

Aus dem
Department für Augenheilkunde Tübingen
Forschungsinstitut für Augenheilkunde

**Verlauf der Dunkeladaptationsendschwelle im
Krankheitsverlauf der Retinitis Pigmentosa**

**Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin**

**der Medizinischen Fakultät
der Eberhard Karls Universität
zu Tübingen**

vorgelegt von

Gagel, Christian Alexander

2021

Dekan: Prof. Dr. B. Pichler

1. Berichterstatter: Professorin Dr. K. Stingl
2. Berichterstatter: Professor Dr. F. Ziemssen

Tag der Disputation: 29.06.2021

Inhaltsverzeichnis	2
Abbildungsverzeichnis.....	5
Abkürzungsverzeichnis.....	7
1) Einleitung.....	8
1.1) Anatomie und Physiologie des Auges.....	8
1.2) Retinitis Pigmentosa.....	11
1.2.1) Epidemiologie.....	11
1.2.2) Pathogenese.....	12
1.2.3) Vererbungsmuster.....	13
1.2.4) Symptome und Krankheitsverlauf.....	14
1.2.4.1) Untersuchungsbefund.....	15
1.2.5) Diagnostik.....	15
1.2.6) Behandlung.....	17
1.3) Dunkeladaptation des Auges.....	17
1.3.1) Goldmann-Weekers Adaptometer.....	17
1.3.2) Full-field Stimulus Threshold (FST).....	18
1.4) Zielsetzung für diese Doktorarbeit.....	22
2) Material und Methoden	23
2.1) Patienten.....	23
2.2) Messmethode.....	24
2.3) Auswertung.....	24

3) Ergebnisse.....	27
3.1) Untersuchung des Zusammenhanges zwischen den FST Werten der einzelnen Patienten und verstrichener Zeit.....	27
3.1.1) Untersuchung des Zusammenhanges zwischen den FST Werten der einzelnen Patienten und deren Lebensalter zum Zeitpunkt der jeweiligen FST Messung.....	27
3.1.2) Untersuchung des Zusammenhanges zwischen den FST Werten der einzelnen Patienten und deren Beschwerdedauer zum Zeitpunkt der jeweiligen FST Messung.....	30
3.2) Untersuchung des Zusammenhanges zwischen der Differenz zwischen FST Werten der einzelnen Patienten für blaues und rotes Licht und verstrichener Zeit.....	35
3.2.1) Untersuchung des Zusammenhanges zwischen der Differenz zwischen FST Werten der einzelnen Patienten für blaues und rotes Licht und deren Lebensalter zum Zeitpunkt der jeweiligen FST Messung.....	35
3.2.2) Untersuchung des Zusammenhanges zwischen der Differenz zwischen FST Werten der einzelnen Patienten für blaues und rotes Licht und deren Beschwerdedauer zum Zeitpunkt der jeweiligen FST Messung.....	36
3.3) Inter-visit variability.....	38
4) Diskussion.....	41
5) Zusammenfassung.....	50
6) Literaturverzeichnis.....	51
7) Erklärung zum Eigenanteil der Dissertationsschrift	54
8) Danksagung	55

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1:	Farbspektrum von weißem, blauem und rotem Licht, wie es im FST von Roman et.al. verwendet wurde.....	19
Abbildung 2:	FST Werte für weißes Licht gegen das Alter aufgetragen, mit $\rho = 0,024$ und $p = 0,721$	28
Abbildung 3:	FST Werte für blaues Licht gegen das Alter aufgetragen, mit $\rho = -0,118$ und $p = 0,378$	29
Abbildung 4:	FST Werte für rotes Licht gegen das Alter aufgetragen, mit $\rho = -0,025$ und $p = 0,875$	30
Abbildung 5:	FST Werte für weißes Licht gegen die Beschwerdedauer aufgetragen, mit $\rho = 0,298$ und $p = 0,000$	31
Abbildung 6:	FST Werte für blaues Licht gegen die Beschwerdedauer aufgetragen, mit $\rho = 0,424$ und $p = 0,005$	32
Abbildung 7:	FST Werte für rotes Licht gegen die Beschwerdedauer aufgetragen, mit $\rho = 0,274$ und $p = 0,117$	34
Abbildung 8:	Differenzen zwischen den FST Werte für blaues und rotes Licht der verschiedenen Einzelpersonen gegen das Lebensalter zum Zeitpunkt der FST Messung aufgetragen, mit $\rho = 0,128$ und $p = 0,444$	36
Abbildung 9:	Differenzen zwischen den FST Werte für blaues und rotes Licht der verschiedenen Einzelpersonen gegen die Beschwerdedauer zum Zeitpunkt der FST Messung aufgetragen, mit $\rho = 0,387$ und $p = 0,029$	37
Abbildung 10:	Bland Altman für weiße FST Werte, mit dem Mittelwert der Differenz zwischen den Werten von $-1,9$ dB und einer Standardabweichung von $\pm 6,6$ dB.....	38

Abbildung 11:	Bland Altman für blaue FST Werte, mit dem Mittelwert der Differenz zwischen den Werten von -0,81 dB und einer Standardabweichung von $\pm 3,5$ dB.....	39
Abbildung 12:	Bland Altman für rote FST Werte, mit dem Mittelwert der Differenz zwischen den Werten von -0,56 dB und einer Standardabweichung von $\pm 2,8$ dB.....	40

Abkürzungsverzeichnis

BDG: Beschwerdedauergruppe

cd: Candela

cGMP: cyclisches Guanosinmonophosphat

D-FST: Diagnosys FST

dB: Dezibel

FST: Fullfield Stimulus Threshold

GMP: Guanosinmonophosphat

log: Logarithmus

m: Meter

mm: Millimeter

ms: Millisekunde

nm: Nanometer

s: Sekunde

SD: Standardabweichung

1) Einleitung

1.1) Anatomie und Physiologie des Auges

Das menschliche Auge ermöglicht es, Licht in einem Spektrum zwischen 400nm und 750nm Wellenlänge wahrzunehmen (Lüllmann-Rauch and Paulsen 2012). Während der vordere Abschnitt für die Lichtbrechung zuständig ist, liegt im hinteren Augenabschnitt die Retina, welche für die Umwandlung des Lichts in ein neuronales Signal verantwortlich ist (Gekle and Others 2015). Die Retina lässt sich, basierend auf der pränatalen Entwicklung, als ein vorgestülpter Teil des Diencephalon verstehen, weshalb in ihr auch typische Gewebezeichen des Zentralen Nervensystems (ZNS) anzutreffen sind (Ulfig 2008, Ulfig 2009, Schünke, Schulte et al. 2012). In ihr liegen die ersten drei Neurone der Sehbahn: als erstes Neuron werden die Photorezeptorzellen, als zweites Neuron die Bipolarzellen und als drittes Neuron die Ganglienzellen bezeichnet (Lüllmann-Rauch and Paulsen 2012). Zahlreiche weitere Zellarten, die diese Neurone miteinander verbinden, befinden sich in der Netzhaut, wie Horizontalzellen, Amakrinzellen oder die speziellen Gliazellen der Retina, die Müllerzellen. Während die Horizontalzellen und Amakrinzellen eine modulatorische Funktion auf die Aktivität jeweils der Photorezeptoren oder der inneren Netzhaut haben, sind Müllerzellen unterstützende Gliazellen (Grehn Juli 2005).

