluoreszent bei der FAF oder umgekehrt darstellt (*Abb. 4.19*). Dies unterstützt die Hypothese, dass die FAF und NIA selektiv verschiedene pathophysiologische Prozesse in Melanin- und Lipofuszin-Stoffwechsel detektieren können.

### **5.1.5 Besteht ein Unterschied in der Fläche der Läsionen gemessen mit Autofluoreszenztechniken vs. FAG?**

Der Durchschnittswert der fFAG-Läsionsfläche war der kleinste Wert von allen analysierten Variablen. In einer Gruppe von Patienten mit exsudativen AMD ist häufig zu erwarten, dass aufgrund der Leckage der CNV am Rand der Läsionen die sFAG-Läsionsfläche größer wird als die durchschnittliche fFAG-Läsionsfläche. Ein überwiegender Phänotyp „CNV“ bei den Farbfotos (45%) wurde bei den Patienten mit exsudativer AMD festgestellt, die in der FAG eine mindestens teilweise klassische CNV zeigten. Bei den restlichen Patienten handelt es sich um eine okkulte AMD, die durch die FAG bewiesen wurde.

Die durchschnittliche sFAG-Läsionsfläche war nicht signifikant kleiner als die FAF- und NIA-Fläche (*Tab. 4*). Jedoch die Tatsache, dass die NIA- und FAF-Läsionsflächen durchschnittlich größer als die FAG-Läsionsflächen sind, zeigt, dass die Autofluoreszenzuntersuchung RPE-Veränderungen in der Läsionsgrenze detektieren kann, welche in der FAG nicht sichtbar sind.

#### **5.1.5.1 Spielt die Vorbehandlung mit Anti-VEGF Medikamenten eine Rolle bei der Fläche der Läsionen?**

Der Einschluss von 26 vorbehandelten Patienten ermöglicht eine getrennte Analyse der Daten, um festzustellen, ob die vorige Behandlung den Befund beeinflusst.

Bei den vorbehandelten Patienten sind die Unterschiede zwischen den FAF- und sFAG-Läsionsflächen, und zwischen den NIA- und FAF-Werten signifikant, bzw. die FAF-Werte waren statistisch größer als die sFAG- und NIA-Werte (*Tab. 5*). Diese Ergebnisse unterstützen die Beobachtung, dass die sFAG-Fläche der Läsionen von Patienten mit AMD kleiner werden nach der Anti-VEGF Therapie, insbesondere durch Reduzierung der Exsudationsfläche, der Fläche von subretinalen Flüssigkeit und der zentralen Makuladicke [13]. Da abnormale Veränderungen in der FAF grundsätzlich einem geschädigten RPE entsprechen und diese Schäden -soweit bekannt- permanent sind, ist mit einer Abnahme der FAF-Läsionsfläche nach der Therapie nicht zu rechnen. Ob die Reduzierung der Läsionsfläche bei der NIA der Grund für einen signifikanten Unterschied zwischen den NIA- und FAF-Werten ist, ist zum jetzigen Zeitpunkt unklar.

Bei der Analyse in der Tabelle (*Tab. 5*) erkennt man, dass die sFAG-Werte in der vorbehandelten Gruppe kleiner sind als in der Gruppe nicht behandelter Patienten. Nach der Erfahrung in der Behandlung der exsudativen AMD mit Anti-VEGF Medikamenten wird das Volumen der sFAG-Läsionen kleiner als mit Placebo [73], vor allem wegen der Exsudationsverminderung der Spätphase. Diese Beobachtung ist konsistent mit den hier vorgestellten Ergebnissen.

### **5.1.6 Besteht eine Korrelation der NIA-Fläche mit der FAF- und FAG-Fläche? Korrelieren die NIA-Muster mit den FAF-Mustern? Korrelieren die NIA-, FAF- und FAG-Flächen mit der Sehschärfe?**

Eine starke, statistisch signifikante und positive Korrelation zwischen der Läsionsfläche in NIA, FAF, fFAG und sFAG wurde festgestellt. Die positive Korrelation, gemessen mit dem Pearson Koeffizient, bedeutet einen gleichsinnigen Zusammenhang zwischen den analysierten Variablen. Wenn der Wert einer Variable steigt, steigt der Wert der anderen Variable ebenfalls. Laut diesem Ergebnis scheinen die Autofluoreszenzuntersuchungen eine neue, nicht-invasive und konsistente Methode zu sein, um die Läsionsfläche von exsudativen Veränderungen abzugrenzen.

