

Aus der Klinik für Augenheilkunde am Campus Virchow-Klinikum  
der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

# **Autofluoreszenz von Lipofuszin und Melanin im retinalen Pigmentepithel bei Patienten mit hereditären Netzhautdegenerationen**

zur Erlangung des akademischen Grades

Doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät

Charité – Universitätsmedizin Berlin

Von

Simone Kellner

aus Köln



Gutachter: 1. Prof. Dr. med. K. W. Rüther

2. Prof. Dr. med. D. Pauleikhoff

3. Prof. Dr. med. P. Walter

Datum der Promotion: 01.06.2008

## Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung und Zielsetzung	7
2. Anatomische, pathophysiologische und technische Grundlagen	9
2.1 Die Funktion der Netzhaut	9
2.2 Hereditäre Netzhautdegenerationen	11
2.3 Fundusautofluoreszenz	22
2.4 Nah-Infrarotfluoreszenz	26
3. Methoden und Patienten	28
3.1 Methoden	28
3.1.1. Technische Voraussetzungen	28
3.1.2 Einteilung der Läsionen	29
3.2 Normalgruppe	31
3.3 Patienten mit hereditären Netzhautdegenerationen	32
4. Ergebnisse	37
5. Diskussion	55
6. Zusammenfassung	64
7. Literatur	65
8. Anhang	71
8.1. Danksagung	71
8.2. Lebenslauf	72
8.3. Erklärung	73



## Abkürzungsverzeichnis

FAF	Fundusautofluoreszenz
NIA	Nah-Infrarotautofluoreszenz
RPE	Retinales Pigmentepithel
ERG	Elektroretinogramm
mfERG	Multifokales Elektroretinogramm
EOG	Elektrookulogramm
PD	Papillendurchmesser
CNV	Choroidale Neovaskularisation

# 1. Einleitung

Die hereditären Netzhautdegenerationen gehören zu den selteneren Augenerkrankungen. Sie haben für den betroffenen Patienten meist weit reichende Konsequenzen.

Progredienter Visusverlust, Gesichtsfeldeinschränkungen, Blendphänomene oder Erblindung führen zu einschneidenden Veränderungen sowohl der beruflichen als auch der privaten Lebensumstände.<sup>1</sup>

Obwohl es sich um eine Gruppe von Erkrankungen mit klinisch heterogener Manifestation handelt, können gleiche oder ähnliche genetische Veränderungen die Ursache sein.

Zu dieser Gruppe zählen zum Beispiel die Retinitis pigmentosa, die Chorioideremie, die Atrophia gyrata, die vitelliforme Maculadegeneration, die Zapfen- und Stäbchen-Dystrophien, die Musterdystrophien, der Morbus Stargardt und andere.

Eine kausale Therapie ist bis jetzt bei keiner dieser Erkrankungen möglich; bei der Atrophia gyrata, eine durch einen Mangel an Ornithinaminotransferase bedingte chorioretinale Veränderung, dem Refsum-Syndrom und der Abetalipoproteinämie sind symptomatische Behandlungen Erfolg versprechend.

Trotz der in den meisten Fällen fehlenden Therapieoptionen ist eine frühe und möglichst genaue Diagnosestellung sinnvoll. Für den Patienten ist die genaue Kenntnis seiner Erkrankung nicht nur aus psychologischen Gründen sehr wichtig, auch eine Beratung hinsichtlich der Prognosen über den weiteren Verlauf der Erkrankung und eine eventuelle Vererbbarkeit sind erst nach Diagnosestellung möglich.<sup>2</sup>

Die bisherige Diagnostik der hereditären Netzhautdegenerationen umfasste neben der Ophthalmoskopie Gesichtsfelduntersuchungen, ERG und EOG sowie die Fluoreszenzangiographie.<sup>3-5</sup>

In den letzten Jahren sind die Möglichkeiten der Diagnostik der Retina mittels neuer Methoden wie dem multifokalem Elektroretinogramm,<sup>4, 6, 7</sup> speziellen elektrophysiolo-

gischen Testverfahren<sup>8</sup> und nicht-invasiver Methoden wie optischer Kohärenztomographie<sup>9-11</sup>, der in der Entwicklung befindlichen optischen Netzhauttopographie, Fundusautofluoreszenz<sup>12-19</sup> und ganz neu auch der Nah-Infrarotautofluoreszenz<sup>20, 21</sup> deutlich verbessert worden.

## **Zielsetzung**

Ziel dieser Arbeit ist die Untersuchung folgender Fragestellungen:

1. Sind Veränderungen der Nah-Infrarotautofluoreszenz im untersuchten Patientengut nachweisbar?
2. Präsentieren sich Läsionen in Fundusautofluoreszenz und Nah-Infrarotautofluoreszenz unterschiedlich?
3. Gibt es krankheitsspezifische Veränderungen der Nah-Infrarotautofluoreszenz?
4. Inwieweit kann die Nah-Infrarotautofluoreszenz beim Verständnis der pathophysiologischen Prozesse helfen?

## 2. Anatomische, pathophysiologische und technische Grundlagen

In den folgenden Abschnitten werden die anatomische Struktur der Netzhaut, physiologische und pathologische Prozesse, erkrankungsspezifische Veränderungen der hereditären Netzhautdegenerationen sowie die technischen Grundlagen der Untersuchungsmethoden, soweit sie zum Verständnis wichtig sind, beschrieben.

### 2.1 Die Funktion der Netzhaut

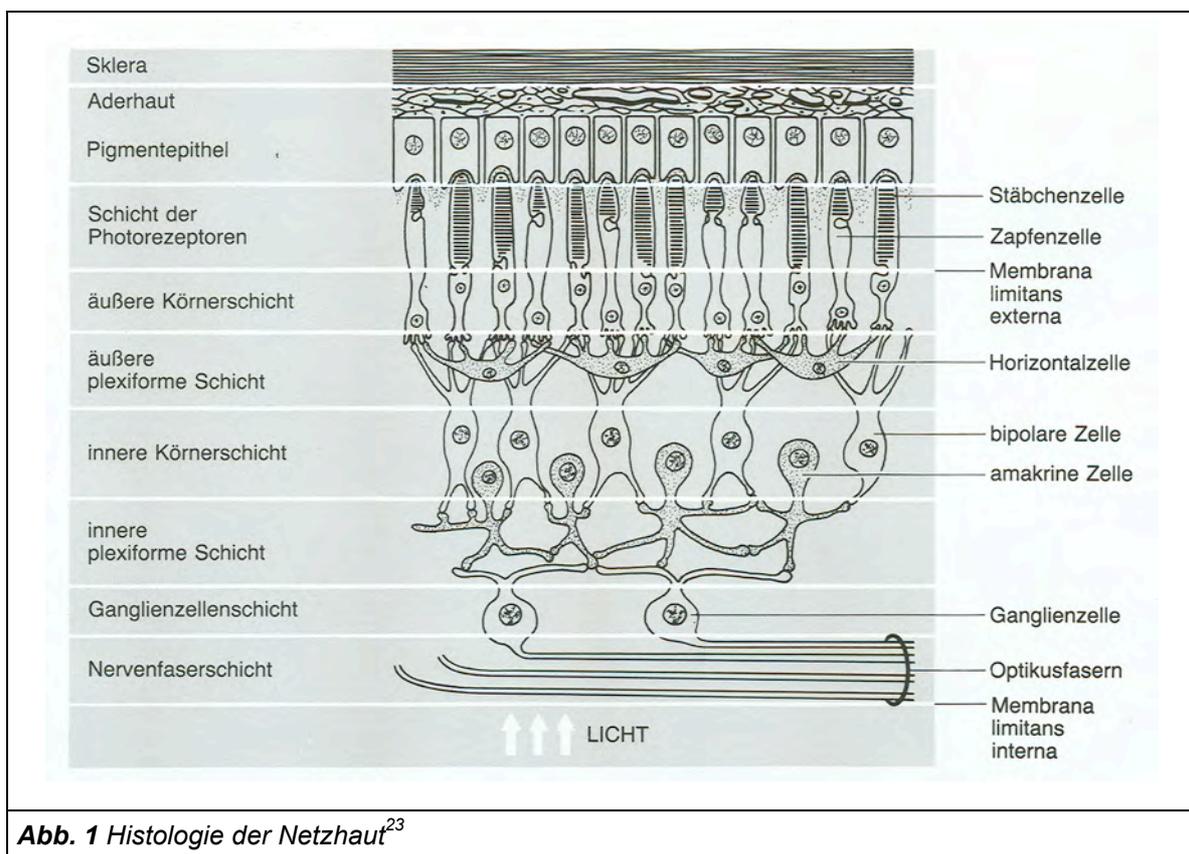
Die Netzhaut des menschlichen Auges ist entwicklungsgeschichtlich ein vorgeschobener Teil des Gehirns, die Photorezeptoren sind umgewandelte Ependymzellen. Die Photorezeptoren teilen sich auf in Stäbchen und Zapfen, insgesamt etwa 110 Millionen Stäbchen und etwa 6 Millionen Zapfen pro Auge. Die Zapfen finden sich in hoher Dichte in und um die Fovea und sind für das photopische Sehen (Leuchtdichtebereich vom hellen Sonnenlicht bis zur Dämmerung =  $10^6 - 10^1$  cd/m<sup>2</sup>) zuständig. Die Stäbchen ermöglichen das skotopische Sehen, von der Dämmerung bis zu dunkler Nacht im Bereich von  $10^{-2}$  bis  $10^{-5}$  cd/m<sup>2</sup>. Hier werden zwar Helligkeitswerte unterschieden, aber keine Farben mehr wahrgenommen. Stäbchen finden sich noch in der parafoveolären Region, allerdings nicht mehr in der Fovea selbst. Daher sieht man sehr schwache Lichtreize nur noch mit der parafoveolären Region, nicht mehr mit dem eigentlichen Zentrum.<sup>22, 23</sup>

Die Außensegmente der Rezeptorzellen bestehen aus Membranscheibchen (Stäbchen) bzw. Membraneinfaltungen (Zapfen), die Moleküle der Sehfärbstoffe sind Rhodopsin in den Stäbchen und die Jodopsine für die Zapfen. Der komplexe Prozess der Phototransduktion beginnt mit dem Zerfall dieser Sehfärbstoffe und schließt sich mit der Schließung der Na-Kanäle in der Membran der Rezeptoraußensegmente und der Hyperpolarisation des Membranpotenzials der Photorezeptoren.

Die Zapfen und Stäbchen bilden zusammen mit dem Pigmentepithel die äußerste Netzhautschicht, die der Aderhaut zugewandt ist (Abb. 1). Zum Glaskörper hin folgen die äußere Körnerschicht mit den Zellkörpern der Photorezeptoren, die äußerer plexiforme Schicht mit den Horizontalzellen; die innere Körnerschicht mit den bipolaren und amakrinen Zellen, die innere plexiforme Schicht und die Ganglienzellschicht. Zwischen den einzelnen Schichten bestehen multiple synaptische Verschaltungen.<sup>22,</sup>

23

Die pathologischen Veränderungen bei den hereditären Netzhautdegenerationen laufen sowohl in den Zapfen, als auch den Stäbchen und im RPE ab.



**Abb. 1** Histologie der Netzhaut<sup>23</sup>

## 2.2 Hereditäre Netzhautdegenerationen

Im folgenden Überblick über die hereditären Netzhautdegenerationen werden die für das untersuchte Patientengut relevanten Erkrankungen in ihren wichtigsten Aspekten charakterisiert.

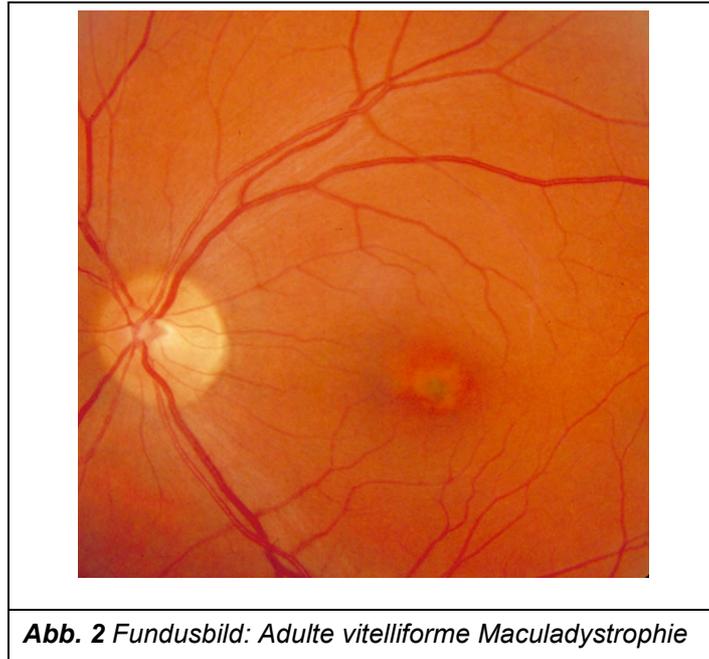
### Adulte vitelliforme Maculadystrophie

Bei der adulten vitelliformen Maculadystrophie handelt es sich um eine häufige Maculadystrophie des Erwachsenenalters.<sup>16, 24, 25</sup> Verursacht wird sie zum Teil durch eine Mutation im Peripherin (RDS) Gen<sup>26, 27</sup>, seltener auch im VMD2-Gen<sup>28</sup>. Für die Erkrankung konnte eine autosomal dominante Vererbung mit variabler Expression nachgewiesen werden.

In der Fovea kommt es zu fokalem Verlust von Photorezeptoren und Pigmentepithel mit Anhäufungen von Pigment und eosinophilem, PAS-positiven Material (Abb. 2). Der Beginn der Beschwerden liegt meist in der 4. Lebensdekade, kann jedoch auch erst im höheren Alter (> 70 Jahre) auftreten. Ophthalmoskopisch findet man in der Fovea eine kleine gelbliche Läsion von meist etwa 1/3 Papillendurchmesser, also kleiner als beim klinisch ähnlich imponierenden Morbus Best. Die Progression ist meist nur langsam, so dass Lesefähigkeit und Arbeitsfähigkeit häufig lange erhalten bleiben.

Im mfERG zeigt sich in den meisten Fällen eine zentrale Amplitudenreduktion, nur manchmal ist das mfERG normal. Das EOG ist im Gegensatz zum Morbus Best im Allgemeinen normal, nur selten zeigt sich eine gewisse Amplitudenreduktion.

Eine kausale Therapie existiert nicht, je nach Grad der Visusminderung können vergrößernde Sehhilfen sinnvoll sein.

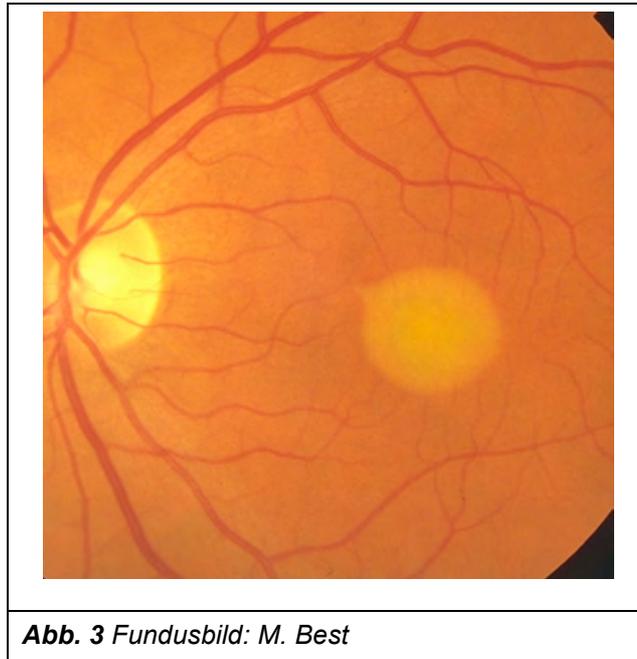


## Morbus Best

Der Morbus Best ist ebenfalls zu den häufigen Maculadystrophien zu rechnen.<sup>11, 15, 29</sup> Es handelt sich kausal um eine Mutation im VMD2-Gen, die autosomal-dominant mit variabler Penetranz vererbt wird. Hier kommt es zu einer abnormalen Anhäufung von Lipofuszingranula im RPE. Die Beschwerden beginnen recht früh in der 1. und 2. Lebensdekade. Ophthalmoskopisch findet sich zunächst eine eidotterartig aussehende scharf begrenzte, gelbliche zentrale subretinale Läsion, im weiteren Verlauf kommt es zunächst zu einer Verflüssigung der gelblichen Substanz mit Spiegelbildung und zuletzt zu multiplen gelblichen Ablagerungen im Bereich der Läsion (Abb. 3). Das Spätstadium zeigt ausgeprägte atrophische Narben mit Abbau des gelblichen Materials, zudem ist dann auch die Möglichkeit der Entstehung choroidaler Neovaskularisationen möglich.

Das mfERG zeigt meistens zentrale Amplitudenreduktionen, selten ist es im Frühstadium noch normal. Das EOG zeigt einen charakteristischen fehlenden oder stark reduzierten Hellanstieg, nur in sehr seltenen Fällen kann es normal sein.

Eine kausale Therapie ist nicht möglich, vergrößernde Sehhilfen können auch hier – abhängig vom Visus - helfen. Bei choroidalen Neovaskularisationen kann je nach Lokalisation eine Therapie mit Laser, photodynamischer Therapie oder der intra-vitrealen Applikation von Anti-VEGF-Medikamenten versucht werden.



## Morbus Stargardt

Die Begriffe Morbus Stargardt und Fundus flavimaculatus werden zum Teil synonym benutzt, manchmal wird der Begriff des Morbus Stargardt für die zentralen Veränderungen im Gegensatz zu Fundus flavimaculatus für mehr peripher gelegene Läsionen benutzt. Molekulargenetisch lässt sich diese Einteilung nicht aufrechterhalten.

Der Morbus Stargardt ist die häufigste Maculadystrophie, die Häufigkeit wird mit von 1 von 8.000 – 10.000 angegeben<sup>30-32</sup>. Es handelt sich um eine autosomal-rezessiv vererbte Mutation im ABCA4-Gen<sup>33</sup>, selten auch eine autosomal-dominant vererbte Mutation im ELOVL4-Gen.<sup>34</sup>

Es kommt zu einer diffusen Einlagerung abnormen Lipofuszins in das RPE mit fokalen Hypertrophien von Pigmentepithelzellen und Verlust von Pigmentepithelzellen und Photorezeptoren.

Die Visusminderung beginnt meist in den ersten 2 Lebensdekaden mit bilateralem, oft schnell progredienten Visusverlust. Nach diesem initial raschen Abfall bleibt der Visus jedoch häufig im weiteren Verlauf stabil bei etwa 0.1. Es wurden allerdings auch spätere Manifestationen mit langsamerem Verlauf beschrieben.