Die Photorezeptorzellen sind die eigentlichen Lichtsinneszellen (Salesse 2017). In der menschlichen Retina existieren 2 Arten von Photorezeptorzellen: die Stäbchen (Englisch: rods) und die Zapfen (Englisch: cones). Beide Zelltypen enthalten spezifische Sehpigmente; die Zapfen das Iodopsin und die Stäbchen das Rhodopsin. Ein Sehpigment besteht aus einem Opsin und einem Chromophor - beim Menschen das 11-cis-Retinal. Trifft nun ein Photon ausreichender Energie auf das Sehpigment, findet eine Isomerisierung des 11-cis-Retinal zum all-trans-Retinal statt (Loeffler 2014, Saari 2016). Es folgt eine Kaskade an intrazellulären Mechanismen einschließlich Aktivierung von Phosphodiesterasen und Spaltung von cGMP (cyklisches

Guanosinmonophosphat) in GMP. Am Ende der Sehzykluskaskade steht die Schließung von Natrium- und Kalzium-Kanälen und Hyperpolarisation des Photorezeptors als Aktionspotential der Zapfen und Stäbchen. Somit unterscheiden sich die Photorezeptoren von anderen Neuronen, bei denen das Aktionspotential eine Depolarisierung der Zellmembran darstellt (Saari 2016, Salesse 2017, Yue, Silverman et al. 2019). Während die Regeneration des Retinals in den Zapfen in glialen Müllerzellen abläuft, findet es bei den Stäbchen im Pigmentepithel der Retina statt (Salesse 2017). Der Mensch besitzt ca. 120 Millionen Stäbchen und 6 Millionen Zapfen. Während die Zapfen vor allem im Zentrum der Retina, Fovea centralis, dem Bereich des schärfsten Sehens vorkommen und in der Peripherie in geringerer Anzahl anzutreffend sind, kommen die Stäbchen in der Fovea centralis gar nicht vor, sondern liegen in der Peripherie, mit dem Maximum der Zelldichte um 20° Exzentrizität des Gesichtsfeldes. Die Stäbchen haben ihr Absorbptionsmaximum für Licht bei einer Wellenlänge von 500 nm. Sie sind auf Grund ihrer hohen Empfindlichkeit für Licht für das Nachtsehen zuständig. Mit den Stäbchen können wir keine Farben unterscheiden, sie haben auf Grund der größeren Konvergenz eine schlechtere Auflösung als Zapfen, jedoch erhöht dies weiter ihre Lichtempfindlichkeit. Ihre zeitliche Auflösung ist schlechter als die von Zapfen, was wiederum zur Folge hat, dass ein Stäbchen einen längeren Zeitraum nutzen kann um Lichtreize aufzunehmen, ehe es dieses als elektrisches Signal weitergibt. Dadurch ist die Empfindlichkeit der Stäbchen für schwache Lichtreize weiter erhöht. Im Dunkeln kann der Mensch bis zu 20 bis 30 Lichtreize pro Sekunde wahrnehmen (sogenannte Flimmerfusionsfrequenz); im Hellen sind es dagegen 50 bis 80. Bei den Zapfen unterscheidet man drei Arten, die K(urzwelligigen), die M(ittelwelligigen)- und die L(angwelligigen)- Zapfen, die ihre spezifischen Absorbtionsmaxima bei verschiedenen Wellenlängen haben und somit umgangssprachlich auch als blaue, grüne und rote Zapfen bezeichnet werden, da sie Lichtreize in den entsprechenden spektralen Bereichen in neuronale Impulse umwandeln. Die K-Zapfen haben ihr Absorbptionsmaximum bei einer Wellenlänge von 420 nm (blaues Licht), die M-Zapfen bei 535 nm (grünes Licht) und die L-Zapfen bei 565 nm (rotes Licht). Ihnen ist gemeinsam, dass sie,

verglichen mit Stäbchen, eine geringere Empfindlichkeit sowie eine geringere Konvergenz aufweisen. Dies führt zu erhöhtem Auflösungsvermögen und einer kürzeren Flimmerfusionsfrequenz, d.h., verbesserter räumlicher und zeitlicher Auflösung der visuellen Wahrnehmung (Wandell 1995, Gekle and Others 2015). Die Bipolarzellen sind die zweiten Neurone der Sehbahn. Dabei wird zwischen Zapfen- und Stäbchenbipolarzellen unterschieden, welche jeweils entweder nur von Zapfen oder nur von Stäbchen ihre Signale erhalten. Die Zapfenbipolarzellen teilen sich weiter in sogenannte ON und OFF Bipolarzellen. Bipolarzellen depolarisieren (ON-Bipolarzellen) oder hyperpolarisieren (OFF-Bipolarzellen) in Folge der Beleuchtung ihrer Photorezeptoren, was in der zapfenvermittelten Sehbahn eine Art Verstärkung der Kontrastwahrnehmung bewirkt. In der Ebene der Bipolarzellen findet bereits die erste Stufe der Konvergenz statt, die vor allem in der Peripherie und im Stäbchensystem ausgeprägt ist. So entstehen sogenannte rezeptive Felder. In der Fovea centralis, dem Bereich des schärfsten Sehens bezieht jede Bipolarzelle ihre elektrischen Signale nur von einem Zapfen, außerhalb sind es fünf bis 20 Zapfen, die ihre Signale an eine Bipolarzelle weitergeben. Die Stäbchen-Bipolarzellen haben ein sekundäres rezeptives Feld von 15 bis 45 Stäbchen. Dies sorgt für eine höhere Sensitivität gegenüber dem Lichtreiz einerseits, aber einem verminderten räumlichen Auflösungsvermögen andererseits. Während die Zapfen-Bipolarzellen ihre elektrischen Signale direkt auf die Ganglienzellen übertragen, transferieren Stäbchen-Bipolarzellen ihre Signale auf sogenannte All-Amakrinzellen, die ihre Ausgangssignale wiederum auf die Zapfenbipolarzellen übertragen. Die All-Amakrinzellen werden durch die sogenannten dopaminhaltigen Amakrinzellen gesteuert. So werden sie durch Helligkeit aktiviert und unterdrücken die All-Amakrinzellen, sodass bei Tageslicht bei Gesunden keine Überblendung stattfindet (Gekle and Others 2015, Schmidt Lang August 2007).

Die Ganglienzellen empfangen elektrische Signale von den Bipolarzellen und ihre Axone konvergieren zur Papille (Sehnervenkopf), wo sie das Auge verlassen und als Nervus und dann Tractus opticus zum Corpus geniculatum laterale ziehen. Auf die ca. 125 Millionen Photorezeptorzellen kommen nur 1,25

Millionen Ganglienzellen (Schünke, Schulte et al. 2012, Gekle and Others 2015).

Eine Besonderheit bilden ein kleiner Teil der Ganglienzellen, die sogenannten intrinsisch photosensitiven Ganglienzellen, die als dritte Art der Photorezeptorzellen angesehen werden können. Sie enthalten Melanopsin, welches ebenfalls ein Sehpigment ist (Do and Yau 2010, Gekle and Others 2015). So kommt es, dass selbst bei kompletter Erblindung in Folge eines kompletten Verlustes der Stäbchen und Zapfen bei Patienten autonome Funktionen wie die Pupillenreaktion und die Hemmung der Melatoninsynthese bei Lichteinfall noch funktionieren.

Nimmt die Helligkeit des Lichtes, das ein Mensch sieht, ab, so nimmt die Sensibilität seiner Augen mit der Zeit zu. Dieser Prozess wird Dunkeladaptation genannt und besteht aus drei Schritten: Zuerst erweitern sich die Pupillen, danach findet eine Steigerung der Menge an aktivierten Sehpigments statt und als letztes wird von dem Zapfensystem auf das Stäbchensystem umgeschaltet. Die Steigerung der Menge an aktiviertem Sehpigment bewirkt eine schnelle Dunkeladaptation der Zapfen, erreicht jedoch nach wenigen Minuten ihr Maximum. Schon vor Erreichen dieses Maximums bewirkt das Umschalten auf das Stäbchensystem nach ca. 9 Minuten eine weitere Dunkeladaptation. Nach 30 bis 40 Minuten erreicht die Dunkeladaptation Werte, die sehr nahe an der Endschwelle liegen, der sogenannten Dunkeladaptationsendschwelle (Friedburg 2004, Grehn Juli 2005).

1.2) Retinitis pigmentosa

1.2.1) Epidemiologie

Retinitis pigmentosa, exakter Retinopathia pigmentosa, ist eine seltene erblich bedingte Netzhauterkrankung, die eine Prävalenz von einem Erkrankten pro 3.000 – 5.000 Menschen aufweist, das heißt, dass weltweit ca. zwei Millionen Menschen an Retinitis pigmentosa erkrankt sind (Chizzolini, Galan et al. 2011). Bei der Retinitis pigmentosa werden ungefähr 50-60% autosomal-rezessiv, 30-

40% autosomal-dominant und 5-15% X-chromosomal vererbt. Meistens handelt es sich um eine nicht syndromale Erkrankung, jedoch sind 20-30% der Patienten von genetischen Syndromen betroffen. Die beiden häufigsten Syndrome sind das Usher Syndrom (Retinitis pigmentosa mit Innenohrschwerhörigkeit bis Taubheit) und das Bardet-Biedel Syndrom (Retinitis pigmentosa mit Übergewicht, geistiger Beeinträchtigung, Polydaktylie und renaler Fehlentwicklung) (Hartong, Berson et al. 2006, Forsythe, Kenny et al. 2018, Mathur and Yang 2019). Bei der nicht syndromalen Retinitis pigmentosa sind über 80 Gene bekannt, deren Mutationen für die Entstehung der Krankheit verantwortlich gemacht werden (Verbakel, van Huet et al. 2018). Die Genotyp-Phänotyp Korrelation ist oft nicht eindeutig, auch wenn bestimmte Genotypen für teilweise typische Merkmale des Phenotyps bekannt sind oder für die Progression zum Teil prädiktiv sein können (Verbakel, van Huet et al. 2018).