37 Patienten mit auswertbaren NIA- und FAF-Bildern (47,44%) wurden in beiden Untersuchungen in der gleichen Mustergruppe klassifiziert. Bei diesen Ergebnissen kann man festhalten, dass bei fast der Hälfte der Patienten eine Korrespondenz zwischen den FAF- und NIA-Befunde zu finden war. Die Tatsache, dass etwas mehr als die andere Hälfte der Patienten in verschiedenen Gruppen klassifiziert worden sind, zeigt, dass die beiden Verfahren verschiedene Autofluoreszenzcharakteristika hervorheben, und sich daher ergänzen.

Eine negative Korrelation zwischen Visus und FAF-Läsionsfläche und zwischen Visus und Alter ist zusätzlich festgestellt worden ( $p < 0,001$ ). Dieser Zusammenhang zwischen den beiden Variablen bedeutet, dass je älter der Patient ist, desto geringer ist der Visus, und je größer die FAF-Läsionen sind, desto weniger ist die Sehschärfe. Eine negative Korrelation zwischen Visus und fFAG lässt sich bei einem Signifikanzniveau von 95% ( $p < 0,05$ ) nachweisen. D.h. je größer die fFAG-Läsionen sind, desto niedriger ist die Sehschärfe. Laut der ANCHOR Studie sind ebenfalls junge Patienten, Patienten mit kleinen FAG-Läsionen und mit einem guten Anfangsvisus diejenigen mit der besten Visusprognose [37].

### **5.1.7 Gehen die NIA-Veränderungen den FAF-Veränderungen in der Zeit voraus?**

Kellner et al haben die NIA- und FAF-Veränderungen bei Patienten mit hereditären Netzhautdystrophien untersucht, und die Hypothese aufgestellt, dass bei einigen Erkrankungen wie Morbus Stargardt die NIA-Veränderungen den FAF-Veränderungen vorausgehen [37].

Nach vorigen Studien der Autofluoreszenz der CNV bei AMD konnte man häufig ein intaktes RPE bei FAF feststellen, was darauf hindeutet, dass die CNV vom Lipofuszinstoffwechsel unabhängig ist [15,52]. Diese Hypothese würde erklären, warum einige AMD Patienten eventuell einen normalen FAF-Befund und einen pathologischen NIA-Befund zeigen könnten.

Die hier zugrunde liegende Stichprobe besteht aus Patienten mit exsudativen AMD, bei denen alle NIA- und FAF-Aufnahmen ein pathologischer Befund mit Arealen von erhöhter oder verminderter Fluoreszenz bestand.

Die allgemeine Fläche von den FAF- und NIA-Läsionen ist kein Entscheidungskriterium, ob die größere Läsionen zuerst entstanden sind als die korrespondierenden kleineren Läsionen. Es kann mit den vorhandenen Daten nicht beurteilt werden, ob sich FAF- oder NIA-Läsionen zuerst entwickelt haben.

## 6 Zusammenfassung

Das konfokale Scanning-Laser-Ophthalmoskop (HRA-2) ermöglicht die Untersuchung der Autofluoreszenz des Lipofusins und des Melanins im RPE mit zwei verschiedenen Techniken, der Fundusautofluoreszenz (FAF) und der Nah-Infrarot-Autofluoreszenz (NIA).

Ziele dieser Arbeit sind eine prospektive systematische Bildersammlung und eine vergleichende Analyse verschiedener bildgebender Verfahren des Augenhintergrundes bei Patienten mit exsudativer AMD. Dafür wurden Farbbilder, frühe FAG, späte FAG, FAF und NIA bei 83 Augen von 74 Patienten aufgenommen und in Bezug auf die Darstellung der Läsion verglichen. Darüber hinaus wird die Fragestellung untersucht, inwieweit die NIA-Veränderungen klassifizierbar sind, und ob sich verschiedene NIA-Muster in der Visusprognose unterscheiden.