Ophthalmoskopisch findet sich im Frühstadium nur eine Veränderung bzw. ein Fehlen des Fovealreflexes, später beobachtet man eine zunehmende Destruktion des Pigmentepithels bis hin zur Ausbildung einer so genannten „Schießscheibenmaculopathie“, noch später finden sich wie ausgestanzt wirkende Pigmentepitheldefekte oder geographische Atrophien (Abb. 4). Der Fundus peripher der Macula zeigt die typischen gelblichen, unscharf begrenzten Flecken, die dem Fundus flavimaculatus seinen Namen gegeben haben. Auch beim Morbus Stargardt ist die Entwicklung choroidaler Neovaskularisationen möglich.<sup>35</sup>

Im mfERG zeigt sich schon früh eine zentrale Amplitudenreduktion ohne deutliche Gipfelzeitverlängerung. Das EOG zeigt einen normalen oder allenfalls leicht reduzierten Hellanstieg.

Eine kausale Therapie ist auch hier nicht möglich, es ist auch hier auf eine optimale optische Versorgung zu achten, choroidale Neovaskularisationen können, wie schon beim Morbus Best beschrieben, angegangen werden.

Auf Grund des genetischen Defekts kommt es zu einer Störung im Vitamin A-Stoffwechsel mit einer Akkumulation von Vitamin A-Abbauprodukten. Aus diesem Grund sollte eine übermäßige Vitamin A –Zufuhr vermieden werden.



**Abb. 4** Fundusbild: M. Stargardt

## Retinitis pigmentosa

Die Retinitis pigmentosa ist die häufigste und bekannteste hereditäre Netzhaut-Aderhautdystrophie. Es handelt sich im Grunde nicht um eine Erkrankung, sondern genetisch um eine heterogene Gruppe von Erkrankungen mit verschiedenen Erbgängen und Genmutationen. Sie kommt mit einer Prävalenz von 1:5000 vor.<sup>36, 37</sup>

Genetisch finden sich ursächliche Mutationen in zahlreichen Genen, so zum Beispiel bei autosomal dominantem Erbgang in CA4, CRX, FSCN2, HPRP3, GUCA1B, IMPDH1, NRL, PRPF8, PRPF31, Peripherin, Rhodopsin, ROM1, RP1, RP9. Bei autosomal rezessivem Erbgang sind zum Beispiel ABCA4, CERKL, CNGA1, CNGB1, CRB1, LRAT, MERTK, NR2E3, NRL, PDE6A, PDE6B, RGR, Rhodopsin, RLBP1, RPE65, SAG, TULP1, USH2A. Bei der X-chromosomalen Vererbung kann die Mutation in den Genen RP2, RPGR liegen.<sup>38</sup> Es ist jedoch bekannt, dass Mutationen an weiteren Genorten ursächlich sein können.

Sonderformen der Retinitis pigmentosa sind u. a. die Leber'sche kongenitale Amaurose, die Retinitis punctata albescens, die Retinitis pigmentosa mit erhaltenem pararterialem Pigmentepithel und die sektorförmige Retinitis pigmentosa.

Es gibt in der Literatur verschiedene Formen der Einteilung, so nach dem zu Grunde liegenden genetischen Defekt oder nach dem Beginn der Erkrankung.

Der Beginn und die Ausprägung der Krankheitssymptome sind extrem variabel und können praktisch in jedem Lebensalter auftreten. Ein häufiges Frühsymptom ist die Nachtblindheit und langsam progrediente Gesichtsfeldausfälle, diese werden häufig vom Patienten zunächst nicht bemerkt. Im weiteren Verlauf der Erkrankung treten eine Farbsinnstörung und Visusminderung auf. Als Faustregel kann gelten, dass je früher der Beginn umso stärker die Progredienz und umso größer der Funktionsverlust.

Klinisch finden sich fleckige Veränderungen des retinalen Pigmentepithels, enggestellte Arterien, abgeblasste wachsgelbe Papillen, peripher Pigmentverdichtungen („Knochenkörperchen“; Abb. 5). Häufig besteht bei den Patienten auch ein deutlicher Refraktionsfehler (typischerweise Myopie und Astigmatismus), in späteren Stadien auch dystrophische Maculaveränderungen, ein zystoides Maculaödem, eine frühzeitige Cataractentwicklung und - selten – Coats-ähnliche periphere Gefäßveränderungen.

Das ERG ist unter Standardbedingungen stark reduziert oder sogar nicht mehr nachweisbar, wobei die zapfenabhängigen Antworten meist weniger stark verändert sind. Im mfERG zeigen sich deutliche Amplitudenreduktionen in der Peripherie und deutliche Verlängerungen der Gipfelzeiten. Im EOG findet sich ein reduzierter oder fehlender Hellanstieg.

In der Gesichtsfelduntersuchung können schon früh Sensitivitätsverluste in der mittleren Peripherie und im Verlauf dann konzentrische Einengungen nachgewiesen werden.

Eine kausale Therapie ist bei der Retinitis pigmentosa ebenfalls nicht möglich. Eine Therapie mit Vitamin A unter der Vorstellung einer Verzögerung des natürlichen Krankheitsverlaufs ist umstritten. Ein zystoides Maculaödem kann mit Gaben von

Acetazolamid behandelt werden, die Cataract durch eine entsprechende operative Entfernung mit anschließender Kunstlinsenimplantation.

Zu beachten ist immer, dass die Retinitis pigmentosa mit zahlreichen anderen Organerkrankungen kombiniert sein kann (z.B. mit Hörstörungen beim Usher-Syndrom).



**Abb. 5** Fundusbild: Retinitis pigmentosa

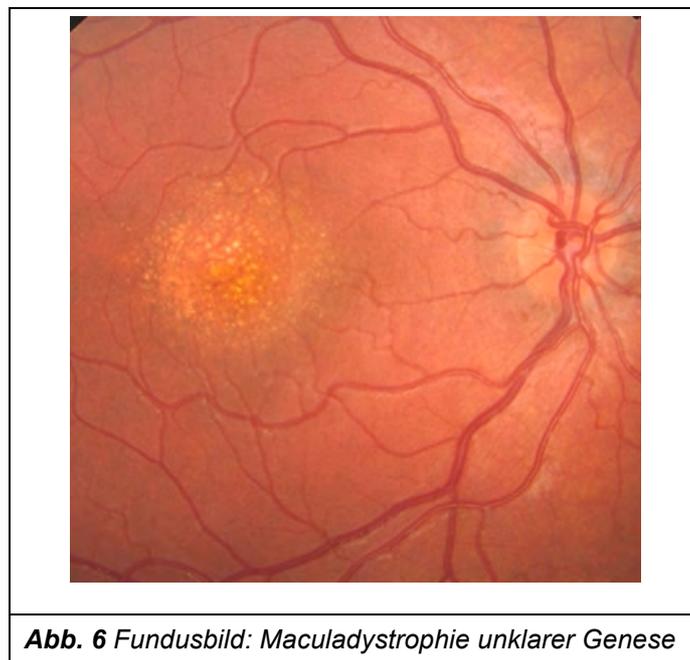
### **Maculadystrophien unklarer Genese**

Es gibt immer wieder Patienten mit Maculadystrophien unklarer Genese, die keinem exakten Typ zugeordnet werden können, dies betrifft etwa ein Drittel aller Patienten mit Maculadystrophien.<sup>39</sup>

Allen gemeinsam sind die Visusminderung, relative oder absolute Zentralskotome und Farbsinnstörungen.

Die Morphologie zeigt zunächst oft nur sehr unspezifische Veränderungen des retinalen Pigmentepithels (Abb. 6). Im Spätstadium mit ausgeprägten Atrophien ist eine Differentialdiagnose zwischen den verschiedenen Maculadystrophien sowie die Unterscheidung von einer altersabhängigen Maculadegeneration schwierig, es können auch hier choroidale Neovaskularisationen auftreten.

In der elektrophysiologischen Diagnostik findet sich häufig ein nur wenig verändertes ERG, allerdings fällt im mfERG schon früh ein Funktionsverlust auf.



**Abb. 6** Fundusbild: Maculadystrophie unklarer Genese

## Zapfen-Stäbchen-Dystrophie

Zapfen-Stäbchendystrophie ist nicht als Bezeichnung für ein alleiniges Krankheitsbild zu sehen, sondern der Oberbegriff für Erkrankungen mit einer entweder früheren oder stärkeren Schädigung der Zapfenfunktion vor der Stäbchenfunktion.<sup>40, 41</sup>

Genetisch kommen verschiedene Vererbungsmodi vor, bei der autosomal dominanten Vererbung finden sich Mutationen zum Beispiel in den Genen AIPL1, CRX, GUCA1A, GUCY2D, Peripherin, RIMS1, UNC119. Bei autosomal rezessivem Erb-

gang sind unter anderem die Gene ABAC4 und RDH5 betroffen; bei x-chromosomaler Vererbung kann eine Mutation im RPGR-Gen bestehen.

Es finden sich Alterationen des RPE am hinteren Pol sowie peripher mit Ausbildung von so genannten „Knochenkörperchen“ und Gefäßverengungen, selten wurden faltenförmige subretinale Ablagerungen beschrieben (Abb. 7).

Der Erkrankungsbeginn ist meistens recht früh in den ersten beiden Lebensdekaden mit Photophobie, progredienter Visusminderung, Zentralskotomen und Farbsinnstörungen.

Im ERG zeigen sich zunächst Veränderungen der zapfenabhängigen, später auch der stäbchenabhängigen Antworten bis hin zum Verlust der Nachweisbarkeit der Potentiale. Im mfERG fehlen in der Regel die Reizantworten des gesamten hinteren Pols bzw. sind deutlich reduziert. Auch die Potentiale des EOG weisen im Verlauf der Erkrankung Reduktionen auf.

Die Gesichtsfelduntersuchung zeigt schon früh zentrale und parazentrale Skotome die im weiteren Verlauf nach peripher progredient sind.

Eine Therapie ist auch bei der Zapfen-Stäbchendystrophie derzeit nicht möglich.



**Abb. 7** Fundusbild Zapfen-Stäbchen-Dystrophie

## Chorioideremie

Die Chorioideremie ist eine seltene Erkrankung, genetisch findet sich eine Mutation im CHM-Gen.<sup>42, 43</sup>

Die Erkrankung manifestiert sich häufig in den beiden ersten Lebensdekaden mit Nachtblindheit und progredienten Gesichtsfeldausfällen bis hin zur Erblindung.

Histologisch findet sich eine Atrophie von Aderhaut und Pigmentepithel.

Klinisch zeigt sich häufig eine gering ausgeprägte Myopie, ophthalmoskopisch finden sich zunächst feingranuläre Hyperpigmentierungen des retinalen Pigmentepithels. Später bilden sich fleckförmige, unscharf begrenzte chorioatrophische Areale peripher, welche konfluieren und nach zentral fortschreiten, so dass es in höherem Lebensalter zur kompletten Aderhautatrophie mit Erblindung kommen kann (Abb. 8).

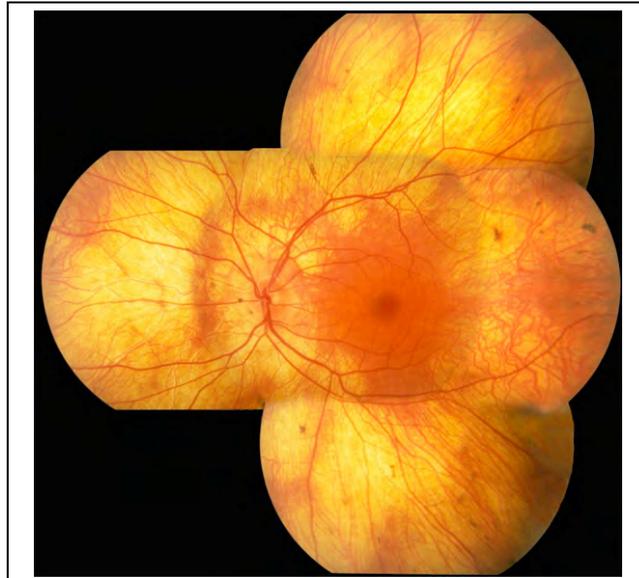
Im ERG sind die stäbchenabhängigen Antworten früher reduziert als die zapfenabhängigen Potentiale, in späteren Stadien sind beide unter Standardbedingungen nicht mehr nachweisbar. Das EOG ist schon in einem frühen Stadium deutlich reduziert bzw. erloschen.

Im Gesichtsfeld zeigen sich mittelperipher Skotome und eine im Verlauf progrediente konzentrische Einengung.

Visus und Farbsehen sind erst im Spätstadium deutlich verschlechtert.

Diagnostisch kann bei erkrankten Männern das Fehlen von REP1 in Lymphozyten nachgewiesen werden. Weibliche Konduktorinnen haben feingranuläre Hyperpigmentierungen des retinalen Pigmentepithels, wobei die Funktion bei ihnen im Allgemeinen normal ist.

Eine Therapie der Erkrankung ist nicht möglich.



**Abb. 8** Fundusbild: Chorioideremie

### **Malattia leventinese**

Diese sehr seltene Erkrankung ist auch unter den Bezeichnungen Familiäre Drusen, Doynesche honeycomb Drusen, Hutchinson-Tay Chorioiditis oder Holthouse-Batten Chorioretinitis bekannt.<sup>44</sup>

Genetisch handelt es sich um eine autosomal-dominant vererbte Mutation im EFEMP1-Gen mit variabler Expression.

Histologisch kommt es zu einer Akkumulation von hyalinem Material im retinalen Pigmentepithel.

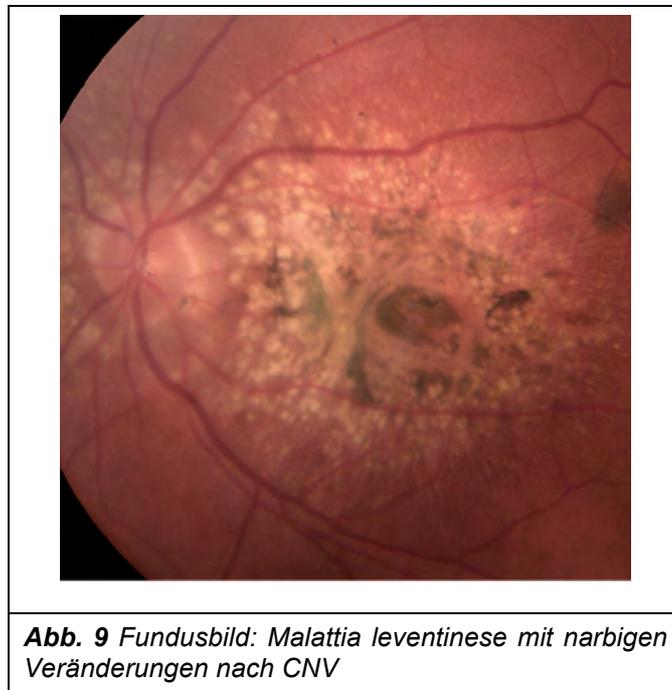
Etwa ab dem dritten Lebensjahrzehnt bilden sich am hinteren Augenpol multiple helle Drusen, teilweise in radiärer Anordnung, es können auch choroidale Neovaskularisationen entstehen (Abb. 9).

In ERG und EOG zeigen sich lange keine Veränderungen bzw. nur selten subnormale Reizantworten.

Im Gesichtsfeld lassen sich relative oder absolute zentrale Skotome nachweisen, die Peripherie ist meist normal.

Das Farbsehen bleibt ebenfalls lange normal, in späteren Stadien fallen unspezifische Störungen variabler Ausprägung auf.

Eine kausale Therapie ist auch hier nicht möglich, abhängig vom Visus können vergrößernde Sehhilfen angepasst werden. Beim Auftreten choroidaler Neovaskularisationen kann je nach Lokalisation mit photodynamischer Therapie, Laser oder VEGF-Inhibitoren therapiert werden.



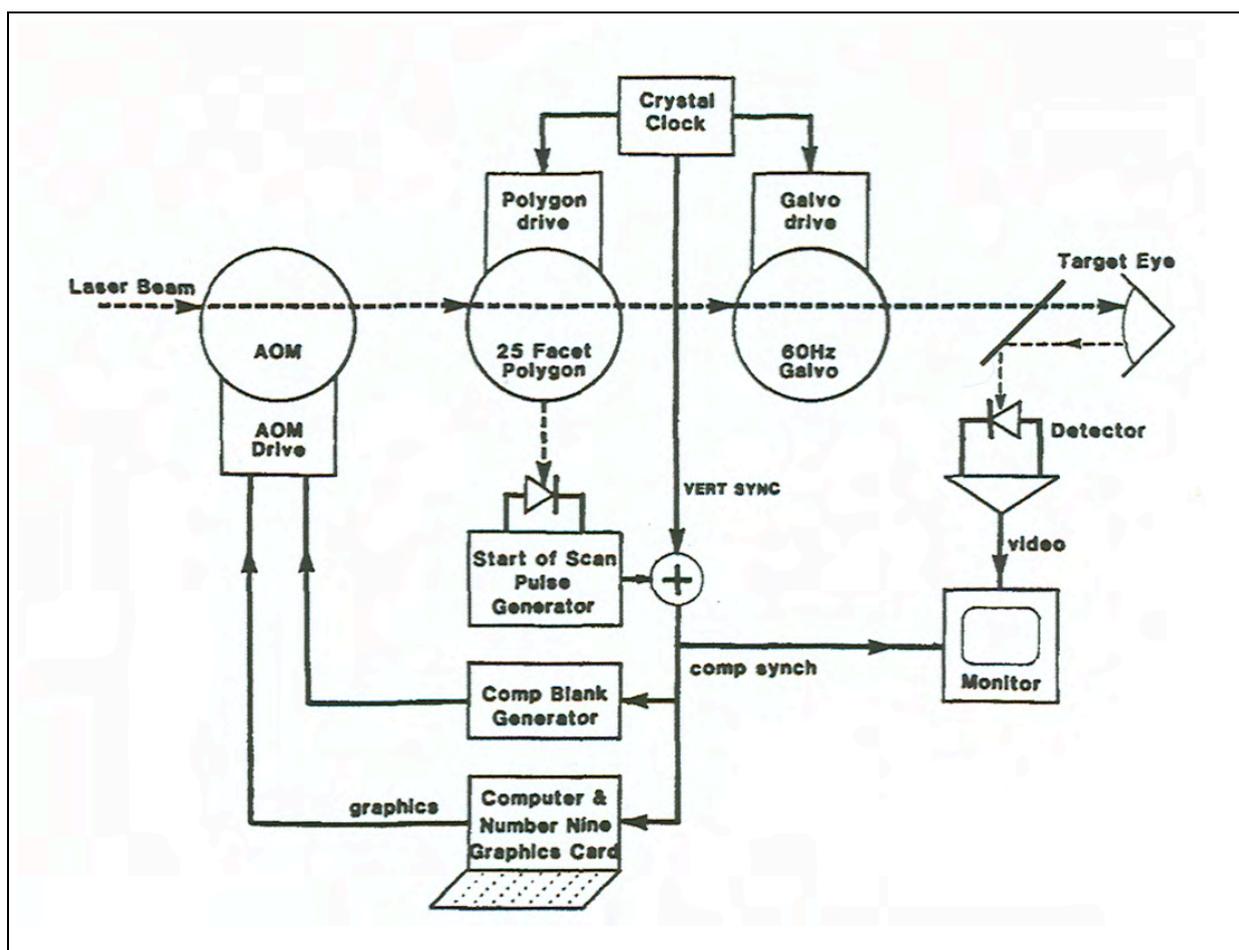
### 2.3 Fundusautofluoreszenz

Die Autofluoreszenz (FAF) der Macularegion wurde 1995 von F.C. Delori et al (In vivo fluorescence of the ocular fundus exhibits retinal pigment epithelium lipofuscin characteristics) zuerst beschrieben.<sup>12</sup>

Das retinale Pigmentepithel wird mit einem Argonblau-Laser bei 488 nm angeregt und mit einem entsprechenden Filter wird die Emission ausschließlich oberhalb von 500 nm gemessen. Licht und Filter entsprechen den bei Fluoreszein-Angiografie benutzten Einstellungen. Es werden Serien von etwa 30 Bildern aufgenommen, welche dann zur Minderung des „Rauschens“ digital miteinander verrechnet werden.<sup>45</sup>

Im klinischen Einsatz wird das konfokale Laser-Scanning Ophthalmoskop (Heidelberg Retina Angiograph/HRA, Heidelberg Engineering, Heidelberg) am häufigsten eingesetzt.