1.2.2) Pathogenese

Gemeinsam ist in allen Formen der Retinitis pigmentosa, dass im Verlauf langsam progredient die Stäbchen und Zapfen absterben, wobei die Stäbchendegeneration als erstes beginnt. Bei der Zapfen-Stäbchen-Dystrophie dagegen degenerieren als erstes die Zapfen, wobei sich diese beiden Erkrankungen im klinischen Alltag nicht immer voneinander trennen lassen (Chizzolini, Galan et al. 2011). Es ist außerdem festzuhalten, dass sich die Zapfen-Stäbchen-Degeneration auch oft funduskopisch von der typischen Retinitis pigmentosa durch keine bis wenige Pigmentablagerungen in der Retina unterscheidet. Heckenlively schlug 1987 vor, die Zapfen-Stäbchen-Dystrophien als eine Form der Retinitis pigmentosa zu bezeichnen (Heckenlively 1987).

Zur Unterscheidung zwischen diesen beiden Krankheiten können verschiedene Messverfahren herangezogen werden: Die Elektroretinographie (ERG) eignet sich für die Unterscheidung, ob das photopische (d.h. zapfenvermittelte) oder skotopische (d.h. stäbchenvermittelte) Sehen stärker bzw. früher beeinträchtigt ist (Heckenlively 1987, Verbakel, van Huet et al. 2018). Eine funduskopische

Untersuchung sowie hochauflösende Bildgebung der Netzhaut dient der Lokalisation und Beschreibung der Läsionen.

Da das Krankheitsbild der Retinitis pigmentosa nicht einheitlich ist, und selbst Geschwister mit denselben ursächlichen Mutationen oft unterschiedlich schwer betroffen sind, ist eine genaue Erklärung der Pathogenese ebenfalls schwierig. Es können aber drei große Untergruppen genannt werden: Ziliopathien, Stoffwechselstörungen und mitochondriale Störungen. In einem Großteil der Unterarten scheint es bestimmte veränderte Proteine zu geben, die sich auf Grund von Mutationen ablagern oder es auf Grund dessen zum Anreichern von Stoffwechselzwischenprodukten kommt. Diese äußern sich im Untersuchungsbefund als Lipofuszinanreicherungen (Verbakel, van Huet et al. 2018).

1.2.3) Vererbungsmuster

Generell lassen sich drei Arten der Vererbung bei dem Krankheitsbild der Retinitis pigmentosa unterscheiden, wobei die Art der Vererbung einen Einfluss auf die Schwere des Beschwerdeverlaufs zu haben scheint. (Chizzolini, Galan et al. 2011, Verbakel, van Huet et al. 2018).

Die X-chromosomal vererbte Form der Retinitis pigmentosa macht 5 bis 15% der Retinitis pigmentosa Patienten aus und hat oft den schwersten Beschwerdeverlauf zur Folge.

Die autosomal rezessiv vererbte Form der Retinitis pigmentosa macht 50 bis 60% der Retinitis pigmentosa Patienten aus und hat einen milderen Beschwerdeverlauf zur Folge als die X-chromosomal vererbte Form.

Die autosomal dominant vererbte Form der Retinitis pigmentosa macht 30 bis 40% der Retinitis pigmentosa Patienten aus und hat, gemessen an der verbleibenden zentralen Sehschärfe, den mildesten Krankheitsverlauf (Chizzolini, Galan et al. 2011, Verbakel, van Huet et al. 2018).

1.2.4) Symptome und Krankheitsverlauf

Retinitis pigmentosa ist eine progrediente Erkrankung, die eine hohe Variabilität sowohl in der Ausprägung der Symptome als auch im Zeitpunkt des Beschwerdebegins hat. Erschwerend kommt hinzu, dass die Geschwindigkeit der Progredienz von Patient zu Patient unterschiedlich ist. Es lassen sich jedoch für die typische Retinitis Pigmentosa Symptome zusammenfassen, die im Verlauf der Erkrankung auftreten.

Bei den meisten Patienten ist das erstmalig bemerkte Symptom ein schon in der Kindheit eingeschränktes nächtliches Sehen bis hin zur kompletten Nachtblindheit (Hemeralopie). Allerdings gibt es auch Patienten, die erst im mittleren Erwachsenenalter eine Nachtblindheit wahrnehmen. Diese nächtlichen Sehstörungen können sich auch durch eine erhöhte Blendeempfindlichkeit in der Nacht oder eine gestörte Dunkeladaptation bemerkbar machen. Im weiteren Krankheitsverlauf kommt es häufig zu einem sogenannten Ringskotom. Darunter versteht man einen Gesichtsfeldverlust, bei dem die mittlere Peripherie, meist um die 20 Grad Exzentrizität, im Gesichtsfeld fehlt. Dieser Gesichtsfeldverlust vergrößert sich im Laufe der Krankheit weiter nach außen und innen, sodass Patienten in späten Stadien oft nur noch einen Tunnelblick (auch Röhrengesichtsfeld genannt) haben. Die meisten Patienten verlieren im Langzeitverlauf auch noch diesen letzten, zentralen Anteil ihres Gesichtsfeldes und erblinden vollständig. Ebenso leiden die Betroffenen oft in frühen Stadien schon unter einer Abnahme des Kontrastsehens. Dies erklärt das subjektiv schlechte Sehen bei noch gut erhaltener objektiv gemessener Sehschärfe. Im Zuge der zunehmenden Gesichtsfeldausfälle kommt es häufig auch zu Farbwahrnehmungsstörungen und einer Reduktion der zentralen Sehschärfe. Die Farbwahrnehmungsstörungen als Zeichen der Funktionseinschränkungen der Zapfen äußern sich oft zunächst als veränderte Wahrnehmung des blauen Lichtes (sogenannte erworbene Tritanopie). Typischerweise sind beide Augen gleichermaßen betroffen (Hartong, Berson et al. 2006, Grehn Juli 2005). Zudem kommt es bei Retinitis Pigmentosa Patienten gehäuft zur Ausbildung eines grauen Stars bereits im mittleren Erwachsenenalter (Grehn Juli 2005). Bei der

Zapfen-Stäbchen-Dystrophie, sind die ersten Symptome meist eine Reduktion der zentralen Sehschärfe und eine gestörte Farbwahrnehmung, während es erst im Verlauf der Erkrankung zu einer Nachtblindheit kommt (Hartong, Berson et al. 2006).

1.2.4.1) Untersuchungsbefund

Wie bei den Symptomen gilt auch bei den Untersuchungsbefunden, dass eine erhebliche interindividuelle Variabilität besteht.

Im vorderen Augenabschnitt zeigen sich bei über 50% der von Retinitis pigmentosa betroffenen Patienten bei Spaltlampenuntersuchungen posteriore subcapsuläre Trübungen der Linse. Dieser sogenannte Polstar tritt oft bereits im mittleren Erwachsenenalter auf, vor allem bei Patienten im fortgeschrittenen Stadium mit Tunnelsehen. Ebenso finden sich oft pigmentierte Zellen bzw. Pigment im Glaskörper (Kellner 11. Februar 2006, Pruett 1983, Albert, Pruett et al. 1986, Hartong, Berson et al. 2006).

Die Retina der Betroffenen weist typischerweise drei Befunde auf:

- 1) Pigmentverklumpungen, die im Krankheitsverlauf zunehmen und auch Knochenkörperchen genannt werden,
- 2) Verdünnte Netzhautgefäße,
- 3) in späteren Stadien eine blasse, wachsgelbe atrophische Papille (Konieczka, Flammer et al. 2012, Grehn Juli 2005)

Bei Patienten, die an Retinitis pigmentosa erkrankt sind, korreliert das Kaliber der retinalen Blutgefäße mit einigen Sehfunktionen (Nakagawa, Oishi et al. 2014). Den Knochenkörperchen gehen oft weißliche Atrophieareale der peripheren und mittelperipheren Netzhaut vor (Li, Possin et al. 1995).