Die NIA-Befunde bei Patienten mit exsudativer AMD konnten in 6 Muster klassifiziert werden: „Verzweigt“, „Geographisch“, „Ring“, „Gefleckt“, „Bandförmig“ und „Gefleckt+Bandförmig“. Der Vergleich zwischen den mit sFAG, FAF und NIA gemessenen Läsionsflächen ergab keinen statistisch signifikanten Unterschied. Die NIA-Läsionsfläche war jedoch größer als die korrespondierende FAF-Läsionsfläche bei Patienten mit kleinen Läsionen. Deshalb ist die NIA ein besonders geeignetes Verfahren in der Untersuchung von Patienten mit beginnender exsudativer AMD. Die NIA-Muster „Verzweigt“ und „Bandförmig“ hatten den höchsten bzw. niedrigsten Visus bei der initialen Untersuchung, und die Muster „Gefleckt+Bandförmig“ und „Geographisch“ zeigten den höchsten bzw. niedrigsten Visusanstieg nach Anti-VEGF Therapie. Patienten mit zentral reduzierter NIA-Intensität zeigten einen schlechteren Visusanstieg mit Anti-VEGF Therapie verglichen mit den Patienten mit einer nicht reduzierten zentralen NIA. Diese Kriterien können in der Kandidatenauswahl und Patientenberatung für die Anti-VEGF Therapie bedeutend sein.

Die Unterschiede zwischen FAF- und NIA-Befunden weisen darauf hin, dass die NIA von der FAF unabhängige Informationen über die Integrität des RPE liefert, zum Verständnis der Pathophysiologie der AMD beiträgt und neue prognostische Faktoren ergibt.

## 7 Literaturverzeichnis

- 1 Akiba J, Ishiko S, Hikichi T, et al. Imaging of epiretinal membranes in macular holes by scanning laser ophthalmoscopy. *Am J Ophthalmol* 1996;121:177-80.
- 2 AMD Alliance International. About AMD: an overview, 2004. (Accessed April 5, 2008, at [http://www.amdcanada.com/images/content/3\\_4\\_1\\_fig2.jpg](http://www.amdcanada.com/images/content/3_4_1_fig2.jpg)).
- 3 Bellmann C, Rubin GS, Kabanarou SA, et al. Fundus autofluorescence imaging compared with different confocal scanning laser ophthalmoscopes. *Br J Ophthalmol* 2003;87:1381-6.
- 4 Bellmann C, Holz FG, Schapp O, et al. Topographie der Fundusautofluoreszenz mit einem neuen konfokalen Scanning-Laser-Ophthalmoskop. *Ophthalmologie* 1997;94:385-91.
- 5 Bergeron-Sawitzke J, Gold B, Olsch A, et al. Multilocus analysis of age-related macular degeneration. *Eur J Hum Genet* 2009;Epub ahead of print.
- 6 Bindewald A, Bird AC, Dandekar SS, et al. Classification of fundus autofluorescence patterns in early age-related macular disease. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2005;46:3309-14.
- 7 Bindewald A, Jorzik JJ, Roth F, et al. cSLO-Fundusautofluoreszenz-Imaging. Methodische Weiterentwicklungen der konfokalen Scanning-Laser-Ophthalmoskopie. *Ophthalmologie* 2005;102:259-64.
- 8 Bindewald A, Schmitz-Valckenberg S, Jorzik JJ, et al. Classification of abnormal fundus autofluorescence patterns in the junctional zone of geographic atrophy. *Br J Ophthalmol* 2005;89:874-8.
- 9 Bird AC, Bressler NM, Bressler SB, et al. An International Classification and grading system for age-related maculopathy and age-related macular degeneration. The International ARM Epidemiological Study Group. *Surv Ophthalmol* 1995;39:367-74.
- 10 Boulton M, Docchio F, Dayhaw-Barker P, et al. Age-related changes in the morphology, absorption and fluorescence of melanosomes and lipofuscin granules of the retinal pigment epithelium. *Vision Res* 1990;30:1291-303.
- 11 Bui TV, Han Y, Radu RA, et al. Characterization of native retinal fluorophores involved in biosynthesis of A2E and lipofuscin-associated retinopathies. *J Biol Chem* 2006;281:18112-9.
- 12 Cideciyan AV, Swider M, Aleman TS, et al. Reduced-illuminance autofluorescence imaging in ABCA4-associated retinal degenerations. *J Opt Soc Am A* 2007;24:1457-67.