Diese Technik wurde 1987 von der Arbeitsgruppe um Webb, Hughes und Delori zuerst beschrieben. Es handelt sich um eine Weiterentwicklung des 1980 von der gleichen Gruppe entwickelten Scanning-Laser-Ophthalmoskops.<sup>46</sup>



**Abb. 10** Prinzip des Konfokalen Scanning-Laser-Ophthalmoskop<sup>46</sup>

Die konfokale Technik benutzt einen Laser als Lichtquelle und bewegliche Spiegel, so dass nur jeweils ein Punkt der Netzhaut illuminiert wird, ein entsprechender, ebenfalls beweglicher Detektor misst die Emission von dem entsprechenden Netzhautareal (Abb. 10). Durch dieses System wird die Streustrahlung minimiert und man erhält Abbildungen mit ungewöhnlich hohem Kontrast.<sup>46, 47</sup>

In vivo ist die FAF vorwiegend durch das Lipofuszin des RPE bedingt, obwohl es auch weitere Autofluoreszenzphänomene am Augenhintergrund gibt.<sup>48</sup> In den Lipofuszingranula finden sich verschiedene Stoffwechselabbauprodukte, von denen mindestens 10 als Fluorophore an der Autofluoreszenz beteiligt sind.

Lipofuszin entsteht als ein Abbauprodukt der lebenslangen Phagozytose der Photorezeptoraußensegmente.<sup>49-51</sup> Während im gesunden Auge der größte Teil dieser Abbauprodukte über die Basalmembran Richtung Aderhaut aus der Zelle heraustransportiert wird, kommt es bei einigen Erkrankungen der Photorezeptoren oder des retinalen Pigmentepithels zu einer Speicherung von Lipofuszin in den Lipofuszingranula. Allerdings wird auch im Rahmen der normalen Alterungsprozesse zunehmend Lipofuszin in den Pigmentepithelzellen gespeichert.<sup>50, 52</sup> Bei verschiedenen Erkrankungen kommt es dazu einem vermehrten Entstehen und damit zur vermehrten Speicherung des Lipofuszins.

In der FAF des gesunden Auges stellen sich die Papille und die Netzhautgefäße dunkel dar (Abb. 11). Da in der Fovea eine geringere Konzentration von Lipofuszin in den Pigmentepithelzellen ist und das gelbe Maculapigment die Autofluoreszenz zudem blockiert, stellt sich diese Region ebenfalls dunkler dar.<sup>53</sup> Auf Grund des höheren Lipofuszingehalts der Zellen in einem ringförmigen Bereich am Rand der Macula ist dort die Autofluoreszenz am stärksten.<sup>54</sup>

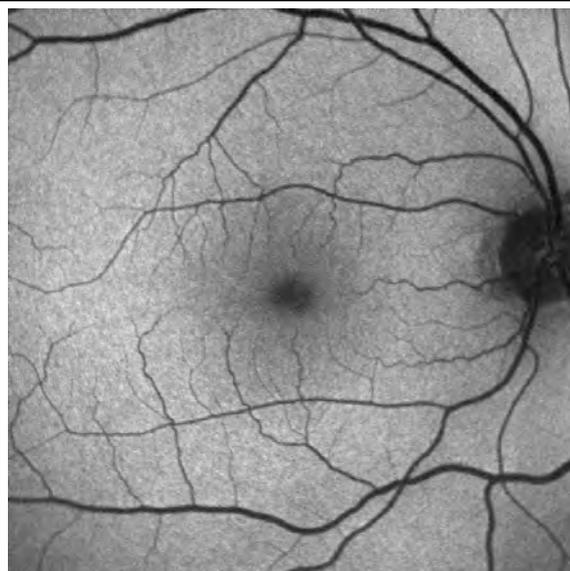
Interindividuelle Vergleiche werden allerdings durch die Variabilität der optischen Medien und der Laserintensität erschwert. Es lassen sich jedoch Abweichungen vom normalen Verteilungsmuster und intraindividuelle Veränderungen im zeitlichen Verlauf gut beurteilen. Pathophysiologisch entspricht eine erhöhte Autofluoreszenz einem erhöhten Lipofuszingehalt, was für einen aktiven oder abgelaufenen degenerativen Prozess spricht.<sup>53</sup>

Eine verminderte Autofluoreszenz findet sich entweder bei einer verminderten Entstehung von Lipofuszin, einem Fehlen von Pigmentepithelzellen oder einer Blockade (z.B. Gefäße, Blut) der Autofluoreszenz.

Bis heute sind zahlreiche Veränderungen bei verschiedenen Krankheitsbildern beschrieben worden. So konnte zum Beispiel für die altersabhängige Maculadegeneration gezeigt werden, dass am Rande einer geographischen Atrophie Areale mit erhöhter Autofluoreszenz die am nächsten vom Untergang bedrohten Areale markiert.<sup>55, 56</sup>

Bei den hereditären Netzhautdegenerationen können in der FAF unterschiedliche Veränderungen für ophthalmoskopisch gleich oder ähnlich erscheinende Befunde nachgewiesen werden, wobei deren Bedeutung für Differentialdiagnose und Prognose noch nicht geklärt ist.<sup>11-17, 19, 42, 57-64</sup> Darüber hinaus können in der Autofluoreszenz schon Veränderungen nachweisbar sein, wenn die Ophthalmoskopie und auch die Fluoreszein-Angiographie noch unauffällig sind, was zum Beispiel für die Chloroquin-retinopathie gezeigt werden konnte.<sup>65</sup>

In der klinischen Durchführung ist die Messung der FAF eine schnelle, nicht-invasive, für den Patienten risikoarme und wenig belastende Methode, welche auch die Untersuchung von Kindern ohne größere Schwierigkeiten erlaubt.



**Abb. 11** FAF Normalbefund

## 2.4 Nah-Infrarotautofluoreszenz

Schon vor mehr als 20 Jahren empfahl W. Jaeger<sup>66</sup> Aufnahmen im nah-infraroten Lichtspektrum zur Untersuchung von Netzhautdystrophien. Dieses Verfahren wurde erst Jahre später wieder aufgegriffen, wobei keine Filtersysteme zur Messung benutzt wurden.<sup>67, 68</sup>

Autofluoreszenzphänomene der Netzhaut im Nah-Infrarot Bereich wurden unter Verwendung verschiedener Aufnahmesysteme vor Indocyaningrün-Angiografien beobachtet.<sup>69</sup>

Vor kurzem konnte gezeigt werden, dass es sich bei der mit dem Konfokalen Scanning-Laser Ophthalmoskop darstellbaren NIA um die Melanin-Autofluoreszenz des retinalen Pigmentepithels handelt.<sup>20, 21</sup>

Das retinale Pigmentepithel wird mit einer Wellenlänge von 787 nm angeregt. Die Emissionen oberhalb einer Wellenlänge von 800 nm werden mittels eines Filters gemessen und dann digital aufgezeichnet, die Filtereinstellung entspricht der bei der Indocyaningrün-Angiographie. Die bisherigen Studien sprechen dafür, dass oxidiertes Melanin das wesentliche Fluorophor ist, welches zur Nah-Infrarotautofluoreszenz beiträgt. Seine Emission wird etwa 60 – 100 mal schwächer eingeschätzt als die des Lipofuszins.<sup>21</sup>

Melanin hat in der Zelle unterschiedliche Funktionen. So ist es wesentlich für die normale Netzhaut- und Chiasmaentwicklung, dient als Antioxidans, ist am Abbau der Photorezeptoraußensegmente beteiligt und schützt vor Photooxidation von A2E, einer toxischen Komponente des Lipofuszins, sowie vor phototoxischen Schäden durch Licht im blauen Spektrum.<sup>70-79</sup>

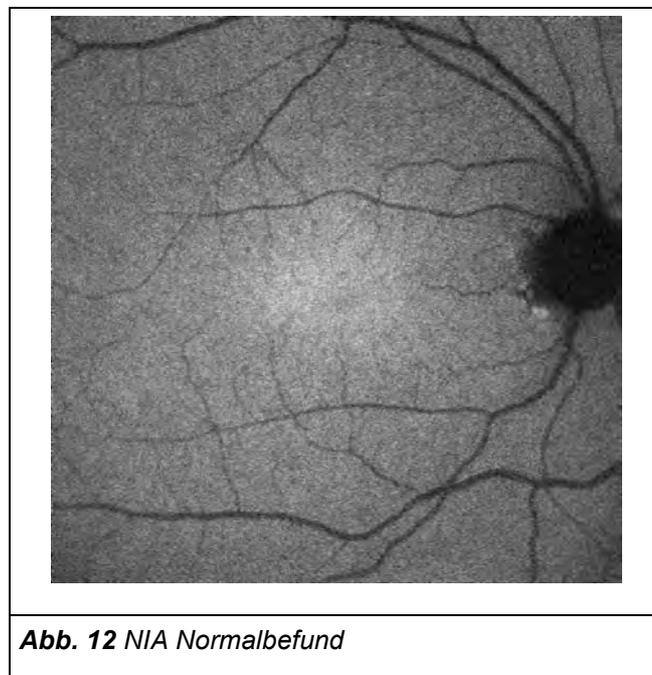
Obwohl auch im Erwachsenenalter noch Melanin aufgebaut wird, vermindert sich der Melaningehalt im retinalen Pigmentepithel zwischen der 1. und 9. Lebensdekade um das Zweieinhalbfache.<sup>80, 81</sup> Das zur NIA beitragende Melanin findet sich in den apikalen Anteilen der retinalen Pigmentepithelzellen und in variabler Ausprägung in der Choroidea.<sup>49</sup>

Die höchste Konzentration des Melanins findet sich im gesunden Auge in der Region der Fovea und entspricht in etwa der auf Farbaufnahmen und der Autofluoreszenz sichtbaren höheren Melaninpigmentierung (Abb. 12).<sup>54</sup> Die Gefäße und die Papille stellen sich als dunkle Schatten dar.

Die NIA der perifovealen Region ist geringer als die der Fovea, wobei gezeigt werden konnte, dass sich dieses Verhältnis mit zunehmendem Alter zugunsten der schwächeren Nah-Infrarotautofluoreszenz verschiebt.<sup>21</sup>

Eine erhöhte Fluoreszenz konnte für Hyperpigmentationen gezeigt werden, so für choroidale Naevi, Hyperpigmentationen des retinalen Pigmentepithels oder der Iris.<sup>20, 21</sup>

Eine Verminderung konnte bei geographischen Atrophien, insbesondere bei Personen mit hellem Irisstroma, nachgewiesen werden.<sup>20, 21</sup> Größere Studien zur NIA bei verschiedenen Erkrankungen stehen noch aus. Wie auch die FAF ist die NIA im klinischen Alltag ein schnell durchführbares, risikoarmes und für den Patienten wenig belastendes Verfahren.



## **3. Methoden und Patienten**

### **3.1. Methoden**

#### **3.1.1. Technische Voraussetzungen**

Bei allen Patienten wurde der Visus mit bester Korrektur erhoben.

ERG, mfERG und EOG wurden mit dem RetiScan der Firma Roland Consult nach ISCEV Standards durchgeführt.<sup>82, 83</sup>

Fluoreszein-Angiographien wurden mit dem konfokalen Scanning-Laser-Ophthalmoskop der Firma Heidelberg Engineering durchgeführt (HRA 2).

Die Ophthalmoskopie wurde von zwei in der Netzhautdiagnostik erfahrenen Untersuchern binophthalmoskopisch und mittels Kontaktglasuntersuchung an der Spaltlampe durchgeführt.

Die FAF und NIA wurden ebenfalls mit dem Konfokalen Scanning-Laser-Ophthalmoskop (Heidelberg Retina Angiograph 2) von einem Untersucher (SW) durchgeführt. Die Pupillen wurden vorher auf mindestens 5 mm Durchmesser mit Phenylephrin 2,5% und/oder Tropicamid 1% (Mydriaticum Stulln<sup>®</sup>) erweitert.

Die gerätespezifischen Kameraobjektive für 30 Grad und Weitwinkel wurden benutzt. Die Bildauflösung betrug 768x768 Pixel. Die maximale Beleuchtung eines Fundusareals von 10x10 Grad lag bei 2 mW/cm<sup>2</sup>.

Zunächst wurde die FAF mit Argon-Laser-Lichtanregung einer Wellenlänge von 488 nm und einer Messung der Emissionen mittels Breitbandfilter bei einer Wellenlänge von > 500 nm aufgenommen. Es wurden mit einer Geschwindigkeit von 6 Bilder / Sekunde etwa 10 Scans pro Auge aufgezeichnet.

Für die Aufzeichnung der NIA wurden gleiche Kameraobjektive, Ausleuchtung und Aufnahmegeschwindigkeit benutzt, die Anregung wurde mit einer Wellenlänge von

788 nm durchgeführt, die Messung der Emission mittels Filter oberhalb der Wellenlänge von 815 nm.

Die erhaltenen Bilder wurden am Monitor nach den Studienkriterien ausgewertet.

### **3.1.2 Einteilung der Läsionen**

Alle Untersuchungen wurden nach den Kriterien

- Intensität
- Größenunterschied
- Muster

beurteilt. Zur besseren Vergleichbarkeit wurden folgende Einteilungsschemata entwickelt:

#### *1. Intensität*

Die Intensität wurde nach Grau/Weiß-Abstufung im Vergleich zu bekannten Strukturen im gesunden Vergleichspatientengut eingeteilt. Daraus ergibt sich die für die FAF folgende Aufteilung:

Intensität 1 = weiß (=erhöhte Fluoreszenz)

Intensität 2 = hellgrau ( entsprechend der Darstellung des peripheren Fundus)

Intensität 3 = dunkelgrau (entsprechend der Darstellung der parafoveolären Region)

Intensität 4 = schwarz (= herabgesetzte Fluoreszenz = entsprechend der Darstellung der Papille)

Für die NIA ergibt sich folgendes Schema:

Intensität 1 = weiß (=erhöhte Fluoreszenz)

Intensität 2 = hellgrau (entsprechend der parafoveolären Region)

Intensität 3 = dunkelgrau (entsprechend der Darstellung des normalen peripheren Fundus)

Intensität 4 = schwarz ( = herabgesetzter Fluoreszenz = entsprechend der Darstellung der Papille)

## *2. Größenunterschied*

Der Größenunterschied wird für die NIA in Bezug auf die FAF nach den Kriterien

-größere Flächenausdehnung der Läsion

-gleiche Flächenausdehnung

-kleinere Flächenausdehnung der Läsion

angegeben.

## *3. Muster*

Das Erscheinungsbild der Veränderungen wurde nach folgenden Aspekten beurteilt:

- kreisförmig
- fleckig
- areolär
- scharf begrenzt
- unscharf begrenzt
- schießscheibenartig (dunkles Zentrum)
- invers schießscheibenartig ( helles Zentrum)

### 3.2. Normalgruppe

Als Normalgruppe wurden die FAF und NIA Aufnahmen von 35 Gesunden ausgewertet, alle Patienten wurden zwischen Juli 2006 und April 2007 im Augenzentrum Siegburg untersucht.

Bei den Aufnahmen der gesunden Normalgruppe zeigten sich unterschiedliche relative Intensitäten sowohl der FAF als auch der NIA abhängig von Alter, vorhandenen Medientrübungen, Aufnahmequalität und der Kooperationsfähigkeit der Patienten (Abb. 13).



**Abb. 13** FAF (linke Spalte) und NIA (rechte Spalte) Normalbefund: 30 Grad und Weitwinkelaufnahme

### 3.3 Patienten mit hereditären Netzhautdegenerationen

Die 70 Patienten mit hereditären Netzhautdegenerationen wurden zwischen Juli 2006 und April 2007 im Augenzentrum Siegburg untersucht. Bei allen Patienten wurde eine Visustestung und die FAF und NIA entsprechend der Studienkriterien durchgeführt.

Je nach Stand der vorhandenen Voruntersuchungen wurden neben der klinischen Untersuchung fakultativ Gesichtsfelduntersuchungen, ERG, EOG, mfERG, und Fluoreszein-Angiographien durchführt.

Zudem konnte in 21 Fällen eine Mutation molekulargenetisch nachgewiesen werden.