1.2.5) Diagnostik

Die Elektroretinographie (ERG), steht als Möglichkeit zur Diagnose der Retinitis pigmentosa zur Verfügung. Die am häufigsten verwendete Methode der ERG ist

die Ganzfeld-ERG. Daneben bestehen jedoch noch weitere ERG Arten wie zB. das multifokale ERG.

Die Vorbereitung des Ganzfeld-ERGs besteht aus der Platzierung von drei Elektroden: der Aufzeichnungselektrode, Referenzelektrode und Erdungselektrode. Die Aufzeichnungselektrode wird corneal oder conjunctival platziert. Die Referenzelektrode wird in der Regel auf der temporalen Haut, in der Nähe des hinteren Augenpols des zu messenden Auges angelegt. Die Erdungselektrode wird über dem Ohrläppchen oder Mastoid oder auch an der Stirn platziert. Damit lassen sich je nach gewähltem Messmodus Potentiale von verschiedenen Strukturen in der Netzhaut ableiten. Anhand der Amplitudenhöhe und der entsprechenden Gipfelzeiten kann man Aussagen über die jeweiligen Strukturen treffen. Beim Ganzfeld-ERG unterscheidet man sechs Protokolle, die von der ISCEV (International Society for Clinical Electrophysiology of Vision) empfohlen werden, bei jedem Patienten standardmäßig durchzuführen:

1. Dunkeladaptiertes $0.01 \text{ cd}\cdot\text{s}\cdot\text{m}^{-2}$ ERG (stäbchenvermittelte Antwort der Bipolarzellen).
2. Dunkeladaptiertes $3 \text{ cd}\cdot\text{s}\cdot\text{m}^{-2}$ ERG (kombinierte Antwort der Photorezeptoren und der Bipolarzellschicht, jeweils vom Stäbchen- und Zapfensystem. Die Stäbchen überwiegen jedoch in dieser Antwort).
3. Dunkeladaptiertes $10 \text{ cd}\cdot\text{s}\cdot\text{m}^{-2}$ ERG (kombinierte Antwort, die die Photorezeptoren verstärkt wiedergibt).
4. Dunkeladaptierte oszillatorische Potentiale (primäre Antwort der Amakrinzellen).
5. Helladaptiertes $3 \text{ cd}\cdot\text{s}\cdot\text{m}^{-2}$ ERG (Antwort des Zapfensystems).
6. Helladaptiertes 30 Hz Flimmer ERG (Antwort des Zapfensystems).

Jedoch empfiehlt die ISCEV, bei Bedarf noch weitere Protokolle durchzuführen (McCulloch, Marmor et al. 2015). Schon bevor man oben genannte typische

Befunde im Augenhintergrund finden kann und bevor Gesichtsfeldausfälle und ein Visusverlust feststellbar sind, sind die Potentiale im Ganzfeld-ERG beim Vorliegen einer Retinitis pigmentosa bereits stark reduziert (Sachsenweger Juli 2002, Grehn Juli 2005). Manchmal sind die klinischen Befunde noch nicht eindeutig zuzuordnen, während das ERG bereits keine messbaren Antworten mehr liefert.

Dem Goldmann-Weekers Adaptometer und Full-field Stimulus Threshold (kurz: FST) als Teil der Diagnostik bei Retinitis pigmentosa wird ein separates Kapitel weiter unten gewidmet.

1.2.6) Behandlung

Für die meisten Patienten steht keine ursächliche Therapie zur Verfügung (Dias, Joo et al. 2018). Im November 2018 wurde die erste Gentherapie für Retinitis pigmentosa durch bi-allelische *RPE65* Mutationen in Europa zugelassen (Russell, Bennett et al. 2017). In der Gentherapie versucht man mittels viralen Vektoren die betroffenen DNS-Abschnitte zu ersetzen, ggf. auszutauschen oder stillzulegen (Dias, Joo et al. 2018).

Neben der Gentherapie gibt es weiterhin die transkorneale Elektrostimulation, die auch für Retinitis pigmentosa zugelassen wurde. Durchgeführte klinische Studien geben Hinweise, dass dadurch bei manchen Patienten eine gewisse Verlangsamung der chronischen Progression möglich wäre (Schatz, Pach et al. 2017). Weitere Ansätze wie Pharmakotherapie sind in Phasen der klinischen Forschung (Huang 2018).

1.3) Dunkeladaptation des Auges

1.3.1) Goldmann-Weekers Adaptometer

Eine andere Methode zur Messung der Stäbchenfunktion (die Fähigkeit der Sensitivitätssteigerung durch Dunkeladaptation) ist das Goldmann-Weekers Adaptometer, welches jahrzehntelang als der Standard zur Messung der Dunkeladaptation galt (Gaffney, Binns et al. 2011). Auch hier lassen sich bei Patienten mit Retinitis pigmentosa oft schon in frühen Stadien typische Veränderungen sehen. Die Zeit, bei der alle Stäbchen voll dunkeladaptiert sind,

ist bei einem Teil der Patienten deutlich verlängert und die Dunkeladaptationsendschwelle ist erhöht (Alexander and Fishman 1984, Moore, Fitzke et al. 1992). Bei Untersuchungen mit dieser Methode wird ein kleiner Lichtreiz in einer definierten Exzentrizität (zB. 20°) mit unterschiedlichen (absteigenden) Helligkeiten angeboten. Der untersuchte muss angeben, ob der Lichtreiz gesehen wurde oder nicht. Dadurch kann der komplette Verlauf der Dunkeladaptationskurve oder nur die Dunkeladaptationsendschwelle ermittelt werden. Die größte Schwierigkeit bei dieser Methode stellt die Tatsache dar, dass der kleine Stimulus an einer bestimmten Exzentrizität nicht repräsentativ für die Degeneration der gesamten Netzhaut sein muss und/oder ausgerechnet in einem Skotom liegen kann, sodass die Messung nicht in jedem Fall validen Messergebnisse liefert (Fankhauser and Schmidt 1957, Yanoff, Duker et al. 2009).

1.3.2) Full-field Stimulus Threshold (FST)

Das FST ist ein weiteres Messverfahren, bei welchem nicht mehr einzelne Bereiche der Retina auf Ihre Empfindlichkeit oder Reaktionen auf Lichtreize hin untersucht werden, sondern die gesamte Retina (Ganzfeld, englisch full-field). Es handelt sich hierbei ebenfalls um ein subjektives, psychophysikalisches, Testverfahren, bei welchem dem Patienten Ganzfeldreize in verschiedener Intensität dargeboten werden und dieser angeben muss, ob er diesen Lichtreiz wahrgenommen hat. Je nachdem, ob er den dargebotenen Lichtreiz wahrgenommen hat oder nicht, erhöht oder senkt man die Intensität des nächsten Lichtreizes, um die Dunkeladaptationsendschwelle zu ermitteln. Dabei kann Licht in drei Farben emittiert werden: weiß, blau und rot. Es sind drei verschiedene Versionen des FSTs publiziert worden: Das FST, das FST2 und das Diagnosys FST (D-FST) (Roman, Schwartz et al. 2005, Roman, Cideciyan et al. 2007, Klein and Birch 2009).

Das FST wurde zuerst im Jahr 2005 von Roman entwickelt und ist ein speziell entwickeltes auf Hardware basierendes Testverfahren (Roman, Schwartz et al. 2005). Dabei wurde ein automatisches Perimeter, das „Humphrey Field Analyzer; model 750i; Zeiss-Humphrey Instruments, Dublin, CA“ speziell

modifiziert. Um die tatsächliche Dunkeladaptationsendschwelle zu ermitteln, durchläuft der Patient einen sogenannten Treppenalgorithmus, der in diesem Gerät vorinstalliert war. Dabei wird die Intensität eines Lichtreizes in 4 Dezibel (dB) Schritten immer weiter gesteigert, bis der Patient angibt, den Lichtreiz das erste Mal zu sehen. Danach wird der Lichtreiz in 2 dB Schritten wieder gesenkt, bis der Patient angibt, den Lichtreiz nicht mehr zu sehen. Die Dunkeladaptationsendschwelle errechnet sich aus dem schwächsten Lichtreiz, den der Patient gerade noch wahrgenommen hat. Die spektrale Zusammensetzung des Lichts ist in Abbildung 1 dargestellt:

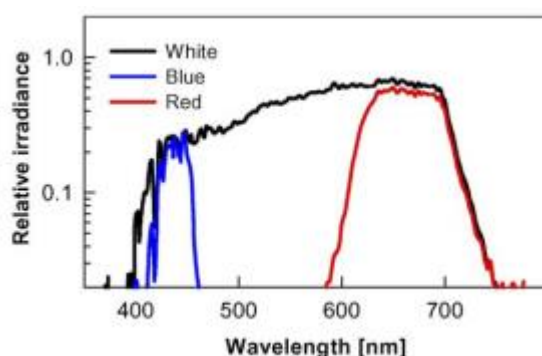


Abbildung 1: Farbspektrum von weißem, blauem und rotem Licht, wie es im FST von Roman et al. verwendet wurde (Übernommen aus der Arbeit von Roman, Schwartz et al. 2005).