- 13 Costagliola C, Semeraro F, Cipollone U, et al. Changes in neovascular choroidal morphology after intravitreal bevacizumab injection: prospective trial on 156 eyes throughout 12-month follow-up. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2009;Epub ahead of print.
- 14 Dandekar SS, Bird AC. Age-Related Macular Degeneration IV - Choroidal Neovascularization (CNV). In: Holz FG, Schmitz-Valckenberg S, Spaide RF, et al, eds. *Atlas of fundus autofluorescence imaging*. Springer, Berlin-Heidelberg 2007;Kapitel 14:179-97.
- 15 Dandekar SS, Jenkins SA, Peto T, et al. Autofluorescence imaging of choroidal neovascularisation due to age-related macular degeneration. *Arch Ophthalmol* 2005;123:1507-13.
- 16 De S, Sakmar TP. Interaction of A2E with model membranes. Implications to the pathogenesis of age-related macular degeneration. *J Gen Physiol* 2002;120:147-57.
- 17 Delori F, Keilhauer C, Sparrow JR, et al. Origin of Fundus Autofluorescence. In: Holz FG, Schmitz-Valckenberg S, Spaide RF, et al, eds. *Atlas of fundus autofluorescence imaging*. Springer, Berlin-Heidelberg 2007;Kapitel 2:17-29.
- 18 Delori FC, Fleckner MR, Goger DG, et al. Autofluorescence distribution associated with drusen in age-related macular degeneration. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2000;41:496-504.
- 19 Delori FC, Goger DG, Dorey CK. Age-related accumulation and spatial distribution of lipofuscin in RPE of normal subjects. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2001;42:1855-66.
- 20 Feeney L. Lipofuscin and melanin of human retinal pigment epithelium. Fluorescence, enzyme cytochemical, and ultrastructural studies. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1978;17:583-600.
- 21 Finnemann SC, Leung LW, Rodriguez-Boulan E. The lipofuscin component A2E selectively inhibits phagolysosomal degradation of photoreceptor phospholipid by the retinal pigment epithelium. *Pro Natl Acad Sci USA* 2002;99:3842-47.
- 22 Gibbs D, Cideciyan AV, Jacobson SG, et al. Retinal pigment epithelium defects in humans and mice with mutations in MYO7A: imaging melanosome-specific autofluorescence *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2009;Epub ahead of print.
- 23 Gündüz K, Pulido JS, Pulido JE, et al. Correlation of fundus autofluorescence with fluorescein and indocyanine green angiography in choroidal melanocytic lesions. *Retina* 2008;Epub ahead of print.
- 24 Ham WTJ, Mueller HA, Sliney DH. Retinal sensitivity to damage from short wavelength light. *Nature* 1976;260:153-5.

- 25 Hee MR, Baumal CR, Puliafito CA, et al. Optical coherence tomography of age-related macular degeneration and choroidal neovascularisation. *Ophthalmology* 1996;103:1260-70.
- 26 Heimes B, Lommatzsch A, Zeimer M, et al. Foveal RPE autofluorescence as a prognostic factor for anti-VEGF therapy in exudative AMD. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2008;246:1229-34.
- 27 Holz FG, Bellmann C, Margaritidis M, et al. Patterns of increased in vivo fundus autofluorescence in the junctional zone of geographic atrophy of the retinal pigment epithelium associated with age-related macular degeneration. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 1999;237:145-52.
- 28 Holz FG, Bellmann C, Staudt S, et al. Fundus autofluorescence and development of geographic atrophy in age-related macular degeneration. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2001;42:1051-55.
- 29 Holz FG, Bindewald-Wittich A, Fleckenstein M, et al. Progression of geographic atrophy and impact of fundus autofluorescence patterns in age-related macular degeneration. *Am J Ophthalmol* 2007;143:463-72.
- 30 Holz FG, Fleckenstein M, Schmitz-Valckenberg S, et al. Evaluation of Fundus Autofluorescence Images. In: Holz FG, Schmitz-Valckenberg S, Spaide RF, et al, eds. *Atlas of fundus autofluorescence imaging*. Springer, Berlin-Heidelberg 2007;Kapitel 8:71-6.
- 31 Holz FG. Autofluoreszenz-Imaging der Makula. *Ophthalmologe* 2001;98:10-8.
- 32 Inhoffen W. Angiografie. In: Kellner U, Wachtlin J, eds. *Retina. Diagnostik und Therapie der Erkrankungen des hinteren Augenabschnitts*. Thieme, Stuttgart 2008;Kapitel 2.2.3:33-45.
- 33 Jorzik JJ, Bindewald A, Dithmar S, et al. Digital simultaneous fluorescein and indocyanine green angiography, autofluorescence, and red-free imaging with a solid-state laser-based confocal scanning laser ophthalmoscope. *Retina* 2005;25:405-16.
- 34 Kaiser PK, Brown DM, Zhang K, et al. Ranibizumab for predominantly classic neovascular age-related macular degeneration: subgroup analysis of first-year ANCHOR results. *Am J Ophthalmol* 2007;144:850-7.
- 35 Kayatz P, Thurmann G, Luther TT, et al. Oxidation causes melanin fluorescence. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2001;42:241-6.
- 36 Keilhauer CN, Delori FC. Near-infrared autofluorescence imaging of the fundus: visualization of ocular melanin. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2006;47:3556-64.