Patientennummer	Diagnose	Genetik	Geschlecht	Alter	Visus RA / LA	GF
1	Adulte vitelliforme Maculadystrophie	<i>nein</i>	m	83	0,4 / 0,4	-
2	Adulte vitelliforme Maculadystrophie	<i>nein</i>	w	59	0,63 / 0,63	-
3	Adulte vitelliforme Maculadystrophie	<i>nein</i>	w	86	0,4 / 0,2	-
4	M. Stargardt	<i>ABCA4(1)</i>	m	30	0,1 / 0,1	ZS
5	M. Stargardt	<i>ABAC4(2)</i>	w	67	0,5 / 0,05	ZS (li.)
6	M. Stargardt	<i>ABCA4(2)</i>	w	12	0,1 / 0,16	
7	M. Stargardt	<i>ABCA4(2)</i>	w	22	0,1 / 0,1	ZS
8	M. Stargardt	<i>ABCA4(2)</i>	m	37	0,1 / 0,1	ZS
9	M. Stargardt	<i>ABCA4(2)</i>	m	14	0,4 / 0,4	rZS
10	M. Stargardt	<i>ABCA4(2)</i>	m	43	0,16 / 0,16	ZS

11	M. Stargardt	<i>ABCA4(1)</i>	w	44	0,6 / 0,7	rZS
12	M. Stargardt	<i>ABCA4(1)</i>	w	73	0,4 / 0,5	pZS
13	M. Stargardt	<i>ABCA4 negativ</i>	m	62	0,7 / 0,04	-
14	M. Stargardt	<i>ABCA4 Negativ</i>	m	28	0,16 / 0,1	ZS
15	M. Stargardt	<i>ABCA4 negativ</i>	m	30	0,03 / 0,04	ZS
16	M. Stargardt	<i>nein</i>	w	44	0,05 / 0,1	ZS
17	M. Stargardt	<i>nein</i>	w	41	0,1 / 0,1	-
18	M. Best	<i>VMD2</i>	m	7	0,5 / Fz	-
19	M. Best	<i>VMD2-</i>	m	52	1,0 / 1,0	-
20	Maculadystrophie	<i>ABCA4 negativ</i>	w	10	1,0 / 1,0	-
21	Maculadystrophie	<i>nein</i>	m	44	1,0 / 1,0	pZS
22	Maculadystrophie	<i>nein</i>	w	64	0,3 / 0,4	-
23	Maculadystrophie	<i>nein</i>	w	51	0,5 / 0,5	-
24	Maculadystrophie	<i>ABCA4 negativ</i>	w	68	0,8 / 0,7	-
25	Malattia leventinese	<i>EFEMP1</i>	w	34	1,0 / FZ	ZS(l)
26	Zapfen- Stäbchendystrophie	<i>nein</i>	w	40	0,03 / 0,03	+
27	Zapfen- Stäbchendystrophie	<i>nein</i>	m	26	0,16 / 0,16	ZS
28	Zapfen- Stäbchendystrophie	<i>nein</i>	w	65	0,2 / 0,2	-
29	Zapfen- Stäbchendystrophie	<i>nein</i>	w	63	FZ / FZ	ZS
30	Zapfen-	<i>ABCA4</i>	w	55	0,16 / 0,1	ZS

	Stäbchendystrophie	<i>negativ</i>				
31	Zapfen- Stäbchendystrophie	<i>ABCA4(1)</i>	m	55	0,1 / 0,16	-
32	Zapfen- Stäbchendystrophie	<i>ABCA4 negativ</i>	m	26	0,05 / LS	-
33	Zapfen- Stäbchendystrophie	<i>ABCA4(1)</i>	w	34	0,05 / 0,05	ZS
34	Zapfen- Stäbchendystrophie	<i>ABCA4 negativ</i>	w	54	0,5 / 0,7	-
35	Zapfen- Stäbchendystro- phie, Amblyopie RA	<i>nein</i>	m	28	0,05 / 0,4	ZS/rZS
36	Zapfen- Stäbchendystrophie	<i>ABCA4 negativ</i>	w	48	0,05 / 0,1	-
37	Zapfen- Stäbchendystrophie	<i>ABCA4 negativ</i>	w	15	0,1 / 0,1	ZS
38	Retinitis pigmento- sa	<i>nein</i>	w	65	0,4 / 0,3	KE
39	Retinitis pigmento- sa	<i>nein</i>	w	64	0,16 / HBW	KE
40	Retinitis pigmento- sa	<i>nein</i>	m	24	0,1 / 0,1	KE
41	Retinitis pigmento- sa, X manifestie- rende Konduktorin	<i>RPGR</i>	w	33	0,63 / 0,63	KE
42	Retinitis pigmento- sa	<i>nein</i>	m	56	0,3 / 0,3	KE
43	Retinitis pigmento- sa	<i>nein</i>	m	44	0,6 / 0,9	KE
44	Retinitis pigmento- sa	<i>RP1</i>	m	14	0,63 / 0,63	?

45	Retinitis pigmentosa	<i>nein</i>	w	38	1,0 / 1,0	KE
46	Retinitis pigmentosa, X (RPGR)	<i>RPGR</i>	m	60	HBW / HBW	RI
47	Retinitis pigmentosa	<i>nein</i>	m	29	0,7 / 0,8	KE
48	Retinitis pigmentosa	<i>nein</i>	m	60	0,5 / 0,3	KE
49	Retinitis pigmentosa, autosomal dominant	<i>nein</i>	w	45	0,5 / 0,4	KE
50	Retinitis pigmentosa, autosomal dominant	<i>RHO</i>	w	63	0,1 / 0,1	KE
51	Retinitis pigmentosa, Einzelfall	<i>nein</i>	w	45	0,6 / 0,1	-
52	Retinitis pigmentosa, LA Amaurose (Unfall)	<i>nein</i>	m	66	0,04 / NL	-
53	Retinitis pigmentosa, Leber'sche kongenitale Amaurose	<i>CEP290</i>	w	16	0,2 / 0,2	KE
54	Retinitis pigmentosa, sektorförmig	<i>nein</i>	w	59	1,0 / 0,5	KE
55	Retinitis pigmentosa, Usher-Syndrom	<i>nein</i>	m	56	0,3 / 0,3	KE
56	Retinitis pigmentosa, Usher-Syndrom	<i>MYO7A</i>	w	44	HBW / HBW	KE
57	Retinitis pigmentosa, Usher-Syndrom	<i>nein</i>	w	25	0,5 / 0,6	KE
58	Retinitis pigmentosa	<i>nein</i>	m	42	0,3 / 06	KE

	sa, V.a. Nephro- nophthise					
59	Retinitis pigmento- sa, V.a. x- chromosomal	<i>nein</i>	m	6	0,7 / 0,6	?
60	Retinitis pigmento- sa, x-chromosomal, V.a. Konduktorin	<i>nein</i>	w	40	1,0 / 1,2	PE(r)
61	Retinitis pigmento- sa	<i>nein</i>	w	60	0,5 / 0,5	KE
62	Retinitis pigmento- sa, Usher-Syndrom	<i>nein</i>	w	54	HBW / HBW	-
63	Retinitis pigmento- sa	<i>nein</i>	m	49	0,5 / 0,63	KE
64	Retinitis pigmento- sa, Hohe Myopie	<i>nein</i>	w	66	0,7 / 0,7	KE
65	Retinitis pigmento- sa	<i>nein</i>	w	46	0,3 / 0,7	KE
66	Retinitis pigmento- sa, autosomal do- minant	<i>nein</i>	m	85	0,02 / 0,1	KE
67	Retinitis pigmento- sa, autosomal do- minant	<i>nein</i>	m	45	1,0 / 1,0	RS
68	Retinitis pigmento- sa, Pseudophakie bds.	<i>nein</i>	m	31	0,6 / 0,5	-
69	Chorioideremie	<i>CHM</i>	m	52	LS / 0,4	KE
70	Chorioideremie	<i>CHM</i>	m	64	LS / 0,3	KE

**Tab. 1 Patienten**

*m=männlich w=weiblich ZS=Zentralskotom pZS=Parazentralskotom KE=konzentrische Einschränkung  
RS=Restsichel*

## 4. Ergebnisse

In dem untersuchten Patientengut von 70 Patienten mit hereditären Netzhautdegenerationen fanden sich die verschiedenen Erkrankungen in folgender Häufigkeit:

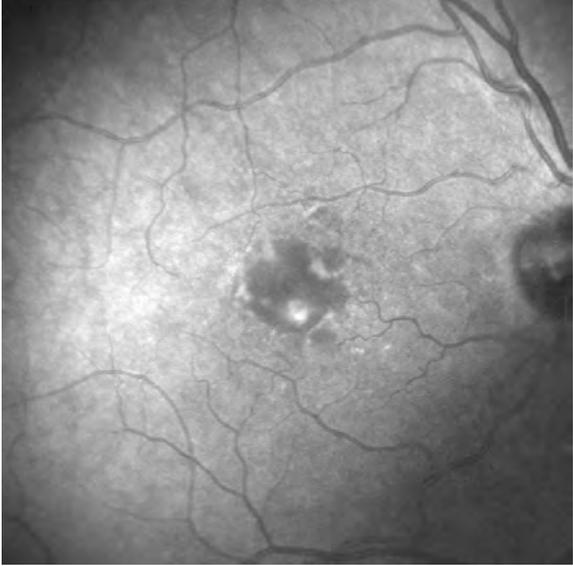
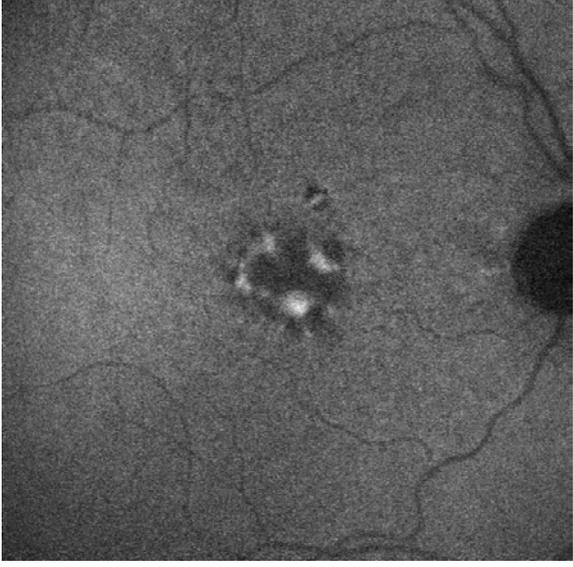
<b>Erkrankung</b>	<b>Patienten</b>
Adulte vitelliforme Maculadystrophie	3
Morbus Best	2
Morbus Stargardt	14
Retinitis pigmentosa	31
Maculadystrophie	5
Zapfen-Stäbchen-Dystrophie	12
Chorioideremie	2
Malattia leventinese	1

*Tab. 2 Häufigkeit der verschiedenen Erkrankungen*

Da sich bei den jeweiligen Patienten in allen Fällen rechts und links nahezu seitensymmetrische Befunde nachweisen ließen, wurde als einzelner Fall ein Patient = rechts und linkes Auge bewertet. Zum Vergleich der FAF- und NIA-Bilder mit dem ophthalmoskopischen Befund werden die Bildbeispiele durch Schwarz-Weiß- oder Farb-Fundusfotos ergänzt.

## Adulte vitelliforme Maculadystrophie

In allen 3 Fällen zeigt sich in der FAF eine zentrale, nahezu kreisförmige Läsion mit herabgesetzter Fluoreszenz (Intensität 4) mit randständigen erhöht fluoreszierenden Arealen (Intensität 2) umgeben von einem Ring der Intensität 3 (Abb. 15). In der NIA stellt sich die Läsion jeweils einmal größer und zweimal gleich groß dar mit kreisförmigem Zentrum herabgesetzter Fluoreszenz und randständigen fleckförmigen Arealen erhöhter Fluoreszenz (Intensität 1; Abb. 16).

<p><b>Adulte vitelliforme Maculadystrophie</b></p>	
<p><b>Abb. 14</b> Fundusfoto <i>Adulte vitelliforme Maculadystrophie</i></p>	
	
<p><b>Abb. 15</b> FAF <i>Adulte vitelliforme Maculadystrophie</i></p>	<p><b>Abb. 16</b> NIA <i>Adulte vitelliforme Maculadystrophie</i></p>

## Morbus Best

Bei beiden Patienten mit Morbus Best zeigt sich ebenfalls ein in etwa seitengleicher Befund für alle 4 Augen. In der FAF fällt ein zentrales kreisförmiges Gebiet herabgesetzter Fluoreszenz (Intensität 4) mit angrenzenden Arealen erhöhter Fluoreszenz (Intensität 1) auf (Abb. 18). In der NIA zeigt sich dagegen ein etwas größeres Areal mit einem fleckigen Muster von herabgesetzten und erhöhten Fluoreszenzen (Intensität 1, 2, 3; Abb. 19).

<p><b>M. Best</b></p>	 Fundus photograph of the retina showing a network of retinal vessels and a central area of decreased fluorescence.
<p><i>Abb. 17 Fundusfoto M. Best</i></p>	
 Fluorescein angiography (FAF) image showing a central area of decreased fluorescence (intensity 4) surrounded by areas of increased fluorescence (intensity 1).	
 Narrow-field fundus autofluorescence (NFA) image showing a larger area with a mottled pattern of decreased and increased fluorescence (intensities 1, 2, 3).	
<p><i>Abb. 18 FAF M. Best</i></p>	<p><i>Abb. 19 NIA M. Best</i></p>

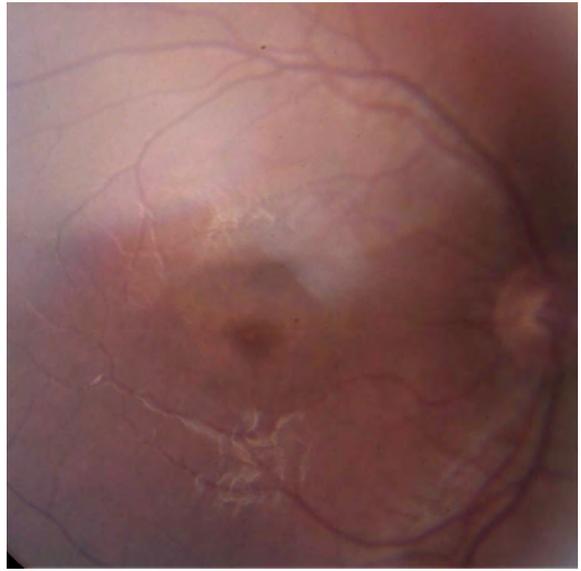
## **Morbus Stargardt**

Im untersuchten Patientengut lassen sich zwei Gruppen von Veränderungen unterscheiden, bei denen jeweils ähnliche Befunde für das rechte und das linke Auge nachweisbar sind: bei 8 Patienten findet sich in der FAF eine vorwiegend zentral gelegene, zum Teil schießscheibenartig imponierende Läsion mit zentraler herabgesetzter Fluoreszenz (Intensität 4) und umgebender erhöhter Fluoreszenz (Intensitäten 1, 2; Abb. 21). Die NIA in 6 dieser Fälle zeigt Areale herabgesetzter Fluoreszenz (Intensität 4) größerer Ausdehnung, in zwei Fällen war das Areal der Herabsetzung der Fluoreszenz in der NIA gleich groß. Die schießscheibenartigen Läsionen zeigten jedoch im Gegensatz zur FAF ein helles Zentrum (Intensität 1-2; Abb. 22).

In den anderen 6 Fällen lassen sich in der FAF disseminierte fleckförmige Herabsetzungen der Fluoreszenz (Intensität 4) mit dazwischen liegenden fleckförmigen erhöhten Fluoreszenzen (Intensität 1,2), die sich bis über die temporalen Gefäßbögen ausdehnen, nachweisen. Bei 3 Patienten zeigt sich zudem zentral eine areoläre Herabsetzung der Fluoreszenz (Intensität 4; Abb. 24).

In der NIA dieser Patienten zeigen sich ebenfalls fleckförmige Herabsetzungen der Fluoreszenzen (Intensität 4), jedoch keine Erhöhungen. Die Ausdehnung der verminderten Fluoreszenz erscheint im Vergleich zur FAF größer (Abb. 25).