Das FST2 wurde zuerst im Jahr 2007 von Roman entwickelt und ist eine speziell entwickelte Software, die auf dem „ColorDome Desktop Ganzfeld“ der Firma Diagnosys LLC aus Littleton, MA läuft (Roman, Cideciyan et al. 2007). Hierbei durchläuft die Messung ebenfalls den oben beschriebenen Treppenalgorithmus. Ein weiterer Unterschied ist, dass die Breite an Lichtintensitäten gegenüber dem FST um 2 dB auf insgesamt 80 dB erhöht ist, wodurch die minimale Lichtintensität ungefähr auf Höhe der Dunkeladaptationsendschwelle von Gesunden liegt. Der Durchschnittswert der Intensität dieser letzten noch wahrgenommenen Lichtreize (L) wird ermittelt und in die nachfolgende Formel eingesetzt. Die Sensitivität (S) errechnet sich demnach folgendermaßen:

$$S = \log_{10}(L_0/L)$$

wobei L_0 eine feststehende Referenzlichtintensität ist. In den für diese Dissertation durchgeführten Messungen entspricht dieser Referenzwert 0.01 cd.s/m^2 . Als weißes Licht wird hierbei ein vom Hersteller vorher festgelegtes Verhältnis von drei verschiedenen Farben bezeichnet, dem sogenannten „White-6500K“. Dieses Licht ist ein Gemisch aus drei Farben: blau, mit einer Wellenlänge von 465 nm, grün, mit einer Wellenlänge von 517 nm und rot, mit einer Wellenlänge von 637 nm (Roman, Cideciyan et al. 2007).

Das D-FST ist ein von der Firma Diagnosys LLC aus Littleton, MA entwickelter Test, der im „Espion“ System für Elektroretinographie integriert ist und mit dem ein käuflich erwerbbares FST Testverfahren zur Verfügung steht. Angewendet wird es wieder auf dem „ColorDome Desktop Ganzfeld“ der Firma Diagnosys LLC. Die Zusammensetzung des Lichts, sowie der Referenzwert entsprechen dabei dem des FST2. Jedoch ist der Algorithmus zum Ermitteln der Dunkeladaptationsendschwelle ein anderer: Durch den Versuchsleiter wird ein Startwert für die Lichtintensität festgelegt. Das Programm bietet dem Patienten Lichtreize in unterschiedlicher Intensität in einem Bereich von 10 dB um den Ausgangswert an, und der Patient muss angeben, ob er den Lichtreiz wahrgenommen hat oder nicht. Wenn das Programm in diesem Bereich die Dunkeladaptationsendschwelle nicht ermitteln konnte, wird dieser Bereich um 10 dB nach oben oder unten korrigiert, je nachdem, ob der Patient eine vermutlich bessere oder schlechtere Dunkeladaptationsendschwelle hat. Die tatsächliche Dunkeladaptationsendschwelle wird durch eine sogenannte Zweiparameter Weibull-Funktion berechnet und liegt bei der Lichtintensität, die in 50% der Fälle noch wahrgenommen wird, wobei diese Funktion die positiven und negativen Falschantworten berücksichtigt (Klein and Birch 2009).

Anhand der Verhältnisse der verschiedenen Wellenlängen in einem durch das Gerät dargebotenen Lichtreiz kann man abschätzen, wie sensibel Stäbchen und Zapfen auf die roten und blauen Lichtreize reagieren. Da der Lichtreiz die gesamte Retina beleuchtet, spielt es für dieses Verfahren keine Rolle, wo die noch intakten Photorezeptorzellen in der Retina lokalisiert sind. Es ist jedoch bekannt, dass der ermittelte Schwellenwert mit dem Schwellenwert der

sensibelsten noch verbleibenden Areale der Retina korreliert. Dieses Verfahren ist auch noch in späten Stadien der Netzhauterkrankungen wie Retinitis pigmentosa durchführbar, wenn zentrale Fixation nicht mehr möglich ist. Es liefert dadurch noch Messergebnisse, wenn andere Messverfahren wie die Gesichtsfeldmessung oder das ERG keine messbaren Antworten mehr geben. Die Messergebnisse, die das FST liefert, weisen eine geringe Variabilität - sowohl innerhalb eines Messtages (1,63 dB für Gesunde und 1,61 dB für Patienten) als auch zwischen verschiedenen Messtagen (1,76 dB für Gesunde und 1,95 dB für Patienten) – auf (Jacobson, Voigt et al. 1986, Roman, Schwartz et al. 2005, Klein and Birch 2009).

Dem Patienten können bei einer FST Untersuchung chromatische Reize dargeboten werden: in der Regel weiß, blau und rot. Anhand der unterschiedlichen Dunkeladaptationsendschwelle für die jeweilige Farbe kann man einschätzen, ob primär Stäbchen oder Zapfen von der retinalen Degeneration betroffen sind. Bei einem Gesunden ist die Sensitivität der Zapfen gegenüber weißem, rotem und blauem Licht etwa gleich, während die Sensitivität der Stäbchen gegenüber dem blauen Licht, aber auch dem weißen Mischlicht deutlich besser ist als gegenüber dem roten Licht. Die Differenz der Dunkeladaptationsendschwellen für blaues und rotes Licht fällt für Zapfen gering aus, während sie für die Stäbchen in der gesunden menschlichen Netzhaut um 25 dB liegt. Anhand dieser Differenz der FST-Sensitivitäten für rotes und blaues Licht kann bestimmt werden, ob die Dunkeladaptationsendschwelle durch Zapfen oder Stäbchen vermittelt wurde. Es wurde publiziert, dass Differenzwerte von 10 dB und weniger eine zapfenvermittelte Dunkeladaptationsendschwelle bedeuten (Roman, Cideciyan et al. 2007).

1.4) Zielsetzung

Ziel der vorliegenden Untersuchung ist es, den zeitlichen Verlauf der Dunkeladaptationsendschwelle, also der FST Werte, bei an Retinitis pigmentosa erkrankten Patienten zu untersuchen.

Es soll untersucht werden, wie sich die FST Werte gegen die Zeit (Alter/Beschwerdedauer) verhalten, wie sich die Differenz zwischen den FST Werten für blaues und rotes Licht verhält und es soll ein Vergleich mit den FST Werten aus der Literatur erfolgen.

2) Material und Methoden

2.1) Patienten

Bei dieser Doktorarbeit handelt es sich um eine retrospektive Studie aus den elektronischen Akten der Patienten der Spezialsprechstunde für Erbliche Netzhauterkrankungen (Department für Augenheilkunde Tübingen) mit der Diagnose Hereditäre Netzhautdystrophie (H35.5), die in den Jahren 2012 bis 2018 vorstellig waren und bei denen mindestens eine FST Messung durchgeführt worden war. Für die vorliegende Untersuchung wurden bei der Datenerhebung nur Patienten mit einer „typischen“ Retinitis Pigmentosa, also einer Stäbchen-Zapfen-Dystrophie, einschließlich des Usher Syndroms und der frühkindlichen Retinitis pigmentosa bzw. Leber-Amaurose eingeschlossen.

Folgende Daten wurden ausgewertet: Dunkeladaptationsendschwellen in dB (FST Messungen) für weißes, blaues und rotes Licht (sofern vorhanden), das Datum der FST Messung, Geburtsdatum und damit auch Alter, sowie Beschwerdebeginn (soweit bekannt) und damit Erkrankungsdauer.

Bei einigen Patienten wurden Angaben über den Beginn der Erkrankung oder dem Zeitpunkt der Erstdiagnose nicht konkret mit Jahreszahlen oder dem Lebensalter in Jahren angegeben, sondern in Lebensabschnitten, wie „Mitte 20“, „Zur Einschulung“ oder „Kleinkindalter“. Bei solchen sich situativ ergebenden Angaben wie „Zur Einschulung“ wurde angenommen, dass der Patient zu diesem Zeitpunkt sechs Jahre alt war. Angaben wie „Mitte 20“ wurden einem Patientenalter von 25 Jahren gleichgesetzt. Es wurde folgende Übersetzung von Begriffen in Zahlen durchgeführt: Früheste Kindheit, Babyalter, seit jeher, Kleinkindalter und von klein auf wurde mit Null Jahren gleichgesetzt; Jugend, Pubertät, Teenager wurde mit 12 Jahren Alter gleichgesetzt.