- 37 Kellner S. Autofluoreszenz von Lipofuszin und Melanin im retinalen Pigmentepithel bei Patienten mit hereditären Netzhautdegenerationen. Medizinische Fakultät. Charité, Universitätsmedizin Berlin 2008.
- 38 Kellner S, Kellner U, Weber BH, et al. Lipofuscin- and melanin-related fundus autofluorescence in patients with ABCA4-associated retinal dystrophies. *Am J Ophthalmol* 2009;147:895-902.
- 39 Kellner U. Fundus Autofluorescence. In: Heimann H, Kellner U, Foerster MH, eds. *Atlas of Fundus Angiography*. Thieme, Stuttgart 2006;Kapitel 1.3:14-7.
- 40 Kellner U. Retinale Tomografie und Topografie, OCT. In: Kellner U, Wachtlin J, eds. *Retina. Diagnostik und Therapie der Erkrankungen des hinteren Augenabschnitts*. Thieme, Stuttgart 2008;Kapitel 2.2.4:45-9.
- 41 Kellner U, Kellner S. Autofluoreszenz. In: Kellner U, Wachtlin J, eds. *Retina. Diagnostik und Therapie der Erkrankungen des hinteren Augenabschnitts*. Thieme, Stuttgart 2008;Kapitel 2.2.2:27-33.
- 42 Kellner U, Kellner S. Klinik und diagnostik der Zapfen-Dystrophien. *Ophthalmologie* 2009;106:99-108.
- 43 Kellner U, Kellner S, Weber BH, et al. Lipofuscin- and melanin-related fundus autofluorescence visualize different retinal pigment epithelial alterations in patients with retinitis pigmentosa. *Eye* 2008;Epub ahead of print.
- 44 Kellner U, Kellner S, Weinitz S. Chloroquine retinopathy: lipofuscin- and melanin-related fundus autofluorescence, optical coherence tomography and multifocal electroretinography. *Doc Ophthalmol* 2008;116:119-27.
- 45 Kellner U, Kellner S, Weinitz S. Fundus autofluorescence (488 nm) and near-infrared-autofluorescence (787 nm) visualize different retinal pigment epithelium alterations in patients with age-related macular degeneration. *Retina* 2009;Epub ahead of print.
- 46 Kennedy CJ, Rakoczy PE, Constable IJ. Lipofuscin of the retinal pigmente epithelium: a review. *Eye* 1995;5:763-71.
- 47 Leibowitz H, Krueger DE, Maunder LR, et al. The Framingham Eye Study monograph: an ophthalmological and epidemiological study of cataract, glaucoma, diabetic retinopathy, macular degeneration and visual acuity in a general population of 2631 adults, 1973-1975. *Surv Ophthalmol* 1984;25:335-610.
- 48 Lizasoain L, Joaristi L. *Gestión y análisis de datos con SPSS*. Thompson, Madrid 2003.