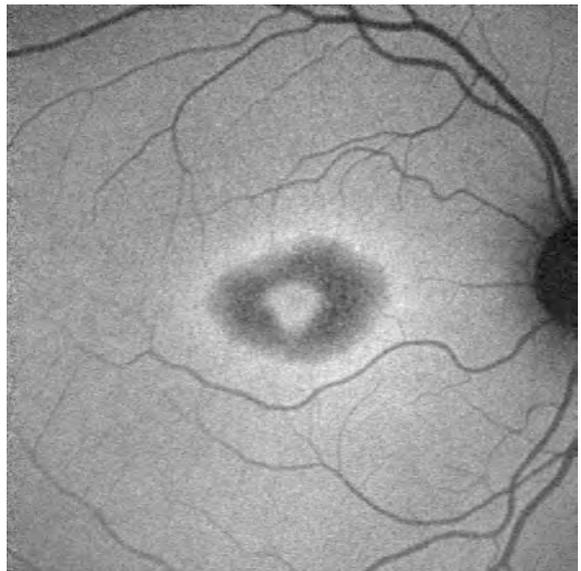
**M. Stargardt I**



**Abb. 20** Fundusfoto Morbus Stargardt (zentral)



**Abb. 21** FAF Morbus Stargardt (zentral)

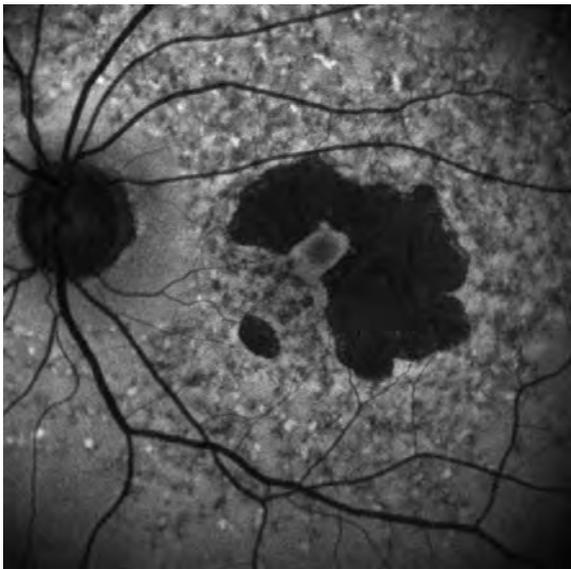


**Abb. 22** NFA Morbus Stargardt (zentral)

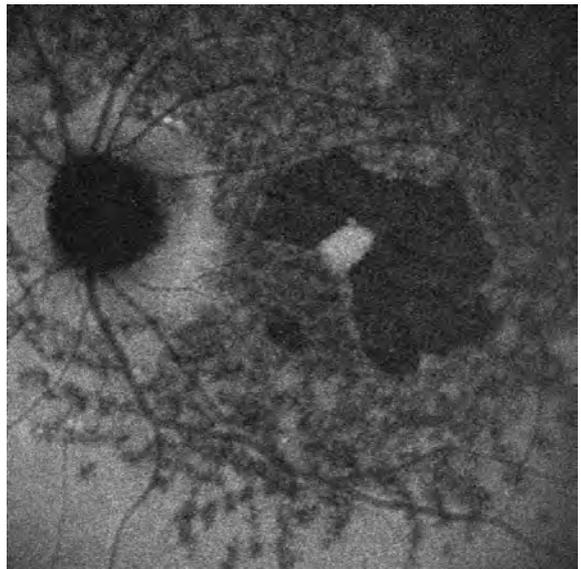
**M. Stargardt II**



**Abb. 23** Fundusfoto Morbus Stargardt  
(disseminiert)



**Abb. 24** FAF Morbus Stargardt (disseminiert)

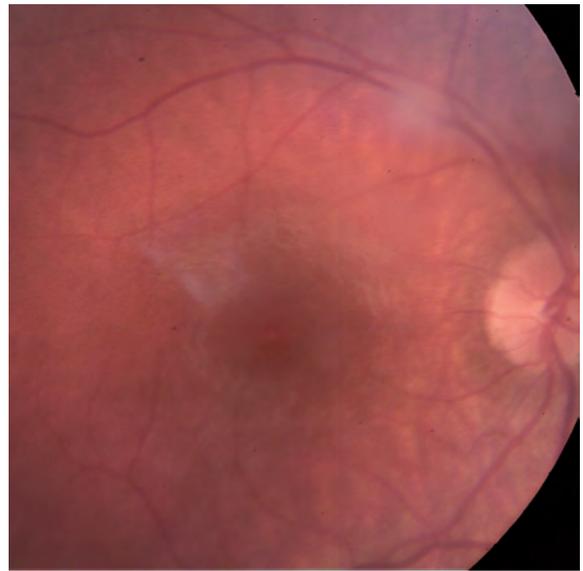


**Abb. 25** NIA Morbus Stargardt (disseminiert)

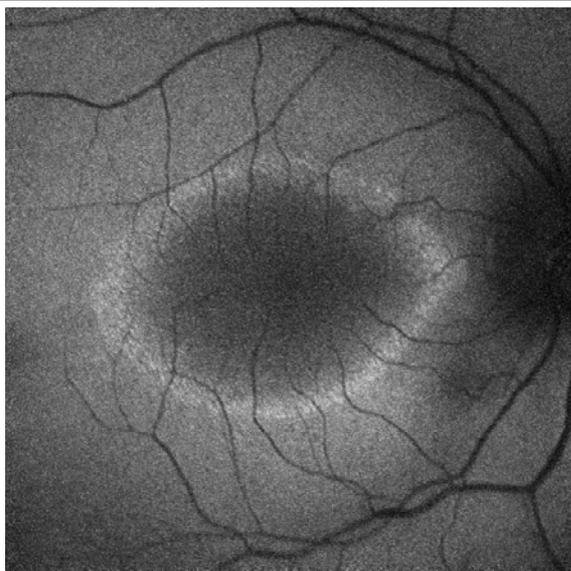
## Retinitis pigmentosa

Bei der Retinitis pigmentosa findet sich bei 10 Patienten eine zentrale schießscheibenförmige Läsion in der FAF (Abb. 27), bei 19 Patienten zusätzlich peripher fleckförmige, herabgesetzte Fluoreszenzen (Intensität 3,4; Abb. 30). Bei 2 Patienten ließen sich peripher fleckförmige Minderungen der Fluoreszenz (Intensität 3,4) nachweisen sowie zentrale areoläre Minderungen der Fluoreszenz (Intensität 4) mit segmentförmigem Restareal normaler Fluoreszenz (Intensität 3; Abb. 33).

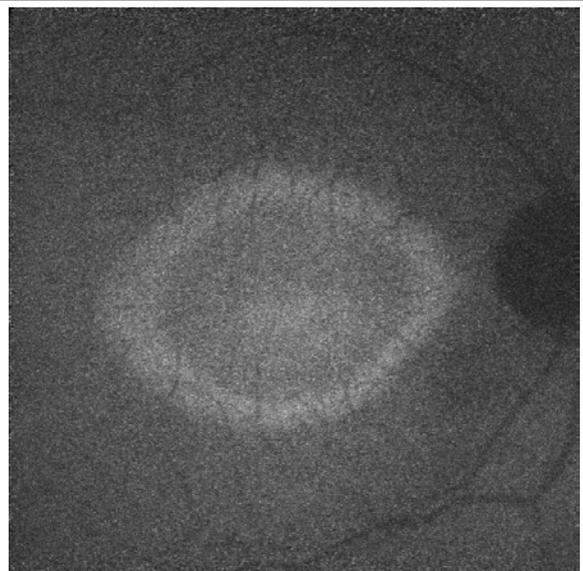
### Retinitis pigmentosa, zentrale Läsion



**Abb. 26** Fundusfoto Retinitis pigmentosa (zentrale Läsion)



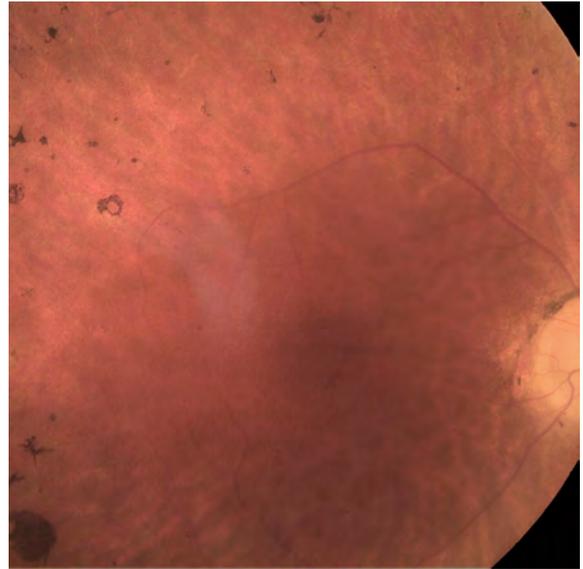
**Abb. 27** FAF Retinitis pigmentosa (zentrale)



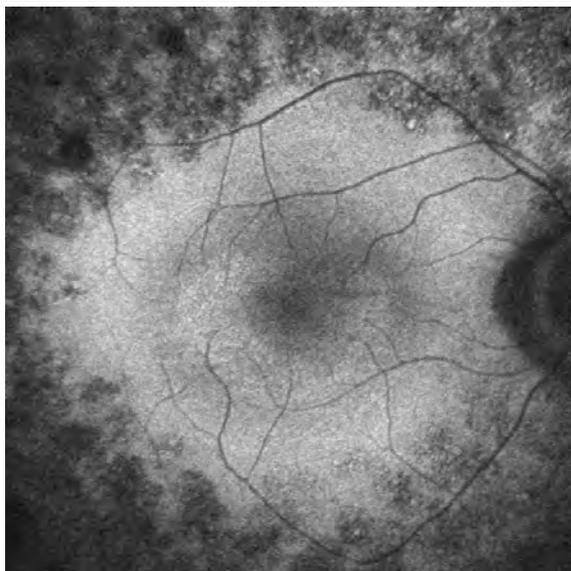
**Abb. 28** NIA Retinitis pigmentosa (zentral)

Die NIA zeigt bei 10 Patienten ein invers-schießscheibenförmiges Muster mit hellem Zentrum (Intensität 1) und peripher davon normaler Fluoreszenz (Abb. 28) und bei 19 Patienten ein zentrales invers-schießscheibenförmiges Areal mit verminderter Fluoreszenz peripher davon (Abb. 31). Bei 14 dieser 29 Patienten ist die Ausdehnung der zentralen Veränderung größer als in der FAF.

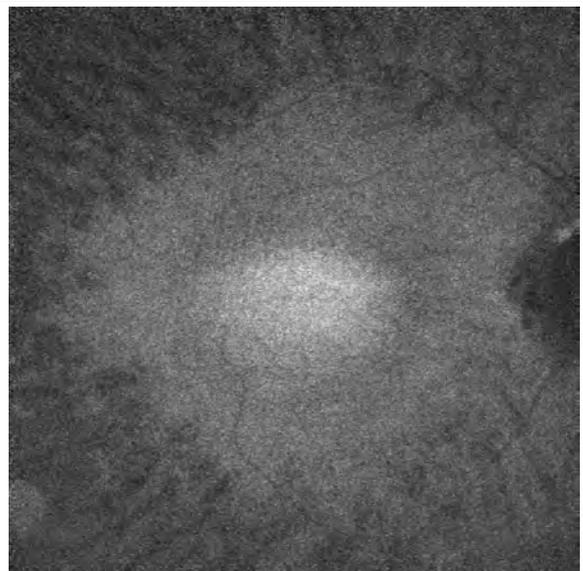
**Retinitis pigmentosa,  
zentral und peripher**



**Abb. 29** Fundusfoto Retinitis pigmentosa (zentral und peripher)

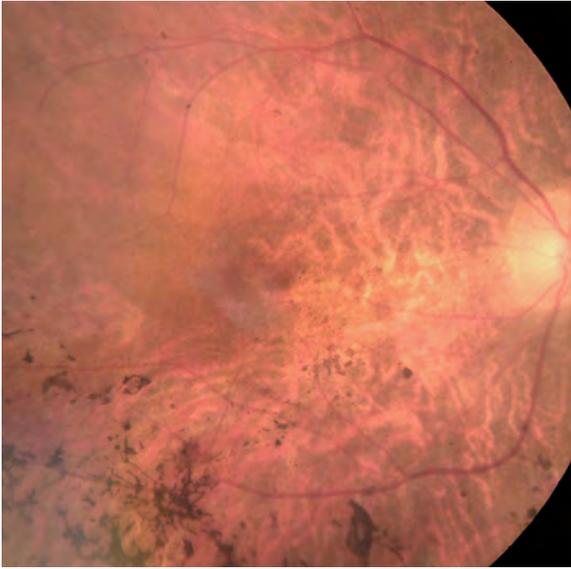
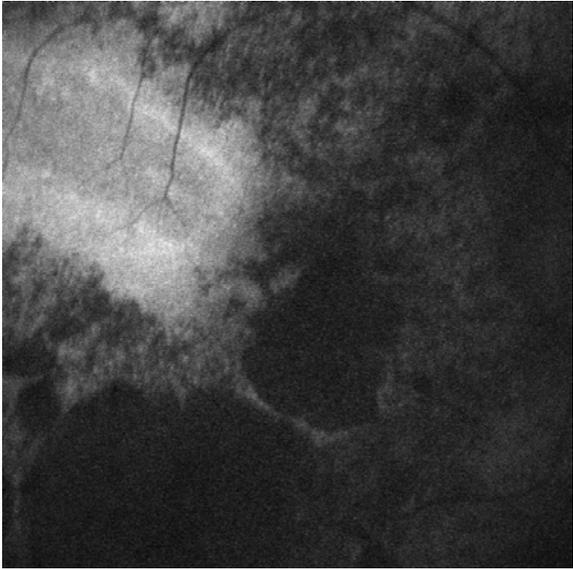
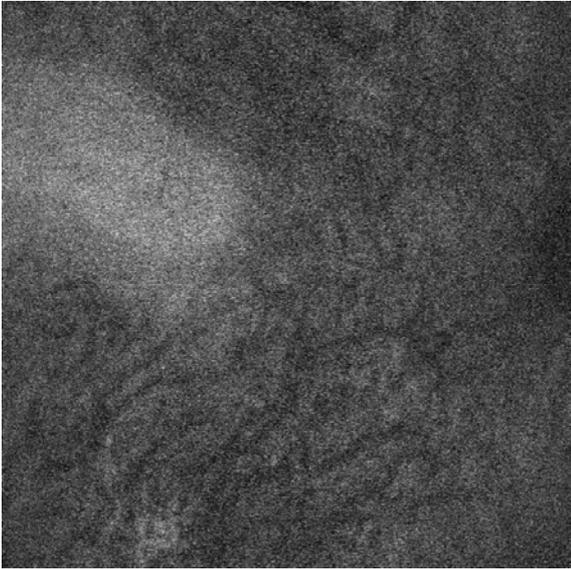


**Abb. 30** FAF Retinitis pigmentosa (zentral und peripher)



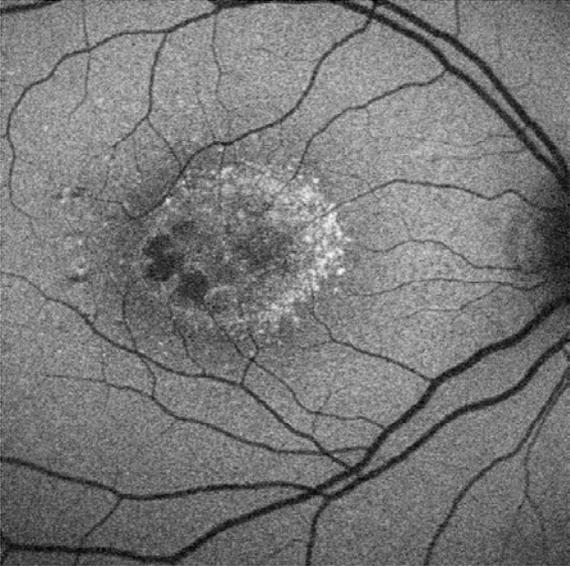
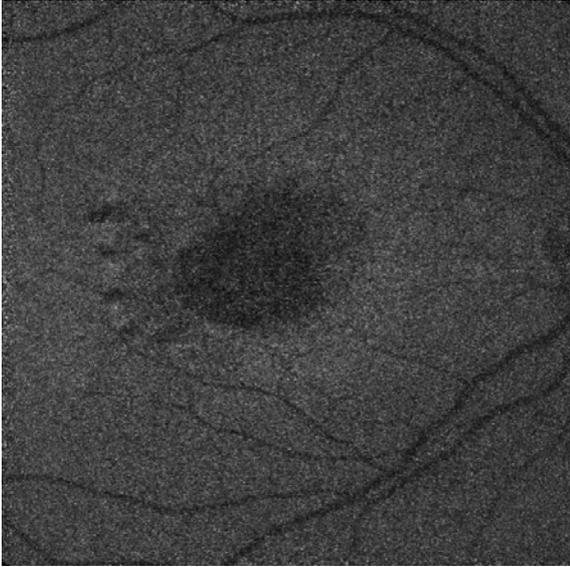
**Abb. 31** NIA Retinitis pigmentosa (zentral und peripher)

Bei den 2 übrigen Patienten zeigte sich in der NIA eine verminderte Fluoreszenz am hinteren Pol mit normaler Restfluoreszenz korrespondierend zu den entsprechenden Arealen in der FAF (Abb. 34).

<p><b>Retinitis pigmentosa, disseminiert</b></p>	
<p><b>Abb. 32</b> Fundusfoto Retinitis pigmentosa (disseminiert)</p>	
	
<p><b>Abb. 33</b> FAF Retinitis pigmentosa (disseminiert)</p>	<p><b>Abb. 34</b> NIA Retinitis pigmentosa (disseminiert)</p>

## Maculadystrophie unklarer Genese

Im untersuchten Patientengut finden sich 10 Augen von 5 Patienten mit Maculadystrophie unklarer Genese (Abb. 35). In zwei Fällen zeigt sich in der FAF eine schießscheibenartig/fleckig erhöhte Fluoreszenz (Intensität 1) mit einer in der Größe korrespondierenden Läsion verminderter Fluoreszenz in der NIA (Abb. 36, 37).

<p><b>Maculadystrophie</b></p>	 Fundusfoto einer Maculadystrophie unklarer Genese. Die Abbildung zeigt ein zentrales, schiefes, fleckiges Areal mit erhöhter Fluoreszenz, umgeben von einer normal fluoreszierenden Netzhaut. Die Blutgefäße sind deutlich sichtbar.
<p><i>Abb. 35 Fundusfoto Maculadystrophie</i></p>	
 Fluoreszenzangiographie (FAF) einer Maculadystrophie. Die Abbildung zeigt eine schießscheibenartige, fleckige Erhöhung der Fluoreszenz im zentralen Bereich der Makula, umgeben von einer dunkleren, hypofluoreszenten Läsion. Die Blutgefäße sind ebenfalls sichtbar.	
 Nichtinvasives Angiogramm (NIA) einer Maculadystrophie. Die Abbildung zeigt eine zentrale, dunkle, hypofluoreszente Läsion, die der Größe der Erhöhung in der FAF entspricht. Die Blutgefäße sind ebenfalls sichtbar.	
<p><i>Abb. 36 FAF Maculadystrophie</i></p>	<p><i>Abb. 37 NIA Maculadystrophie</i></p>

In den drei übrigen Fällen findet sich in der FAF eine zentrale erhöht fluoreszierende Läsion (Intensität 1) mit zentralen fleckigen Herabsetzungen der Fluoreszenz (Intensität 4). Die korrespondierenden Läsionen in der NIA sind vom Durchmesser geringfügig kleiner und herabgesetzt fluoreszent (Intensität 3) mit zentralen, fleckige erhöhten Fluoreszenzen (Intensität 1).

### **Zapfen-Stäbchen-Dystrophie**

Bei den Zapfen-Stäbchen-Dystrophien zeigt sich in den 12 hier untersuchten Fällen (=24 Augen mit jeweils nahezu gleichen Befunden für das rechte und linke Auge) ein recht inhomogenes Bild.

Zweimal lassen sich in der FAF schießscheibenartige Läsionen nachweisen (Abb. 39), die in der NIA ebenfalls schießscheibenartig imponieren, allerdings mit dunklerem Zentrum (Intensität 4; Abb. 40). Die Größe der Läsionen in der NIA ist geringfügig größer als in der FAF.

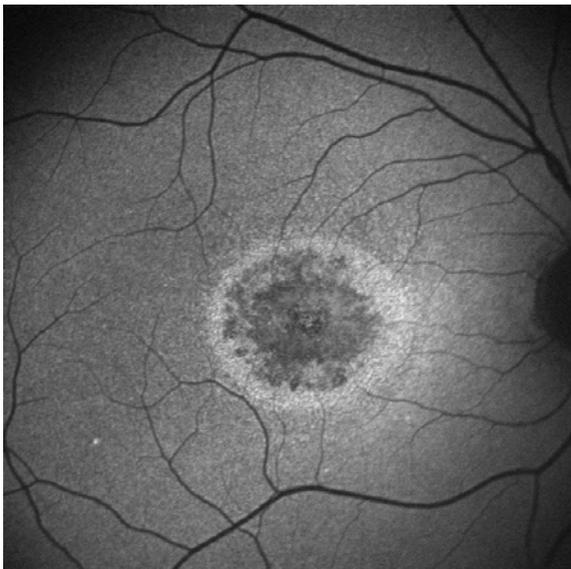
Bei 9 Patienten finden sich in der FAF unterschiedlich große areoläre herabgesetzte Fluoreszenzen (Intensität 4) umgeben von feinfleckigen Herabsetzungen und Erhöhungen (Intensität 2, 3, 4; Abb. 42). In der korrespondierenden NIA findet sich in diesen Fällen eine herabgesetzte Fluoreszenz (Intensität 3,4) des kompletten hinteren Pols mit einzelnen fleckförmigen Erhöhungen der Fluoreszenz (Intensität 2; Abb. 43).