2.2) Messmethode

Die Untersuchungen wurden in der Augenklinik Tübingen durch das D-FST mit dem „Espion²“ System am „ColorDome Desktop Ganzfeld“ der Firma Diagnosys LLC aus Littleton, MA durchgeführt. Der Ausgangswert des Ganzfeldstimulus von 0 dB wurde als 0,01cd/m² definiert. Dabei wurde für alle drei Farben jeweils 16-mal um eine mögliche Dunkeladaptationsendschwelle herum getestet, bevor die Messung beendet wurde. Zwischen zwei Lichtreizen lagen 5 Sekunden. Die Farbzusammensetzung für weißes Licht ist ein Gemisch ("white mixed light") aus vier Farben: blau (Wellenlänge 470 nm), grün (Wellenlänge 513 nm), gelb (Wellenlänge 594 nm), und rot (Wellenlänge 635 nm). Die Stimulusdauer variierte von 0 ms bis 4 ms, je nachdem, wie stark die Intensität des dargebotenen Lichtreizes sein sollte. Die Pupillen der zu testenden Augen der Patienten wurden mit Tropicamid (5mg/ml) weitgestellt. Vor den FST Messungen betrug die Zeit für die Dunkeladaptation 30 Minuten.

2.3) Auswertung

Zuerst wurden die FST Werte der Patienten gegen die Zeit (Alter/Beschwerdedauer) aufgetragen und es wurde untersucht, ob, bzw. inwieweit diese beiden Parameter miteinander korrelieren. Lag eine Normalverteilung der FST Werte vor, so wurde die Korrelation mittels Pearson berechnet, lag keine Normalverteilung der Daten vor, so wurde die Korrelation mittels Spearman berechnet. Zur Prüfung, ob die FST Werte normalverteilt sind, wurde der „Shapiro-Wilk parametric hypothesis test of composite normality“ angewendet. Ebenfalls wurde den Diagrammen ein Histogramm der FST Werte beigelegt, welches anzeigen, wie viele FST Werte pro Intervall vorkommen (Abbildungen 2 bis 7).

Bei vielen Patienten gab es zwei oder mehr FST Wertmessungen von verschiedenen Besuchen in der Augenklinik Tübingen. In diesen Fällen wurde von diesen Patienten jeweils nur eine, und zwar zufällige, FST Wertmessung mit in die Korrelationsanalyse mit einbezogen. Diese zufällige Auswahl wurde

durch MATLAB (MathWorks, Update 2019A, Sitz in Natick, Massachusetts, USA) durchgeführt.

Als nächster Schritt wurde die Differenz zwischen den FST Werten für blaues und rotes Licht errechnet und gegen die Zeit (Alter/Beschwerdedauer) aufgetragen. Auch hier wurde untersucht, ob, bzw. inwieweit diese beiden Parameter miteinander korrelieren.

Dafür wurde die Differenz zwischen den FST Werten für blaues und rotes Licht von jeweils ein und demselben Patienten am gleichen Tag errechnet.

Voraussetzung dafür war, dass bei diesem Patienten mindestens während eines Besuches in der Augenklinik eine FST Messung sowohl für blaues als auch rotes Licht stattgefunden hat. Danach wurden diese Differenzen gegen die Zeit (Alter/Beschwerdedauer) aufgetragen.

Dabei wurde wie oben für die erste Untersuchung (FST Werte der Patienten gegen die Zeit (Alter/Beschwerdedauer) aufgetragen) beschrieben, untersucht, ob, bzw. inwieweit diese beiden Parameter miteinander korrelieren. Lag eine Normalverteilung der FST Werte vor, so wurde die Korrelation mittels Pearson berechnet, lag keine Normalverteilung der Daten vor, so wurde die Korrelation mittels Spearman berechnet. Zur Prüfung, ob die FST Werte normalverteilt sind, wurde der „Shapiro-Wilk parametric hypothesis test of composite normality“ angewendet. Ebenfalls wurde den Diagrammen ein Histogramm der FST Werte beigelegt, welches anzeigen, wie viele FST Werte pro Intervall vorkommen, und anhand dessen man schon grob absehen kann, ob eine Normalverteilung der FST Werte vorliegt (Abbildungen 8 und 9).

Bei einem Teil (18 Patienten für die Auftragung gegen das Alter, bzw. 14 Patienten für die Auftragung gegen die Beschwerdedauer) der Patienten lagen von zwei oder mehr Besuchen in der Augenklinik Tübingen jeweils eine FST Messung für blaues und rotes Licht vor. Für jeden dieser Besuche wurde eine Differenz errechnet, und wie bereits oben beschrieben, eine zufällige Differenz ausgewählt.

Um die für diese Untersuchung verwendeten FST Werte mit denen aus der Literatur zu vergleichen, wurden für die Patienten, für die zwei oder mehrere FST Werte für eine Farbe vorhanden sind, die Inter-visit variability nach Bland Altman der FST Werte berechnet. Dabei fiel jedoch schon im Vorfeld ein Patient auf, der abnormal große Schwankungen in seinen FST Werten für weißes, blaues und rotes Licht im Verlauf der Zeit hatte. Dieser Patient wurde für die Berechnung der Inter-visit variability ausgelassen, da sich bei der Betrachtung seiner Messprotokolle keine sinnvolle Erklärung für diese Schwankungen ergab. Für die übrigen Untersuchungen wurde dieser Patient jedoch beibehalten.

Für diese Untersuchung lagen jedoch von manchen Patienten mehr als zwei FST Werte für eine Farbe vor. Lagen von einem Patienten mehr als zwei FST Wertmessungen vor, so wurden jeweils zwei zufällige Werte durch MATLAB (MathWorks, Update 2019A, Sitz in Natick, Massachusetts, USA) ausgewählt und den zweiten, zeitlich jüngeren, FST Messwert vom ersten, zeitlich älteren, FST Messwert abgezogen.

3) Ergebnisse

Insgesamt liegen für diese Doktorarbeit 449 FST Messungen für weißes, blaues und/oder rotes Licht von 230 Patienten (113 männlich, 117 weiblich, Durchschnittsalter: 40,4 Jahre \pm 16,8 Jahre SD) vor.

Eine Untergruppe davon sind die Patienten, von denen zusätzlich noch der Zeitpunkt der Erstmanifestation, also die Beschwerdedauer zum Zeitpunkt der jeweiligen FST Messung bekannt ist. Bei insgesamt 359 FST Messungen für weißes, blaues und rotes Licht von 184 Patienten (89 männlich, 95 weiblich) ist zusätzlich zum Alter auch die Beschwerdedauer zum Zeitpunkt der FST Messung bekannt. Die durchschnittliche Beschwerdedauer zum Zeitpunkt aller dieser FST Messungen liegt bei 26,3 Jahren mit einer Standardabweichung von 15,4 Jahren.

3.1) Untersuchung des Zusammenhanges zwischen den FST Werten der einzelnen Patienten und verstrichener Zeit

3.1.1) Untersuchung des Zusammenhanges zwischen den FST Werten der einzelnen Patienten und deren Lebensalter zum Zeitpunkt der jeweiligen FST Messung

Für weißes Licht lagen von 221 Patienten (107 männlich, 114 weiblich, Durchschnittsalter: 40,2 Jahre \pm 17,1 Jahre SD) 281 FST Werte vor. Für die Untersuchung des Zusammenhangs zwischen den FST Werten und dem Lebensalter wurden von den 221 Patienten jeweils eine FST Messung eingeschlossen, wobei das Lebensalter zum Zeitpunkt der FST Messung von 6 bis 79 Jahren variiert. Der höchste eingeschlossene FST Wert ist 30,3 dB, der niedrigste ist -53,44 dB. Es lässt sich mit einem p-Wert $<0,001$ für den Shapiro Wilk Test keine Normalverteilung feststellen. Ebenso lässt sich mit einem Spearmans Rho von 0,024 und p-Wert von 0,721 kein linearer Zusammenhang ablesen (Abbildung 2).