- 49 Lois N, Owens SL, Coco R, et al. Fundus autofluorescence in patients with age-related macular degeneration and high risk of visual loss. *Am J Ophthalmol* 2002;133:341-9.
- 50 Machemer R, Norton EW, Gass JD, et al. Pseudofluorescence- a problem in interpretation of fluorescein angiograms. *Am J Ophthalmol* 1970;70:1-10.
- 51 Manivannan A, Kirkpatrick JN, Sharp PF, et al. Clinical investigation of an infrared digital scanning laser ophthalmoscope. *Br J Ophthalmol* 1994;78:84-90.
- 52 McBain VA, Townend J, Lois N. Fundus autofluorescence in exudative age-related macular degeneration. *Br J Ophthalmol* 2007;91:491-6.
- 53 MedOCT-Gruppe, Zentrum für biomedizinische Technik und Physik, Med. Univ. Wien, Österreich, 2005. (Accessed April 5, 2008, at <http://de.wikipedia.org/wiki/Datei:Interferometer-Prinzip.>)
- 54 Noël A, Jost M, Lambert V, et al. Anti-angiogenic therapy of exudative age-related macular degeneration: current progress and emerging concepts. *Trends Mol Med* 2007;13:345-52.
- 55 Okamoto N, Tobe T, Hackett SF, et al. Transgenic mice with increased expression of vascular endothelial growth factor in the retina: a new model of intraretinal and subretinal neovascularisation. *Am J Pathol* 1997;151:281-91.
- 56 Peters S, Lamah T, Kokkinou D, et al. Melanin protects choroidal blood vessels against light toxicity. *Z Naturforsch C* 2006;61:427-33.
- 57 Piccolino FC, Borgia L, Zinicola E, et al. Pre-injection fluorescence in indocyanine green angiography. *Ophthalmology* 1996;103:1837-45.
- 58 Radu RA, Han Y, Bui TV, et al. Reductions in serum vitamin A arrest accumulation of toxic retinal fluorophores: a potential therapy for treatment of lipofuscin-based retinal diseases. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2005;46:4393-401.
- 59 Sahni J, Stanga P, Wong D, et al. Optical coherence tomography in photodynamic therapy for subfoveal choroidal neovascularisation secondary to age related macular degeneration: a cross sectional study. *Br J Ophthalmol* 2005;89:316-20.
- 60 Sarks S, Cherepanoff S, Killingsworth M, et al. Relationship of basal laminar deposit and membranous debris to the clinical presentation of early age-related macular degeneration. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2007;48:968-77.
- 61 Sarna T. Properties and function of the ocular melanin- a photobiophysical view. *J Photochem Photobiol B* 1992;12:215-58.

- 62 Sawa M, Gomi F, Tsujikawa M, et al. Abnormal fundus autofluorescence patterns in myopic choroidal neovascularisation. *Br J Ophthalmol* 2008;92:1236-40.
- 63 Sawa M, Ober MD, Freund KB, et al. Fundus autofluorescence in patients with pseudoxanthoma elasticum. *Ophthalmology* 2006;113:814-820.
- 64 Schmitz-Valckenberg S, Bindewald-Wittich A, Fleckenstein M, et al. Age-Related Macular Degeneration II - Geographic Atrophy. In: Holz FG, Schmitz-Valckenberg S, Spaide RF, et al, eds. *Atlas of fundus autofluorescence imaging*. Springer, Berlin-Heidelberg 2007;Kapitel 12:147-63.
- 65 Schmitz-Valckenberg S, Bultmann S, Dreyhaupt J, et al. Fundus autofluorescence and fundus perimetry in the junctional zone of geographic atrophy in patients with age-related macular degeneration. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2004;45:4470-76.
- 66 Schmitz-Valckenberg S, Fitzke FW, Holz FG. Fundus Autofluorescence Imaging with the Confocal Scanning Laser Ophthalmoscope. In: Holz FG, Schmitz-Valckenberg S, Spaide RF, et al, eds. *Atlas of fundus autofluorescence imaging*. Springer, Berlin-Heidelberg 2007;Kapitel 3:31-6.
- 67 Schmitz-Valckenberg S, Helb HM, Bindewald-Wittich A, et al. Age-Related Macular Degeneration I – Early Manifestation. In: Holz FG, Schmitz-Valckenberg S, Spaide RF, et al, eds. *Atlas of fundus autofluorescence imaging*. Springer, Berlin-Heidelberg 2007;Kapitel 11:133-45.
- 68 Schmitz-Valckenberg S, Holz FG, Bird AC, et al. Fundus autofluorescence imaging. Review and perspectives. *Retina* 2008;28:385-409.
- 69 Schmitz-Valckenberg, Fleckenstein M, Göbel AP, et al. Evaluation of autofluorescence imaging with the scanning laser ophthalmoscope and the fundus camera in age-related geographic atrophy. *Am J Ophthalmol* 2008;146:183-92.
- 70 Scholl HPN, Bellman C, Dandekar SS, et al. Photopic and scotopic fine matrix mapping of retinal areas of increased fundus autofluorescence in patients with age-related maculopathy. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2004;45:574-83.
- 71 Seagle BL, Rezai KA, Kobori Y, et al. Melanin photoprotection in the human retinal pigment epithelium and its correlation with light-induced cell apoptosis. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005;102:8978-83.
- 72 Sengupta N, Caballero S, Mames RN, et al. The role of adult bone marrow-derived stem cells in choroidal neovascularisation. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2003;44:4908-13.
- 73 Shah SM, Tatlipinar S, Quinlan E, et al. Dynamic and quantitative analysis of choroidal neovascularisation by fluorescein angiography. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2006;47:5460-8.