Bei einem Patienten findet sich in der FAF zentral eine inkomplette schießscheibenartige Läsion (Intensität 2,3), in der dazugehörigen NIA nur feine, fleckförmig herabgesetzte Fluoreszenzen (Intensität 3).

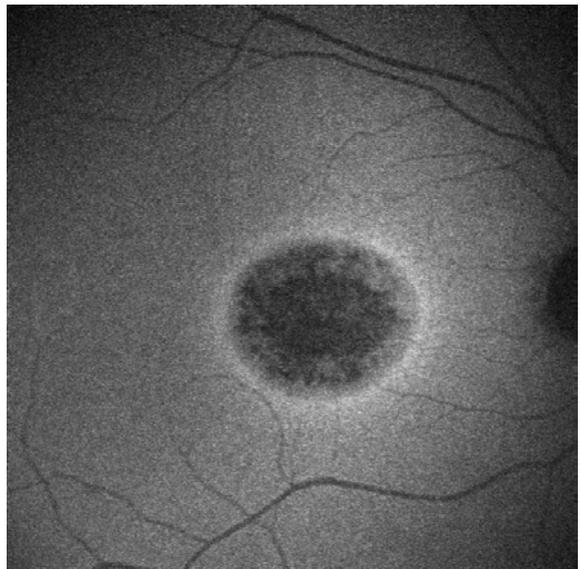
**Zapfen-Stäbchendystrophie,  
zentral**



**Abb. 38** Fundusfoto Zapfen-Stäbchendystrophie (zentral)



**Abb. 39** FAF Zapfen-Stäbchendystrophie (zentral)

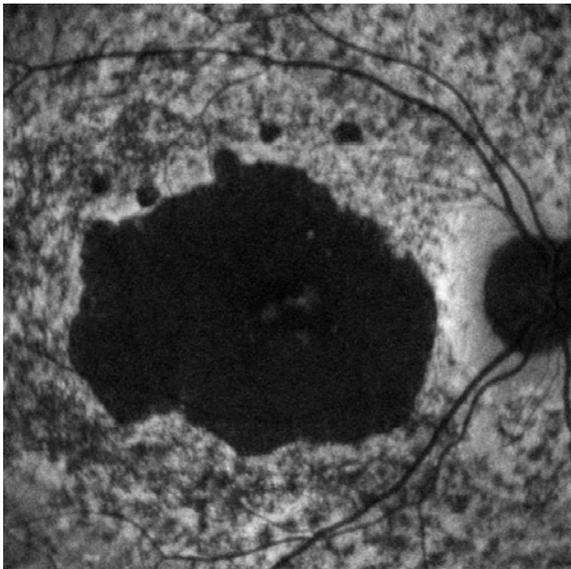


**Abb. 40** NIA Zapfen-Stäbchendystrophie (zentral)

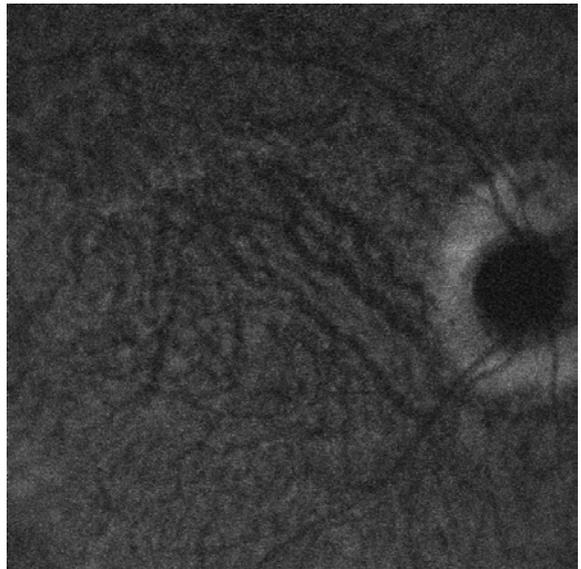
**Zapfen-Stäbchendystrophie,  
disseminiert**



**Abb. 42** Fundusfoto Zapfen-Stäbchendystrophie (disseminiert)



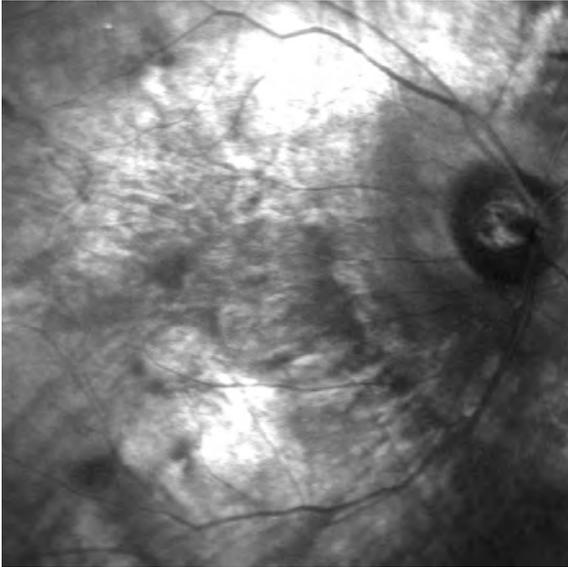
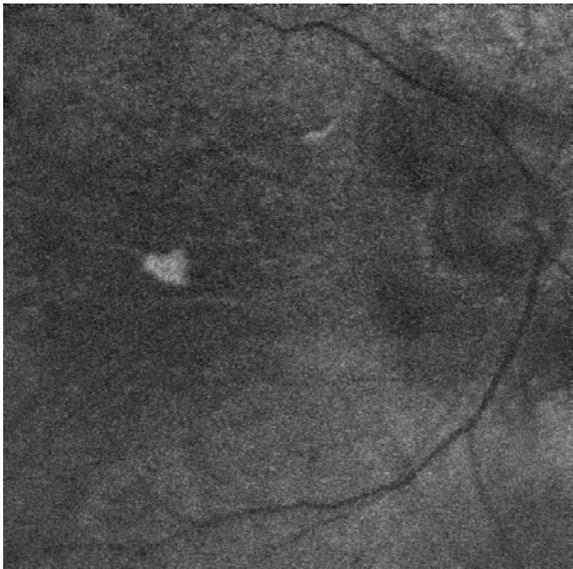
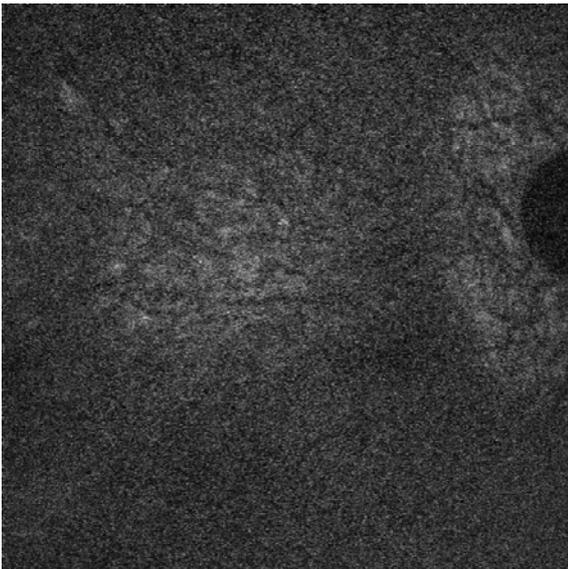
**Abb. 42** FAF Zapfen-Stäbchendystrophie (disseminiert)



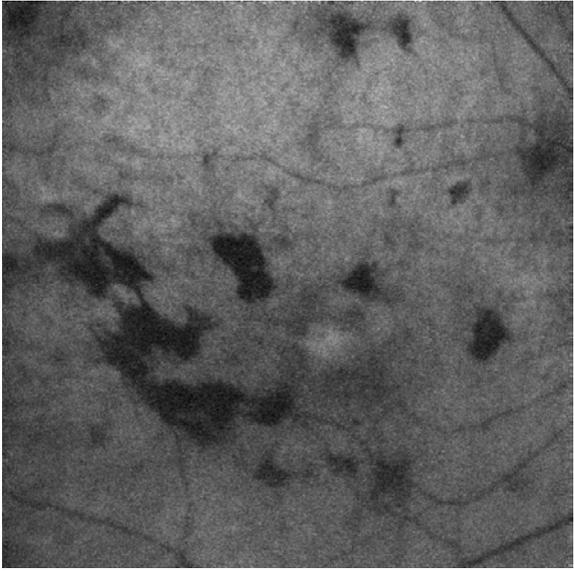
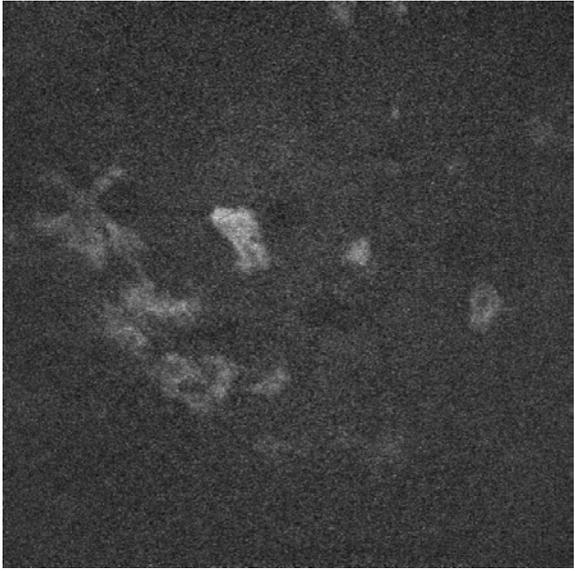
**Abb. 43** NIA Zapfen-Stäbchendystrophie (disseminiert)

## Chorioideremie

Bei den 2 Patienten (=4 Augen) mit Chorioideremie zeigt sich in einem Fall in der FAF eine herabgesetzte Fluoreszenz (Intensität 3) am gesamten hinteren Pol mit 2 kleinen fleckförmigen Erhöhungen der Fluoreszenz (Abb. 45), die dazu gehörige NIA zeigt ebenfalls eine Herabsetzung der Fluoreszenz des hinteren Pols (Intensität 3) mit feinfleckigen erhöhten Fluoreszenzen (Intensität 2; Abb. 46).

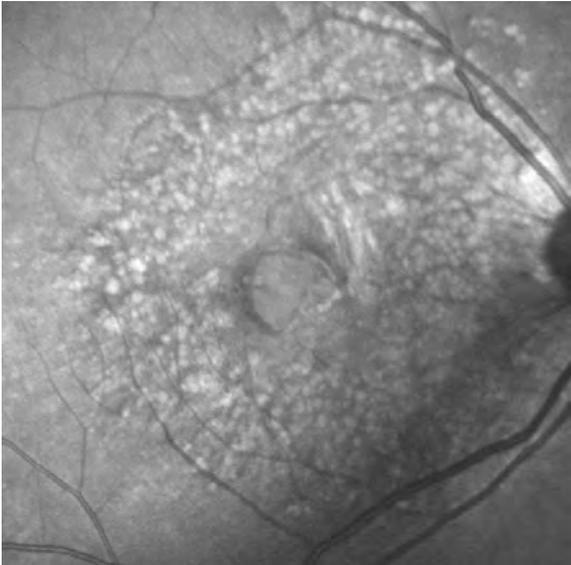
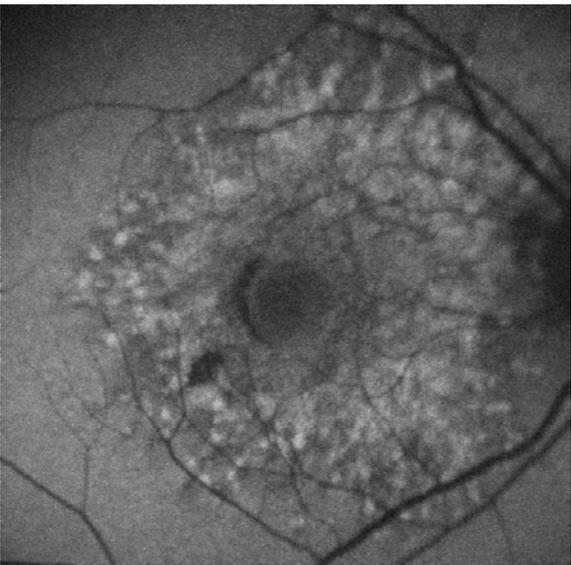
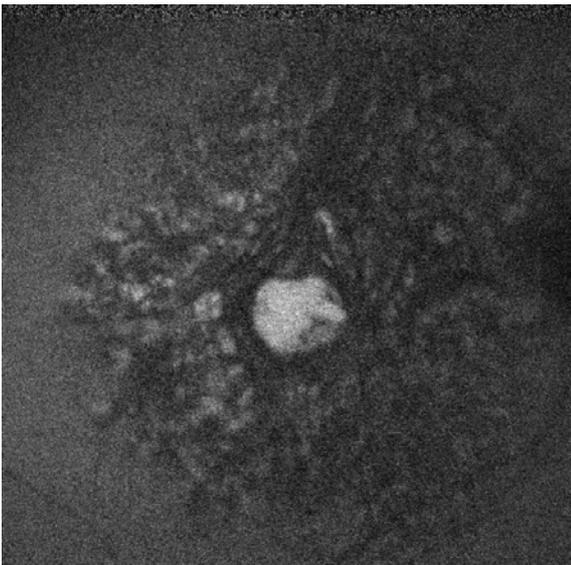
<p><b>Chorioideremie I</b></p>	
<p><b>Abb. 44 Fundusfoto Chorioideremie</b></p>	
	
<p><b>Abb. 45 FAF Chorioideremie</b></p>	<p><b>Abb. 46 NIA Chorioideremie</b></p>

Im zweiten Fall finden sich am hinteren Pol fleckförmige Herabsetzungen der Fluoreszenz (Intensität 3,4) sowie kleinere fleckige Fluoreszenzerhöhungen (Intensität 2; Abb. 48). In der NIA ist eine herabgesetzte Fluoreszenz des gesamten hinteren Pols nachweisbar (Intensität 3) mit in Form, Größe und Lokalisation den Fluoreszenzmin-  
 derungen der FAF entsprechenden Fluoreszenzerhöhungen (Intensität 1,2) an Stellen erhöhter Pigmentierung (Abb. 49).

<p style="text-align: center;"><b>Chorioideremie II</b></p>	
	<p><i>Abb. 47 Fundusfoto Chorioideremie (auffallende Pigmentverklumpungen = nicht typisch )</i></p>
	
<p><b>Abb. 48 FAF Chorioideremie</b></p>	<p><b>Abb. 49 NIA Chorioideremie</b></p>

## Malattia leventinese

In dem einen untersuchten Fall mit Malattia leventinese findet sich beidseits in der FAF eine zentrale herabgesetzte Fluoreszenz (Intensität 3,4) mit umgebenden annähernd radiär verlaufenden Fluoreszenzerhöhungen und -verminderungen (Intensitäten 1,2,3,4; Abb. 51). In der NIA zeigt sich eine zentrale Erhöhung der Fluoreszenz (Intensität 1) mit umgebenden fleckigen Fluoreszenzminderungen und –erhöhungen (Intensität 1,2,3,4; Abb. 52). Die Größe der Gesamtläsion ist in FAF und NIA etwa gleich groß.

<p><b>Malattia leventinese</b></p>	
<p><i>Abb. 50 Fundusfoto Malattia leventinese</i></p>	
	
<p><i>Abb. 51 FAF Malattia leventinese</i></p>	<p><i>Abb. 52 NIA Malattia leventinese</i></p>

## Zusammenfassung:

Die Verteilungsmuster der Fluoreszenz waren in FAF und NIA in allen Fällen unterschiedlich, bei den schießscheibenförmigen und invers-schießscheibenförmigen Läsionen finden sich im Randbereich der Läsion eine Zone erhöhter FAF und erhöhter NIA.

Die Größenverteilung der Läsionen aufgeschlüsselt nach Erkrankung zeigt Tabelle 3:

Erkrankung	NIA > FAF	NIA = FAF	NIA < FAF
Adulte vit. Maculadystrophie	1	2	0
Morbus Best	2	0	0
Morbus Stargardt (zentral)	6	2	0
Morbus Stargardt (disseminiert.)	6	0	0
Retinitis pigmentosa	14	17	0
Maculadystrophie unklarer Genese	0	3	2
Zapfen-Stäbchen-Dystrophie	10	2	0
Chorioideremie	1	1	0
Malattia leventinese	0	1	0
<b>Gesamt</b>	<b>40 (=57,1%)</b>	<b>28 (= 39,2%)</b>	<b>2 (= 2,8%)</b>

*Tab. 3 Größenverteilung der Läsionen*

Die Erhöhung oder Verminderung der Fluoreszenz wurde für die jeweilige Lokalisation im Vergleich zum Normalkollektiv beurteilt.

Die Areale mit sowohl verminderten als auch erhöhten Fluoreszenzen wurden für beide Kriterien gezählt.

Die Erhöhung bzw. Verminderung der Fluoreszenz zeigt Tabelle 4:

<b>Erkrankung</b>	<b>Verminderung der NIA</b>	<b>Erhöhung der NIA i. Anteilen der Läsion</b>
Adulte vitelliforme Maculadystrophie	3 (zentral)	3 (Randbereich)
Morbus Best	2 (zentral)	2 (Randbereich)
Morbus Stargardt	14	0
Retinitis pigmentosa	21	10
Maculadystrophie unklarer Genese	2	3
Zapfen-Stäbchen-Dystrophie	9	3
Chorioideremie	2	0
Malattia leventinese	0	1
<b>Gesamt</b>	<b>53</b>	<b>22</b>

*Tab. 4 Verminderung und Erhöhung der NIA*

## 5. Diskussion

Für diese Arbeit wurden 70 Patienten mit klinischer und/oder molekulargenetischer Diagnose einer hereditären Netzhautdegeneration mit den zwei beschriebenen Methoden FAF und NIA standardisiert untersucht.

Mit diesen Methoden kann man die Lokalisation von Melanin und Lipofuszin in den Zellen des RPE kartografieren, die Zuverlässigkeit dieser Methode konnte für die FAF schon bewiesen werden.<sup>48</sup>

Melanin und Lipofuszin sind die zwei wesentlichen Pigmente im RPE und auch die wesentlichen Fluorophore. Die Melaningranulae sind im apikalen Bereich der REP-Zellen lokalisiert, wohingegen Lipofuszin im basalen Teil der Zelle gespeichert wird.<sup>49</sup>

Die Konzentration an Melanin nimmt im RPE von der Fovea zur Netzhautperipherie hin ab; die Konzentration von Lipofuszin in den Zellen des RPE dagegen steigt von peripher nach zentral an, unter Aussparung der Fovea.<sup>54</sup>

Das Melanin ist ein wesentlicher Faktor in der Entwicklung der normalen Retina und des Chiasmas, dient als Antioxidans in der RPE-Zelle, ist beteiligt an der Phagozytose der Photorezeptoraußensegmente in den RPE-Zellen, reduziert Streustrahlung und absorbiert Strahlungsenergie.<sup>70-76</sup>

Zudem schützt Melanin sowohl gegen die Photooxidation des A2E, der wichtigsten zelltoxischen Komponente des Lipofuszins, als auch gegen Schäden durch Licht im blauen Bereich des Spektrums.<sup>77</sup> Die potentiellen Schäden durch blaues Licht sind gerade in den letzten Jahren vermehrt diskutiert worden. Man vermutet, dass eine vermehrte Exposition der zentralen Netzhaut gegenüber blauem Licht die Entwicklung der altersabhängigen Maculadegeneration fördert.