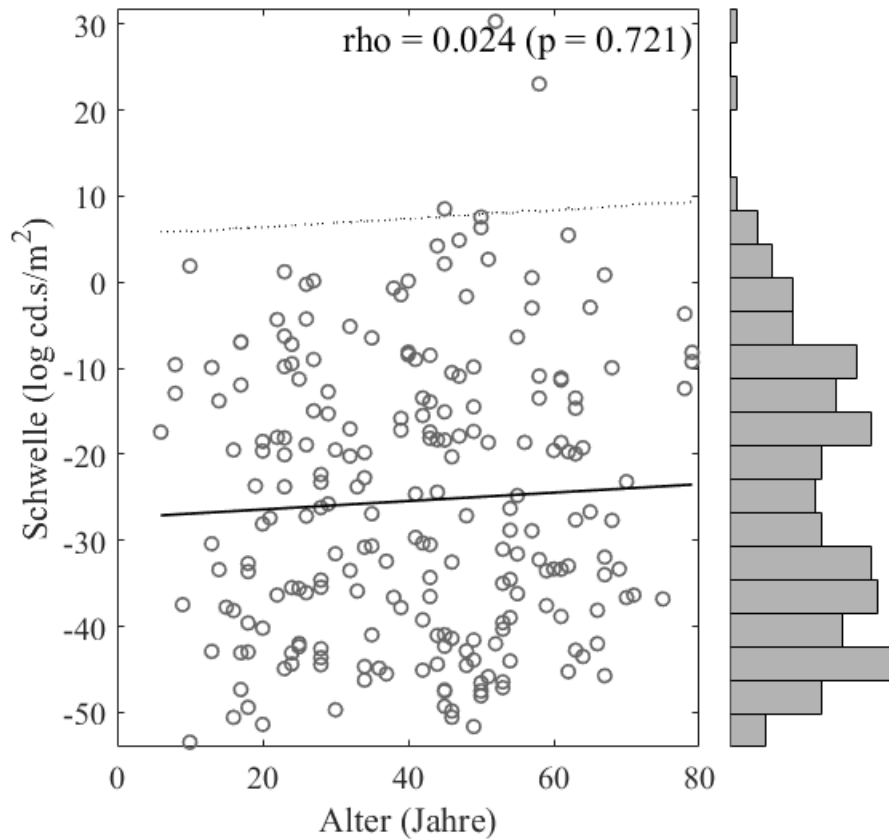


Abbildung 2: FST Werte für weißes Licht gegen das Alter aufgetragen, mit $\rho = 0,024$ und $p = 0,721$. Auf der rechten Seite ist das Histogramm der FST Werte, welches anzeigt, wie viele FST Werte pro Intervall vorkommen.

Für blaues Licht lagen von 58 Patienten (31 männlich, 27 weiblich, Durchschnittsalter: 41,7 Jahre \pm 14,1 Jahre SD) 93 FST Werte vor. Für die Untersuchung des Zusammenhangs zwischen den FST Werten und dem Lebensalter wurde von den 58 Patienten jeweils eine Messung eingeschlossen, wobei das Lebensalter zum Zeitpunkt der FST Messung von 10 bis 79 Jahren variiert. Der höchste eingeschlossene FST Wert ist 3,37 dB, der niedrigste ist -53,36 dB. Es lässt sich mit einem p-Wert für den Shapiro Wilk Test von 0.003 keine Normalverteilung feststellen. Ebenso lässt sich mit einem Spearman's

Rho von -0,118 und einem p-Wert von 0,378 kein linearer Zusammenhang ablesen (Abbildung 3).

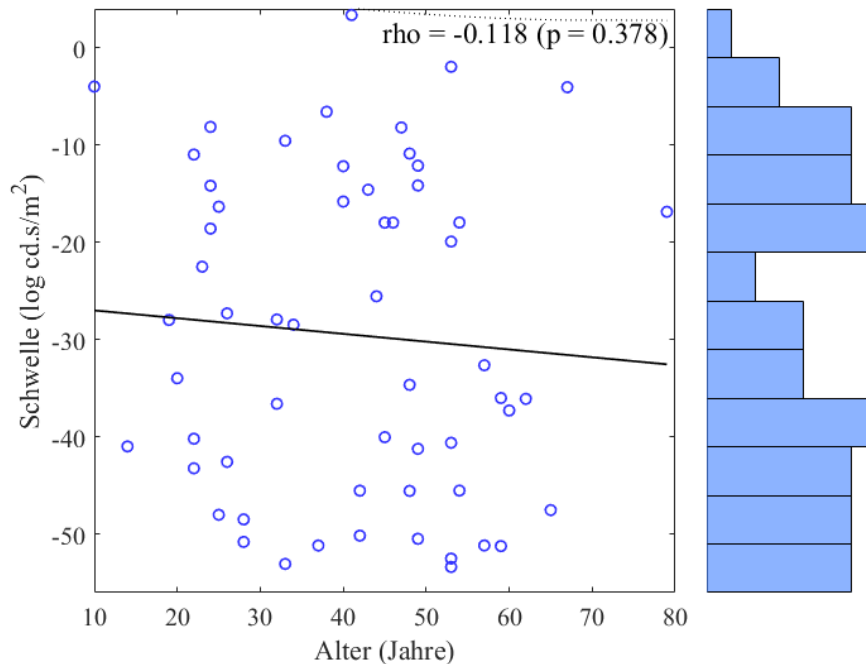


Abbildung 3: FST Werte für blaues Licht gegen das Alter aufgetragen, mit $\rho = -0,118$ und $p = 0,378$. Auf der rechten Seite ist das Histogramm der FST Werte, welches anzeigt, wie viele FST Werte pro Intervall vorkommen.

Für rotes Licht lagen von 42 Patienten (22 männlich, 20 weiblich, Durchschnittsalter: 41,1 Jahre \pm 13,8 Jahre SD) 75 FST Werte vor. Für die Untersuchung des Zusammenhangs zwischen den FST Werten und dem Lebensalter wurden von den 42 Patienten jeweils eine FST Messung eingeschlossen, wobei das Lebensalter zum Zeitpunkt der FST Messung von 7 bis 65 Jahren variierte. Der höchste eingeschlossene FST Wert ist 6,45 dB, der niedrigste ist -29,7 dB. Es lässt sich mit einem p- Wert für den Shapiro Wilk Test von 0.058 keine Normalverteilung feststellen. Ebenso lässt sich mit einem Spearmans Rho von -0,025 und einem p-Wert von 0,875 kein linearer Zusammenhang ablesen (Abbildung 4).

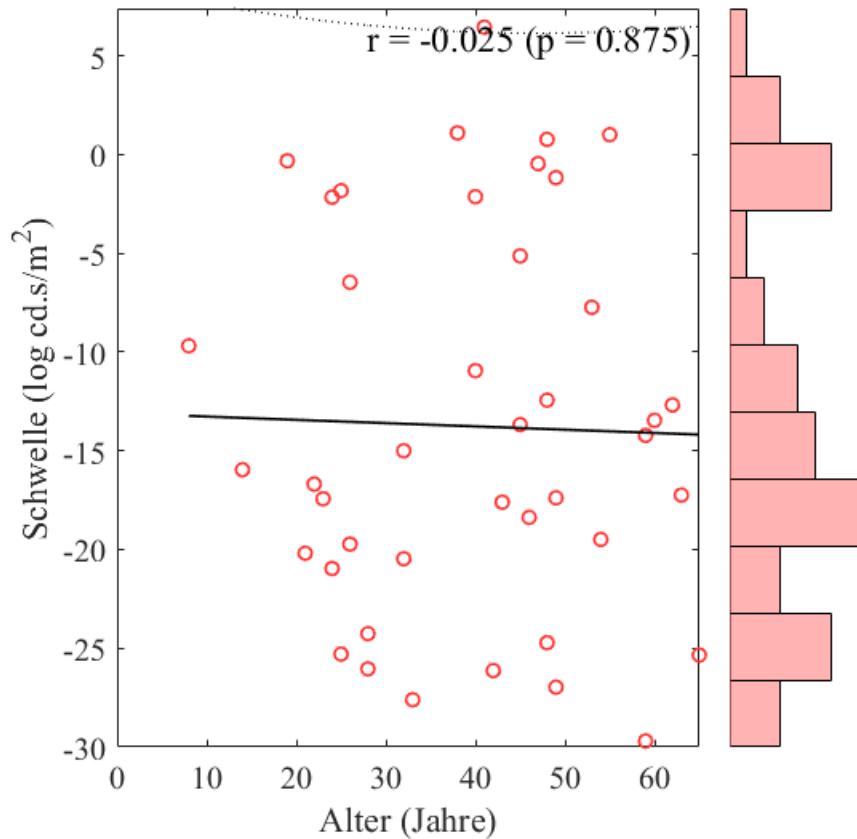


Abbildung 4: FST Werte für rotes Licht gegen das Alter aufgetragen, mit $\rho = -0,025$ und $p = 0,875$. Auf der rechten Seite ist das Histogramm der FST Werte, welches anzeigt, wie viele FST Werte pro Intervall vorkommen.