- 74 Spaide RF. Fundus autofluorescence in age-related macular degeneration. *Ophthalmology* 2003;110:392-9.
- 75 Sparrow JR. Lipofuscin of the Retinal Pigment Epithelium. In: Holz FG, Schmitz-Valckenberg S, Spaide RF, et al, eds. Atlas of fundus autofluorescence imaging. Springer, Berlin-Heidelberg 2007;Kapitel 1:3-16.
- 76 Sparrow JR, Cai B, Jang YP, et al. A2E, a fluorophore of RPE lipofuscin, can destabilize membrane. *Adv Exp Med Biol* 2006;572:63-8.
- 77 Sparrow JR, Nakanishi K, Parish CA. The lipofuscin fluorophore A2E mediates blue-light induced damage to retinal pigmented epithelial cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2000;41:1981-9.
- 78 Spital G, Radermacher M, Müller C, et al. Autofluoreszenz-Charakteristika von Lipofuszinbestandteilen bei unterschiedlichen Formen der späten altersabhängigen Makuladegeneration. *Klin Monatsbl Augenheilkd* 1998;213:23-31.
- 79 Sundelin SP, Nilsson SE, Brunk UT. Lipofuscin-formation in cultured retinal pigment epithelial cells is related to their melanin content. *Free Radic Biol Med* 2001;30:74-81.
- 80 The Age-Related Eye Disease Study Research Group. The Age-Related Eye Disease Study system for classifying age-related macular degeneration from stereoscopic colour fundus photographs: the Age-Related Eye Disease Study Report Number 6. *Am J Ophthalmol* 2001;132:668-81.
- 81 Theelen T, Boon CJ, Klevering BJ, et al. Fundus autofluorescence in patients with inherited retinal diseases: patterns of fluorescence at two different wavelengths. *Ophthalmologie* 2008;105:1013-22.
- 82 Vaclavik V, Vujosevic S, Dandekar SS, et al. Autofluorescence imaging in age-related macular degeneration complicated by choroidal neovascularization. A prospective study. *Ophthalmology* 2008;115:342-6.
- 83 von Rückmann A, Fitzke FW, Bird AC. Distribution of fundus autofluorescence with a scanning laser ophthalmoscope. *Br J Ophthalmol* 1995;79:407-12.
- 84 von Rückmann A, Schmidt KG, Fitzke F, et al. Lipofuszinverteilung im retinalen Pigmentepithel. *Ophthalmologie* 1998;95:699-705.
- 85 Vujosevic S, Vaclavik V, Bird AC, et al. Combined grading for choroidal neovascularisation: colour, fluorescein angiography and autofluorescence images. *Graefe's Arch Clin Exp Ophthalmol* 2007;245:1453-60.