Die antioxidative Wirkung des Melanins kann auf Grund oxidativer Belastung und struktureller oder funktioneller Veränderung im Aufbau des Melanins vermindert werden.<sup>78, 79</sup>

Die Intensität der Melaninautofluoreszenz kann sich mit dem Grad der Oxidation des Melanins und mit dem Lebensalter ändern,<sup>81, 84</sup> denn obwohl die Melanogenese auch für Erwachsene nachgewiesen werden konnte, reduziert sich der Melaningehalt der RPE-Zellen zwischen der ersten und neunten Lebensdekade um das 2,5fache.<sup>80, 85</sup>

Mit zunehmendem Alter sinkt der Gehalt an Melanin in der Zelle und Melanolysosome sowie Melanolipofuszin entstehen,<sup>50, 80</sup> wobei das letztere als Indikator für einen inkompletten Abbauprozess der Photorezeptoraußensegmente dient.<sup>49</sup>

Die Lipofuszingranula in den RPE-Zellen sind als Residuen der Phagozytose der Photorezeptoraußensegmente zu sehen. Diese Phagozytose-Aktivität der RPE-Zelle beginnt mit der Geburt und dauert lebenslang an, so dass die Zahl der Lipofuszingranula auch beim Gesunden im Laufe der Zeit kontinuierlich ansteigt.<sup>50, 51</sup>

Es konnte gezeigt werden, dass eine Akkumulation von Lipofuszin und ein damit korrelierender Anstieg der Intensität der Autofluoreszenz abhängig sind von der Intensität der Phagozytose der Photorezeptoraußensegmente.<sup>86</sup>

Auswirkungen einer vermehrten Lipofuszinspeicherung in der Zelle sind eine Reduktion des funktionellen zytoplasmatischen Raums, Veränderungen in der Zellarchitektur und toxische Effekte.<sup>87</sup>

Eine differenzierte Darstellung des RPE und genaue Beobachtung der alters- und krankheitsbedingten Veränderungen ist wesentlich zum Verständnis der zu Grunde liegenden pathophysiologischen Prozesse in diesem auf andere Weise schwierig zu untersuchenden Gewebe.

Eine direkte in vivo Untersuchung der Funktion einzelner Regionen des RPE ist derzeit nicht möglich.

Auf Grund seines Spektralcharakters, seines Verteilungsmusters, der Altersabhängigkeit seines Auftretens und der Lage zwischen Choriokapillaris und den Photorezeptoren ist davon auszugehen, dass Lipofuszin eines der wesentliche Fluorophore des RPE ist.<sup>48</sup> Eine messbare FAF zeigt das Vorhandensein von Lipofuszin an; eine

verminderte oder fehlende FAF spricht für eine Blockade der Fluoreszenz (z.B. Blut, retinale Blutgefäße),<sup>45</sup> einen Verlust von RPE-Zellen (z.B. geographische Atrophie)<sup>56</sup> oder fehlender Phagozytose (z.B. Leber'sche kongenitale Amaurose).<sup>61</sup>

Erhöhte Fluoreszenz zeigt eine vermehrte Entstehung von Lipofuszin an im Sinne eines Sichtbarmachens eines aktiven oder abgelaufenen pathophysiologischen Prozesses. So konnten zum Beispiel Areale erhöhter FAF nachgewiesen werden, die in Fällen von Chloroquin-Retinopathie schon früh eine Zone permanenten Funktionsverlustes,<sup>65</sup> bei Retinitis pigmentosa die Grenze des funktionstüchtigen RPE,<sup>17</sup> oder bei altersabhängiger Maculadegeneration die Zone des drohenden Zelluntergangs am Rande geographischer Atrophien<sup>56</sup> anzeigen.

Für die NIA konnte die Abhängigkeit der Fluoreszenz vom Melaningehalt des RPE nachgewiesen werden, ebenso der Anteil der von RPE und Chorioidea an der NIA und eine Erhöhung der NIA für melaninhaltige choroidale Naevi.<sup>20, 21</sup> Eine verminderte NIA konnte für funktionsuntüchtige RPE-Zellen bei Chloroquin-Retinopathie und bei altersabhängiger Maculadegeneration gezeigt werden.<sup>20, 21</sup>

## **Auswertung der Fragestellungen**

### **Hypothese 1:**

**Im untersuchten Patientengut sind Veränderungen der Nah-Infrarotautofluoreszenz nachweisbar**

Für das untersuchte Patientengut kann diese Hypothese bestätigt werden. Für nahezu alle untersuchten Fälle konnten Veränderungen im Verteilungsmuster der NIA gezeigt werden.

Obwohl bei auffälliger FAF auch stets eine pathologische NIA nachgewiesen werden konnte, erscheinen die Veränderungen in der Aufnahmetechnik gröber, was durch die geringe Intensität der Melaninfluoreszenz erklärbar ist.<sup>81, 88</sup>. Trotzdem ließen sich bei allen Patienten beurteilbare NIA-Aufnahmen dokumentieren. Es ist aber zu erwarten, dass deutliche Medientrübungen, wie z.B. eine dichte Katarakt oder ein Nachstar, die Beurteilbarkeit einer NIA ebenso beeinträchtigen wie die Qualität aller anderen Imaging-Verfahren der Netzhaut.

## **Hypothese 2:**

### **Läsionen in Fundusautofluoreszenz und Nach-Infrarot-autofluoreszenz präsentieren sich unterschiedlich**

Auch diese Annahme kann für das untersuchte Patientengut bejaht werden.

Die Läsionen zeigen unterschiedliche Muster und in vielen Fällen auch eine unterschiedliche Größe. So stellt sich das veränderte Areal in 57,1% der untersuchten Fälle in der NIA größer dar als in der FAF, in 39,2% der Fälle waren die Veränderungen etwa gleich groß und nur in etwa 2% der Fälle waren die Veränderungen der NIA kleiner als in der FAF.

Die Intensitäten und das Verteilungsmuster der Fluoreszenz zeigten sich in allen Fällen in FAF und NIA unterschiedlich, in den Fällen mit schießscheibenförmiger bzw. invers-schießscheibenförmiger Läsion fanden sich nur im Randbereich sowohl erhöhte FAF- als auch NIA-Intensitäten. Eine Erhöhung der NIA war seltener als eine Verminderung (Tab. 4).

Diese Phänomene lassen sich durch die unterschiedliche Verteilung und Funktion der beiden untersuchten Fluorophore erklären. So ist eine erhöhte Fluoreszenz in der NIA mit einem Areal von Melaninakkumulation oder erhöhter Anregung des Melanins zum Beispiel bei vermehrtem oxidativem Stress erklärbar, während eine erhöhte FAF auf eine Lipofuszinakkumulation hinweist.

In den Randbereichen einiger Läsionen findet sich sowohl eine Erhöhung der FAF als auch der NIA (Abb. 21 und 22, 27 und 28 sowie 39 und 40). In diesen Regionen scheint es sowohl zu einem vermehrten Anfall des Abbauproduktes Lipofuszin als auch zu einer Zunahme des Melaningehalts durch eine vermehrte Melanogenese zu kommen. Allerdings ist auch eine verstärkte Fluoreszenz des Melanins durch eine veränderte Oxidationsstufe eine mögliche Ursache dieses Phänomens. Es ist denkbar, dass dies die Region des aktiven degenerativen Prozesses ist.

Insgesamt zeigte sich im untersuchten Patientengut häufiger eine Verminderung der NIA, was für einen Untergang von Zellfunktion spricht. Dies im Zusammenhang mit der häufig größeren Ausdehnung der Läsion in der NIA könnte für ein mögliches früheres Auftreten von Veränderungen in der NIA im Gegensatz zur FAF sprechen.

### **Hypothese 3**

#### **Krankheitsspezifische Veränderungen der Nah-Infrarot-autofluoreszenz sind nachweisbar**

Im untersuchten Patientengut zeichnen sich spezifische Veränderungen für den Morbus Stargardt, die Retinitis pigmentosa und die Zapfen-Stäbchen-Dystrophie ab.

Beim Morbus Stargardt lassen sich sowohl in der FAF als auch in der NIA zwei verschiedene Verteilungsmuster abgrenzen: einen zentral betonten Typ und einen disseminierten Typ, damit zeigt sich auch hier die große Variabilität der möglichen Veränderungen bei dieser Erkrankung. Bei beiden Typen sind die Veränderungen der NIA in nahezu allen Fällen ausgedehnter als die der FAF. Während in der FAF Erhö-

hungen der Fluoreszenz nachgewiesen werden können, zeigte sich bei den meisten Patienten eine Verminderung der Fluoreszenz in der NIA.

Die unterschiedlichen Muster in FAF und NIA entstehen durch die verschiedenen pathophysiologischen Prozesse im Melanin- und Lipofuszin-Stoffwechsel. Für verschiedene Erkrankungsstadien und Netzhautregionen konnten beim Morbus Stargardt zum Beispiel ein unterschiedliches Verteilungsmuster der Läsionen für das peripapilläre RPE gezeigt werden.<sup>35</sup>

Insgesamt zeigt damit die NIA Schäden des Gewebes in einem größeren Ausmaß als die FAF. Es ist denkbar, dass Veränderungen in der NIA den Veränderungen in der FAF vorausgehen.

Bei der Retinitis pigmentosa zeigen sich ebenfalls Gruppen von mehr zentralen und disseminierten Veränderungen. Auch hier waren die Veränderungen bei einem großen Teil der Patienten in der NIA ausgedehnter als in der FAF und deutlicher häufiger war die Fluoreszenz erniedrigt gegenüber Erhöhungen in der FAF.

Bei zwei Patienten konnte eine segmentförmige normale Restfluoreszenz in der NIA nachgewiesen werden, die jeweils mit den Arealen der normalen Restfluoreszenz in der FAF korrespondierte.

Bei den zentralen Veränderungen korrespondiert der äußere Ring erhöhter Fluoreszenz in der NIA in etwa mit der Zone erhöhter Fluoreszenz in der FAF, hier ist eine vermehrte Aktivierung des Melanins zu unterstellen. Vermutlich handelt es sich dabei um den Bereich der Photorezeptorzellen, die als nächste vom Untergang bedroht sind. Dies wird dadurch unterstützt, dass für die FAF gezeigt wurde, dass diese Areale erhöhter FAF der Grenze der Zapfenfunktion entsprechen.<sup>10, 17</sup>

Auch die Veränderungen der Patienten mit Zapfen-Stäbchen-Dystrophie lassen sich in eine mehr zentral betonte und eine mehr disseminierte Form unterteilen. Auch hier sind die Veränderungen in der NIA im Wesentlichen größer als in der FAF und gehen meist mit einer Verminderung der Fluoreszenz einher.

Beim zentralen Typ finden sich innerhalb der Läsion in beiden Methoden eher fleckige Veränderungen im Gegensatz zum mehr homogen erscheinenden Zentrum bei der Retinitis pigmentosa. Beim disseminierten Typ erscheinen die Läsionen bei beiden Methoden ebenfalls den Veränderungen bei Morbus Stargardt ähnlicher als bei der Retinitis pigmentosa, die mehr feinfleckige Läsionen zeigt und weniger große areoläre Verminderung der Fluoreszenz.

Bei 3 der Patienten mit Zapfen-Stäbchen-Dystrophie konnte in der NIA ebenfalls die erhaltene normale Fluoreszenz des peripapilläre Gewebes nachgewiesen werden, die schon für den Morbus Stargardt beschrieben wurde.<sup>35</sup>

## **Hypothese 4**

### **Die Nah-Infrarotautofluoreszenz kann beim Verständnis der pathophysiologischen Prozesse helfen**

FAF und NIA geben uns Anhalt über die Lokalisation von zwei verschiedenen Fluorophoren der RPE-Zellen: Melanin und Lipofuszin. Beide Substanzen sind mit unterschiedlicher Verteilung und in - abhängig von Lebensalter und Phänotyp – unterschiedlicher Menge bei allen Menschen vorhanden.

Sie nehmen allerdings fast gegensätzliche Positionen im Stoffwechsel ein, dass Melanin dient im weitesten Sinne als Schutzfaktor für die Zelle und kann nur in geringen Mengen nachgebildet werden; dass Lipofuszin ist eigentlich ein „Abfallprodukt“ des Zellstoffwechsels und nimmt auch bei Gesunden mit fortgeschrittenem Lebensalter

Die Unterschiede der Verteilungsmuster von FAF und NIA weisen darauf hin, dass mit den beiden verschiedenen Methoden auch unterschiedliche pathophysiologische Mechanismen dargestellt werden können. Offenbar sind die degenerativen Prozesse jedoch krankheitsgruppenspezifisch unterschiedlich. Bei den Erkrankungen, die vor-

wiegend die Zapfen betreffen, also den Maculadystrophien und den Zapfen-Stäbchendystrophien, zeigten sich unterschiedliche Muster. Interessanterweise besteht eine hohe Variabilität der FAF und NIA selbst bei Patienten mit eindeutig nachgewiesenen Mutationen auf beiden Allelen des ABCA4-Gens. Umgekehrt wiesen Patienten mit Retinitis pigmentosa weniger ausgeprägte Unterschiede auf, obwohl hier Patienten mit autosomal dominanten, autosomal rezessiven und x-chromosomal erblichen Mutationen in unterschiedlichen Genen untersucht wurden.

Interessant wäre ein Vergleich mit histologischen Befunden, die jedoch nur begrenzt vorhanden sind und dann meist von sehr fortgeschrittenen Stadien einer dystrophischen Erkrankung. Bei der Retinitis pigmentosa sind Vergleiche mit histologischen Befunden möglich. Bei fortgeschrittener Retinitis pigmentosa fanden sich in den RPE-Zellen unter fovealen Zapfen mit noch existierenden synaptischen Verbindungen eine große Zahl von Melanolysosomen, während unter den perifovealen Zapfen mit bestehendem Verlust der synaptischen Verbindungen keine Melanolysosomen vorhanden waren.<sup>89</sup> Ein Fehlen von Melanin und bei vorhandenem Lipofuszin in subfovealen RPE-Zellen korrespondierte mit dem Fehlen der Phagozytose in einem Fall mit fortgeschrittener autosomal dominanter Retinitis pigmentosa.<sup>90</sup> Eine erhöhte Melanogenese wurde beschrieben nach erhöhter Phagozytose von Stäbchen-Außensegmenten im Tiermodell<sup>73</sup> sowie bei Photorezeptordegeneration bei Bronchialkarzinom oder Retinitis pigmentosa.<sup>89, 91</sup> Auch bei der Zapfendystrophie konnte bei einem Patienten eine erhöhte Melaninkonzentration in wenig betroffenen Arealen und eine reduzierte Melaninkonzentration in stark betroffenen Arealen nachgewiesen werden.<sup>92</sup> Vergleichbare histologische Untersuchungen von Patienten mit M. Stargardt liegen bis jetzt nicht vor.

Insbesondere weil histologische Daten nur begrenzt verfügbar sind und der Ablauf der degenerativen Prozesse im RPE noch nicht komplett entschlüsselt ist, bietet sich mit der NIA eine neue Möglichkeit, in Kombination mit der FAF die pathophysiologi-

schen Vorgänge im RPE besser zu verstehen. Dies kann bei der Entwicklung neuer Therapieverfahren und deren Evaluierung von Bedeutung sein.<sup>93</sup>

## 6. Zusammenfassung

Die Untersuchung der Autofluoreszenz des Lipofusins (Fundusautofluoreszenz, FAF) und des Melanins (Nah-Infrarotautofluoreszenz, NIA) sind nicht-invasive Verfahren zur Untersuchung des retinalen Pigmentepithels (RPE). Für die FAF sind bei verschiedenen Netzhauterkrankungen erkrankungstypische FAF-Muster beschrieben worden. Ziel dieser Arbeit ist die Untersuchung, ob Veränderungen der NIA bei Patienten mit hereditären Netzhautdegenerationen nachweisbar sind, die Läsionen sich in FAF und NIA unterschiedlich präsentieren, krankheitsspezifische NIA-Veränderungen darstellbar sind und sich aus diesen Befunden neue Hinweise zum Verständnis der pathophysiologischen Prozesse ergeben.

FAF und NIA wurden bei 70 Patienten mit verschiedenen Netzhautdegenerationen (adulte vitelliforme Maculadystrophie, M. Best, M. Stargardt, Retinitis pigmentosa, Maculadystrophien unklarer Genese, Zapfen-Stäbchendystrophie, Chorioideremie, Malattia leventinese) mit dem Heidelberg Retina Angiograph 2 (Heidelberg Engineering, Heidelberg) gemessen und analysiert. Bei allen Patienten konnten Veränderungen der FAF und NIA dokumentiert werden. In 57,1% stellten sich die Läsionen in der NIA größer als in der FAF dar. Erhöhungen der NIA-Intensität waren seltener als deren Verminderung und seltener als Erhöhungen der FAF-Intensität. Es zeigten sich für M. Stargardt, Retinitis pigmentosa und Zapfen-Stäbchendystrophie krankheitsspezifische Muster in der NIA. Die Ergebnisse der NIA zeigen, dass Melanin und Lipofuszin unterschiedlich in die pathophysiologischen Prozesse des RPE eingebunden sind. Ursache für eine erhöhte NIA-Intensität kann eine vermehrte Melanogenese oder eine erhöhte Anregung des Melanins bei oxidativen Prozessen sein. Eine verminderte NIA-Intensität weist auf eine verminderte Funktion oder einen Verlust der RPE-Zelle hin. Da Areale verminderter NIA-Intensität häufig größer waren als die entsprechenden Veränderungen in der FAF, ist es möglich, dass Veränderungen in der NIA zeitlich früher auftreten.

Die NIA ist eine neues nicht-invasives Verfahren, dass nach den hier vorgelegten Ergebnissen neue ergänzende Informationen zur Diagnostik und zum pathophysiologischen Verständnis von hereditären Netzhautdegenerationen ergibt.

## 7. Literatur

1. Kellner U, Renner AB and Tillack H. Hereditäre Netzhaut-Aderhaut-Dystrophien Teil 2: Differenzialdiagnose. *Ophthalmologe*. 2004;101:397-412
2. Ruther K, Gal A and Kohlschütter A. Relevanz ophthalmologischer Diagnostik für die Betreuung von Patienten mit juveniler neuronaler Ceroid-Lipofuszinose. *Klin Monatsbl Augenheilkd*. 2006;223:542-4
3. Kellner U, Tillack H and Renner AB. Hereditäre Netzhaut-Aderhaut-Dystrophien Teil 1: Pathogenese, Diagnostik, Therapie, Patientenbetreuung. *Ophthalmologe*. 2004;101:307-19
4. Bach M and Kellner U. Elektrophysiologische Diagnostik in der Ophthalmologie. *Ophthalmologe*. 2000;97:898-920
5. Lorenz B. Diagnostik und Beratung bei Netzhautdystrophien im Kindes- und Erwachsenenalter. *Med Gen*. 2003;15:180-185
6. Kretschmann U, Seeliger MW, Ruether K, Usui T, Apfelstedt-Sylla E and Zrenner E. Multifocal electroretinography in patients with Stargardt's macular dystrophy. *Br J Ophthalmol*. 1998;82:267-75.
7. Seeliger MW, Jurklics B, Kellner U, Palmowski A, Bach M and Kretschmann U. Multifokale Elektroretinographie (mfERG). *Ophthalmologe*. 2001;98:1112-27; quiz 1128-9
8. Ruether K and Kellner U. Inner retinal function in hereditary retinal dystrophies. *Acta Anat (Basel)*. 1998;162:169-77
9. Souka AA, Hillenkamp J, Gora F, Gabel VP and Framme C. Correlation between optical coherence tomography and autofluorescence in acute posterior multifocal placoid pigment epitheliopathy. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 2006;
10. Popovic P, Jarc-Vidmar M and Hawlina M. Abnormal fundus autofluorescence in relation to retinal function in patients with retinitis pigmentosa. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 2005;243:1018-27
11. Wabbels B, Preising MN, Kretschmann U, Demmler A and Lorenz B. Genotype-phenotype correlation and longitudinal course in ten families with Best vitelliform macular dystrophy. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 2006;
12. Delori FC, Staurenghi G, Arend O, Dorey CK, Goger DG and Weiter JJ. In vivo measurement of lipofuscin in Stargardt's disease--Fundus flavimaculatus. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 1995;36:2327-31
13. von Ruckmann A, Fitzke FW and Bird AC. In vivo fundus autofluorescence in macular dystrophies. *Arch Ophthalmol*. 1997;115:609-15
14. von Ruckmann A, Schmidt KG, Fitzke FW, Bird AC and Jacobi KW. Fundus-Autofluoreszenz bei Patienten mit vererbten Makuladystrophien, Malattia leventinese, familiar dominanten und altersbedingten Drusen. *Klin Monatsbl Augenheilkd*. 1998;213:81-6
15. Renner AB, Tillack H, Kraus H, et al. Late onset is common in best macular dystrophy associated with VMD2 gene mutations. *Ophthalmology*. 2005;112:586-92

16. Renner AB, Tillack H, Kraus H, et al. Morphology and functional characteristics in adult vitelliform macular dystrophy. *Retina*. 2004;24:929-39
17. Robson AG, Saihan Z, Jenkins SA, et al. Functional characterisation and serial imaging of abnormal fundus autofluorescence in patients with retinitis pigmentosa and normal visual acuity. *Br J Ophthalmol*. 2006;90:472-9
18. Scholl HP, Chong NH, Robson AG, Holder GE, Moore AT and Bird AC. Fundus autofluorescence in patients with leber congenital amaurosis. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2004;45:2747-52
19. Holder GE, Robson AG, Hogg CR, Kurz-Levin M, Lois N and Bird AC. Pattern ERG: clinical overview, and some observations on associated fundus autofluorescence imaging in inherited maculopathy. *Doc Ophthalmol*. 2003;106:17-23
20. 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
21. Keilhauer CN and Delori FC. Near-infrared autofluorescence imaging of the fundus: visualization of ocular melanin. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2006;47:3556-64
22. Eysel U. Signalaufnahme und Verarbeitung in der Netzhaut. *Ophthalmologe*. 2007;104:79-90
23. Rodieck, RW. The first steps in seeing. Sinauer, Sunderland, Mass. 1998
24. Brecher R and Bird AC. Adult vitelliform macular dystrophy. *Eye*. 1990;4:210-5
25. Do P and Ferrucci S. Adult-onset foveomacular vitelliform dystrophy. *Optometry*. 2006;77:156-66
26. Wells J, Wroblewski J, Keen J, et al. Mutations in the human retinal degeneration slow (RDS) gene can cause either retinitis pigmentosa or macular dystrophy. *Nat Genet*. 1993;3:213-8
27. Felbor U, Schilling H and Weber BH. Adult vitelliform macular dystrophy is frequently associated with mutations in the peripherin/RDS gene. *Hum Mutat*. 1997;10:301-9
28. Kramer F, White K, Pauleikhoff D, et al. Mutations in the VMD2 gene are associated with juvenile-onset vitelliform macular dystrophy (Best disease) and adult vitelliform macular dystrophy but not age-related macular degeneration. *Eur J Hum Genet*. 2000;8:286-92
29. Seddon JM, Sharma S, Chong S, Hutchinson A, Allikmets R and Adelman RA. Phenotype and genotype correlations in two best families. *Ophthalmology*. 2003;110:1724-31
30. Rotenstreich Y, Fishman GA and Anderson RJ. Visual acuity loss and clinical observations in a large series of patients with Stargardt disease. *Ophthalmology*. 2003;110:1151-8
31. Simonelli F, Testa F, Zernant J, et al. Genotype-phenotype correlation in Italian families with Stargardt disease. *Ophthalmic Res*. 2005;37:159-67
32. Oh KT, Weleber RG, Stone EM, Oh DM, Rosenow J and Billingslea AM. Electroretinographic findings in patients with Stargardt disease and fundus flavimaculatus. *Retina*. 2004;24:920-8

33. Koenekoop RK. The gene for Stargardt disease, ABCA4, is a major retinal gene: a mini-review. *Ophthalmic Genet.* 2003;24:75-80
34. Maugeri A, Meire F, Hoyng CB, et al. A novel mutation in the ELOVL4 gene causes autosomal dominant Stargardt-like macular dystrophy. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2004;45:4263-7
35. Cideciyan AV, Swider M, Aleman TS, et al. ABCA4-associated retinal degenerations spare structure and function of the human parapapillary retina. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2005;46:4739-46
36. Rivolta C, Sharon D, DeAngelis MM and Dryja TP. Retinitis pigmentosa and allied diseases: numerous diseases, genes, and inheritance patterns. *Hum Mol Genet.* 2002;11:1219-27
37. Hartong DT, Berson EL and Dryja TP. Retinitis pigmentosa. *Lancet.* 2006;368:1795-809
38. Daiger SP, Bowne SJ and Sullivan LS. Perspective on genes and mutations causing retinitis pigmentosa. *Arch Ophthalmol.* 2007;125:151-8
39. Kellner U, Jandek C, Kraus H and Foerster MH. Hereditäre Makuladystrophien. *Ophthalmologe.* 1998;95:597-601
40. Hamel CP. Cone rod dystrophies. *Orphanet J Rare Dis.* 2007;2:7
41. Klevering BJ, Deutman AF, Maugeri A, Cremers FP and Hoyng CB. The spectrum of retinal phenotypes caused by mutations in the ABCA4 gene. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol.* 2005;243:90-100
42. Renner AB, Kellner U, Cropp E, et al. Choroideremia: Variability of clinical and electrophysiological characteristics and first report of a negative electroretinogram. *Ophthalmology.* 2006;in press
43. Roberts MF, Fishman GA, Roberts DK, et al. Retrospective, longitudinal, and cross sectional study of visual acuity impairment in choroideraemia. *Br J Ophthalmol.* 2002;86:658-62
44. Evans K, Gregory CY, Wijesuriya SD, et al. Assessment of the phenotypic range seen in Doyme honeycomb retinal dystrophy. *Arch Ophthalmol.* 1997;115:904-10
45. Holz FG. Autofluorescence Imaging der Makula. *Ophthalmologe.* 2001;98:10-8.
46. Webb RH, Hughes GW and Delori FC. Confocal scanning laser ophthalmoscope. *Applied Optics.* 1987;26:1492-1499
47. Webb RH. Theoretical basis of confocal microscopy. *Methods Enzymol.* 1999;307:3-20
48. Delori FC, Dorey CK, Staurenghi G, Arend O, Goger DG and Weiter JJ. In vivo fluorescence of the ocular fundus exhibits retinal pigment epithelium lipofuscin characteristics. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1995;36:718-29
49. Feeney L. Lipofuscin and melanin of human retinal pigment epithelium. Fluorescence, enzyme cytochemical, and ultrastructural studies. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1978;17:583-600

50. Feeney-Burns L, Hilderbrand ES and Eldridge S. Aging human RPE: morphometric analysis of macular, equatorial, and peripheral cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1984;25:195-200
51. Kennedy CJ, Rakoczy PE and Constable IJ. Lipofuscin of the retinal pigment epithelium: a review. *Eye.* 1995;9:763-71
52. Delori FC, Goger DG and Dorey CK. Age-related accumulation and spatial distribution of lipofuscin in RPE of normal subjects. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2001;42:1855-66
53. Holz FG. Autofluoreszenz-Imaging der Makula. *Ophthalmologe.* 2001;98:10-8
54. Weiter JJ, Delori FC, Wing GL and Fitch KA. Retinal pigment epithelial lipofuscin and melanin and choroidal melanin in human eyes. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1986;27:145-52
55. Holz FG, Bellman C, Staudt S, Schutt F and Volcker HE. Fundus autofluorescence and development of geographic atrophy in age-related macular degeneration. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2001;42:1051-6
56. Bindewald A, Schmitz-Valckenberg S, Jorzik JJ, et al. Classification of abnormal fundus autofluorescence patterns in the junctional zone of geographic atrophy in patients with age related macular degeneration. *Br J Ophthalmol.* 2005;89:874-8
57. Shiraki K, Kohno T, Moriwaki M and Yanagihara N. Fundus autofluorescence in patients with pseudoxanthoma elasticum. *Int Ophthalmol.* 2001;24:243-8
58. Lois N, Halfyard AS, Bird AC, Holder GE and Fitzke FW. Fundus autofluorescence in Stargardt macular dystrophy-fundus flavimaculatus. *Am J Ophthalmol.* 2004;138:55-63
59. Robson AG, Egan C, Holder GE, Bird AC and Fitzke FW. Comparing rod and cone function with fundus autofluorescence images in retinitis pigmentosa. *Adv Exp Med Biol.* 2003;533:41-7
60. Robson AG, Egan CA, Luong VA, Bird AC, Holder GE and Fitzke FW. Comparison of fundus autofluorescence with photopic and scotopic fine-matrix mapping in patients with retinitis pigmentosa and normal visual acuity. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2004;45:4119-25
61. Lorenz B, Wabbels B, Wegscheider E, Hamel CP, Drexler W and Preising MN. Lack of fundus autofluorescence to 488 nanometers from childhood on in patients with early-onset severe retinal dystrophy associated with mutations in RPE65. *Ophthalmology.* 2004;111:1585-94
62. Wegscheider E, Preising MN and Lorenz B. Fundus autofluorescence in carriers of X-linked recessive retinitis pigmentosa associated with mutations in RPGR, and correlation with electrophysiological and psychophysical data. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol.* 2004;42:501-11
63. Wabbels B, Demmler A, Paunescu K, Wegscheider E, Preising MN and Lorenz B. Fundus autofluorescence in children and teenagers with hereditary retinal diseases. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol.* 2006;44:36-45
64. Kellner U, Wissinger B, Tippmann S, Kohl S, Kraus H and Foerster MH. Blue cone monochromatism: clinical findings in patients with mutations in the red/green opsin gene cluster. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol.* 2004;42:729-35

65. Kellner U, Renner AB and Tillack H. Fundus autofluorescence and mfERG for early detection of retinal alterations in patients using chloroquine/hydroxychloroquine. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2006;47:3531-8
66. Jaeger W, Gotz ML and Blankenagel A. Kann die Verwendung der Infrarot-Photographie Hinweise auf die Prognose hereditärer Makuladegenerationen geben?. *Klin Monatsbl Augenheilkd.* 1986;188:178-81.
67. Remky A, Arend O, Elsner AE, Toonen F, Wolf S and Reim M. Digital imaging of central serous retinopathy using infrared illumination. *Ger J Ophthalmol.* 1995;4:203-6
68. Elsner AE, Burns SA, Weiter JJ and Delori FC. Infrared imaging of sub-retinal structures in the human ocular fundus. *Vision Res.* 1996;36:191-205
69. Piccolino FC, Borgia L, Zinicola E, Iester M and Torrielli S. Pre-injection fluorescence in indocyanine green angiography. *Ophthalmology.* 1996;103:1837-45
70. Jeffery G. The retinal pigment epithelium as a developmental regulator of the neural retina. *Eye.* 1998;12 ( Pt 3b):499-503
71. Seagle BL, Rezai KA, Kobori Y, Gasyna EM, Rezaei KA and Norris JR, Jr. Melanin photoprotection in the human retinal pigment epithelium and its correlation with light-induced cell apoptosis. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2005;102:8978-83
72. Peters S, Lamah T, Kokkinou D, Bartz-Schmidt KU and Schraermeyer U. Melanin protects choroidal blood vessels against light toxicity. *Z Naturforsch [C].* 2006;61:427-33
73. Peters S, Kayatz P, Heimann K and Schraermeyer U. Subretinal injection of rod outer segments leads to an increase in the number of early-stage melanosomes in retinal pigment epithelial cells. *Ophthalmic Res.* 2000;32:52-6
74. Thumann G, Bartz-Schmidt KU, Kociok N, Heimann K and Schraemeyer U. Ultimate fate of rod outer segments in the retinal pigment epithelium. *Pigment Cell Res.* 1999;12:311-5
75. Schraermeyer U, Peters S, Thumann G, Kociok N and Heimann K. Melanin granules of retinal pigment epithelium are connected with the lysosomal degradation pathway. *Exp Eye Res.* 1999;68:237-45
76. Nilsson SE, Sundelin SP, Wihlmark U and Brunk UT. Aging of cultured retinal pigment epithelial cells: oxidative reactions, lipofuscin formation and blue light damage. *Doc Ophthalmol.* 2003;106:13-6
77. Wang Z, Dillon J and Gaillard ER. Antioxidant properties of melanin in retinal pigment epithelial cells. *Photochem Photobiol.* 2006;82:474-9
78. Zareba M, Szewczyk G, Sarna T, et al. Effects of Photodegradation on the Physical and Antioxidant Properties of Melanosomes Isolated from Retinal Pigment Epithelium. *Photochem Photobiol.* 2006;
79. Sarna T. Properties and function of the ocular melanin--a photobiophysical view. *J Photochem Photobiol B.* 1992;12:215-58

80. Sarna T, Burke JM, Korytowski W, et al. Loss of melanin from human RPE with aging: possible role of melanin photooxidation. *Exp Eye Res.* 2003;76:89-98
81. Boulton M, Docchio F, Dayhaw-Barker P, Ramponi R and Cubeddu R. 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
82. Marmor MF, Holder GE, Seeliger MW and Yamamoto S. Standard for clinical electroretinography (2004 update). *Doc Ophthalmol.* 2004;108:107-14
83. Marmor MF, Hood DC, Keating D, Kondo M, Seeliger MW and Miyake Y. Guidelines for basic multifocal electroretinography (mfERG). *Doc Ophthalmol.* 2003;106:105-15
84. Kayatz P, Thumann G, Luther TT, et al. Oxidation causes melanin fluorescence. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2001;42:241-6
85. Smith-Thomas L, Richardson P, Thody AJ, et al. Human ocular melanocytes and retinal pigment epithelial cells differ in their melanogenic properties in vivo and in vitro. *Curr Eye Res.* 1996;15:1079-91
86. Rakoczy P, Kennedy C, Thompson-Wallis D, Mann K and Constable I. Changes in retinal pigment epithelial cell autofluorescence and protein expression associated with phagocytosis of rod outer segments in vitro. *Biol Cell.* 1992;76:49-54
87. Boulton M and Dayhaw-Barker P. The role of the retinal pigment epithelium: topographical variation and ageing changes. *Eye.* 2001;15:384-9
88. Docchio F, Boulton M, Cubeddu R, Ramponi R and Barker PD. Age-related changes in the fluorescence of melanin and lipofuscin granules of the retinal pigment epithelium: a time-resolved fluorescence spectroscopy study. *Photochem Photobiol.* 1991;54:247-53
89. Szamier RB and Berson EL. Retinal ultrastructure in advanced retinitis pigmentosa. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1977;16:947-62
90. Kolb H and Gouras P. Electron microscopic observations of human retinitis pigmentosa, dominantly inherited. *Invest Ophthalmol.* 1974;13:487-98
91. Buchanan TA, Gardiner TA and Archer DB. An ultrastructural study of retinal photoreceptor degeneration associated with bronchial carcinoma. *Am J Ophthalmol.* 1984;97:277-87
92. Buchanan TAS, Gardiner TA, de Jesus V, Eustace P and Archer DB. Retinal ultrastructural findings in cone degeneration. *Am J Ophthalmol.* 1988;106:405-413
93. Ruther K and Bartsch U. Therapeutische Strategien bei erblichen Netzhauterkrankungen. *Ophthalmologe.* 2005;102:755-6

## **8. Anhang**

### **8.1 Danksagung**

Herrn Prof. Dr. K. Rütger danke ich für die Ermöglichung der interessanten Arbeit und seine freundliche und umfassende Betreuung.

Frau S. Weinitz, technische Assistentin im AugenZentrum Siegburg, danke ich für die Betreuung der Patienten mit hereditären Netzhautdegenerationen einschließlich der Durchführung elektrophysiologischer Untersuchung und der Durchführung der fotografischen Dokumentation.

Meinem Mann danke ich für Geduld und Verständnis für viele vor dem Monitor verbrachten Stunden.

Meinen Eltern danke ich für die Ermöglichung meiner Ausbildung in meinem Wunschberuf.

## **8.2 Lebenslauf**

Mein Lebenslauf wird aus Datenschutzgründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht mit veröffentlicht.

### 8.3. Erklärung

„Ich, Simone Kellner, erkläre, dass ich die vorgelegte Dissertationsschrift mit dem Thema: „ **Autofluoreszenz von Lipofuszin und Melanin im retinalen Pigmentepithel bei Patienten mit hereditären Netzhautdegenerationen** “ 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.“

20.8.2007

Simone Kellner