- 86 Wachtlin J. AMD: choroidale Neovaskularisation. In: Kellner U, Wachtlin J, eds. Retina. Diagnostik und Therapie der Erkrankungen des hinteren Augenabschnitts. Thieme, Stuttgart 2008;Kapitel 4.3:129-45.
- 87 Wang SS, Rochtchina E, Lee AJ, et al. Ten-year incidence and progression of age-related maculopathy: The Blue Mountains Eye Study. *Ophthalmology* 2007;114:92-8.
- 88 Wang Z, Dillon J, Gaillard ER. Antioxidant properties of melanin in retinal pigment epithelial cells. *Photochem Photobiol* 2006;82:474-9.
- 89 Wang Z, Keller LM, Dillon J, et al. Oxidation of A2E results in the formation of highly reactive aldehydes and ketones. *Photochem Photobiol* 2006;82:1251-7.
- 90 Webb RH, Hugues GW, Delori FC. Confocal scanning laser ophthalmoscope. *Applied Optics* 1987;26:1492-9.
- 91 Webb RH. Theoretical basis of confocal microscopy. *Methods Enzymol* 1999;307:3-20.
- 92 Weinberger AW, Lappas A, Kirschkamp T, et al. Fundus near infrared fluorescence correlates with fundus near infrared reflectance. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2006;47:3098-108.
- 93 Weiter JJ, Delori FC, Wing GL, et al. Retinal pigment epithelial lipofuscin and melanin and choroidal melanin in human eyes. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1986;27:145-52.
- 94 Wolf S, Knabben H, Keilhauer C, et al. Visualization of retinal autofluorescence in patients with age-related macular degeneration. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1996;37:21.
- 95 Yamagishi K, Ohkuma H, Itagaki T, et al. Implication of retinal pigment epithelium on experimental subretinal neovascularization in the developmental stage. *Nippon Ganka Gakkai Zasshi* 1988;92:1629-36.
- 96 Yanuzzi LA, Guyer DR, Green WR. Age-Related Macular Degeneration. In: *The Retina Atlas*. Mosby, Philadelphia 1995;Kapitel 18:199-246.
- 97 Zareba M, Szewczyk G, Sarna T, et al. Effects of photodegradation of the physical and antioxidant properties of melanosomes isolated from retinal pigment epithelium. *Photochem Photobiol* 2006;82:1024-9.
- 98 Zhou J, Jang YP, Kim SR, et al. Complement activation by photooxidation products of A2E, a lipofuscin constituent of the retinal pigment epithelium. *Pro Natl Acad Sci USA* 2006;103:16182-7.

## Danksagung

Mein herzlicher Dank gilt Herrn Prof. Dr. Ulrich Kellner für die Ermöglichung dieser Arbeit, die freundliche und umfassende Betreuung, die kritische Durchsicht des Manuskripts und seine kostbare Zeit.

Frau Silke Weinitz danke ich für die Durchführung der fotografischen Dokumentation und die Hilfestellung bei technischen Fragen. Ebenso danke ich allen Patienten, die an den Untersuchungen teilgenommen haben.

Großen Dank schulde ich meiner Freundin Dr. Birgit Böhm für ihre wertvolle Ratschläge.

Ich danke meinem „Onkel“ und „Meister“ Dr. Santiago Fuertes Lanzuela für die lehrreichsten und verrücktesten im OP verbrachten Stunden und für seine langjährige altruistische Betreuung.

Mein liebster Dank gilt meinem Mann, Dr.-Ing. Ehab Fares, für seine Geduld, seine liebevolle und bedingungslose Unterstützung und für seine ausgeglichene wissenschaftliche und menschliche Art.

Meinen Eltern, Teresa Suárez und Prof. Dr.-Ing. Fernando Torres, kann ich nicht genug danken für ihre stetige Förderung meiner Ausbildung, und nicht zuletzt, für ihre Liebe. Ihnen möchte ich diese Arbeit widmen.

## **Lebenslauf**

„Mein Lebenslauf wird aus datenschutzrechtlichen Gründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht veröffentlicht“.

## Erklärung

„Ich, Elena Torres Suárez, erkläre, dass ich die vorgelegte Dissertationsschrift mit dem Thema: **'Nah-Infrarot-Autofluoreszenz bei Patienten mit exsudativer altersabhängigen Makuladegeneration'** selbst verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt, ohne die (unzulässige) Hilfe Dritter verfasst und auch in Teilen keine Kopien anderer Arbeiten dargestellt habe.“

17.07.2009

Elena Torres Suárez