3.1.2) Untersuchung des Zusammenhanges zwischen den FST Werten der einzelnen Patienten und deren Beschwerdedauer zum Zeitpunkt der jeweiligen FST Messung

Für weißes Licht lagen von 179 Patienten (86 männlich, 93 weiblich) 226 FST Werte vor. Dabei war die durchschnittliche Beschwerdedauer bis zur entsprechenden FST Messung 25,9 Jahre mit einer Standardabweichung von 15,6 Jahren. Für die Untersuchung des Zusammenhangs zwischen den FST Werten und der Beschwerdedauer wurden von den 179 Patienten jeweils eine

FST Messung eingeschlossen, wobei die Beschwerdedauer bei den eingeschlossenen FST Messungen von 0 bis 79 Jahren variiert. Der höchste eingeschlossene FST Wert ist 30,3 dB, der niedrigste ist -53,44 dB. Es lässt sich mit einem p- Wert <0,001 für den Shapiro Wilk Test keine Normalverteilung feststellen. Jedoch lässt sich mit einem Spearmans Rho von 0,298 ein schwachpositiver Zusammenhang ablesen, der mit einem p-Wert <0,001 hochsignifikant ist (Abbildung 5).

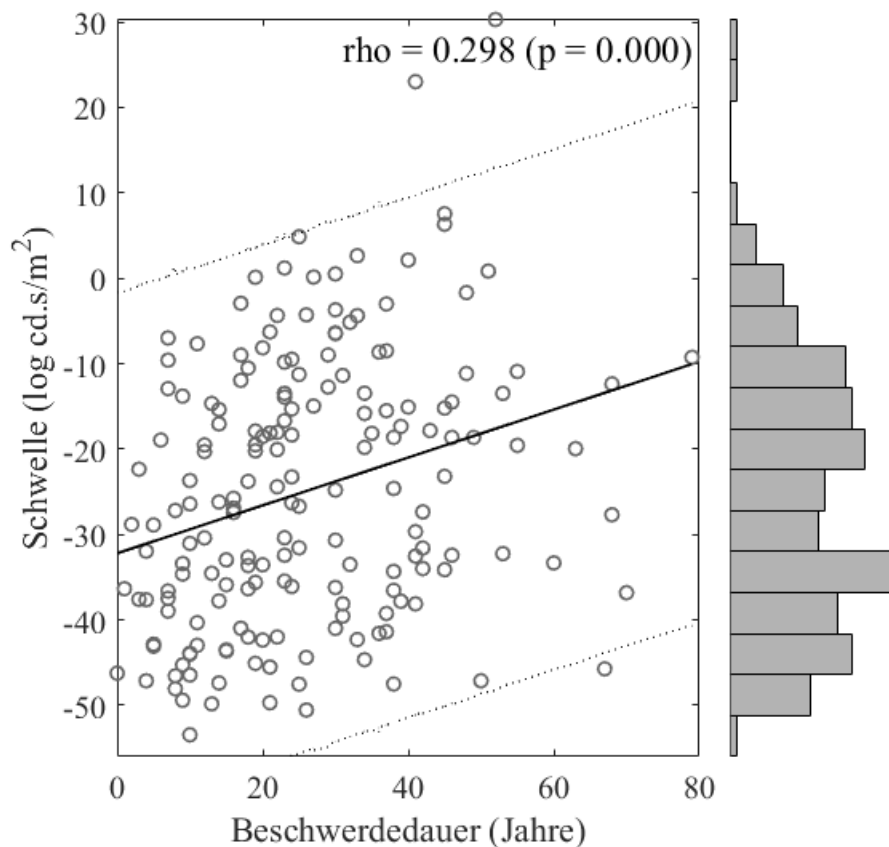


Abbildung 5: FST Werte für weißes Licht gegen die Beschwerdedauer aufgetragen, mit rho = 0,298 und p < 0,001. Auf der rechten Seite ist das Histogramm der FST Werte, welches anzeigt, wie viele FST Werte pro Intervall vorkommen.

Für blaues Licht lagen von 43 Patienten (21 männlich, 22 weiblich) 72 FST Werte vor. Dabei war die durchschnittliche Beschwerdedauer bis zur entsprechenden FST Messung 32,1 Jahre mit einer Standardabweichung von 13,9 Jahren. Für die Untersuchung des Zusammenhangs zwischen den FST Werten und der Beschwerdedauer wurden von den 43 Patienten jeweils eine FST Messung eingeschlossen, wobei die Beschwerdedauer bei den eingeschlossenen FST Messungen von 5 bis 79 Jahren variiert. Der höchste eingeschlossene FST Wert ist -4,05 dB, der niedrigste ist -53,36 dB. Es lässt sich mit einem p- Wert <0,001 für den Shapiro Wilk Test keine Normalverteilung feststellen. Jedoch lässt sich mit einem Spearmans Rho von 0,424 ein mittlerer positiver Zusammenhang ablesen, der mit einem p-Wert von 0,005 signifikant ist (Abbildung 6).

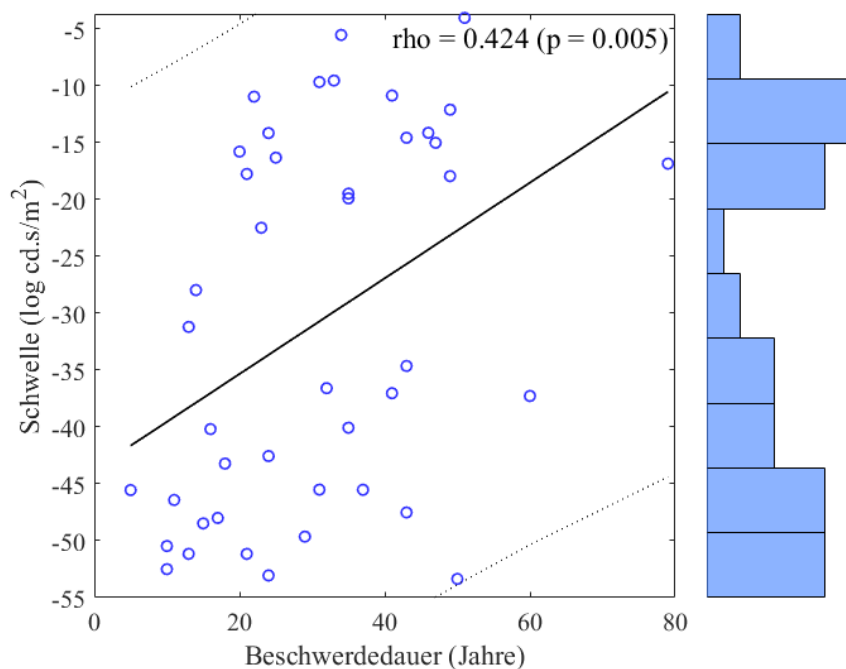


Abbildung 6: FST Werte für blaues Licht gegen die Beschwerdedauer aufgetragen, mit rho = 0,424 und p = 0,005. Auf der rechten Seite ist das Histogramm der FST Werte, welches anzeigt, wie viele FST Werte pro Intervall vorkommen.

Für rotes Licht lagen von 34 Patienten (18 männlich, 16 weiblich) 61 FST Werte vor. Dabei war die durchschnittliche Beschwerdedauer bis zur entsprechenden FST Messung 31 Jahre mit einer Standardabweichung von 12,3 Jahren. Für die Untersuchung des Zusammenhangs zwischen den FST Werten und der Beschwerdedauer wurden von den 34 Patienten jeweils eine FST Messung eingeschlossen, wobei die Beschwerdedauer bei den eingeschlossenen FST Messungen von 5 bis 60 Jahren variiert. Der höchste eingeschlossene FST Wert ist 1,05 dB, der niedrigste ist -28,58 dB. Es lässt sich mit einem p- Wert für den Shapiro Wilk Test von 0.022 keine Normalverteilung feststellen. Jedoch lässt sich mit einem Spearmans Rho von 0,274 ein schwachpositiver Zusammenhang ablesen, der mit einem p-Wert von 0,117 nicht signifikant ist (Abbildung 7).

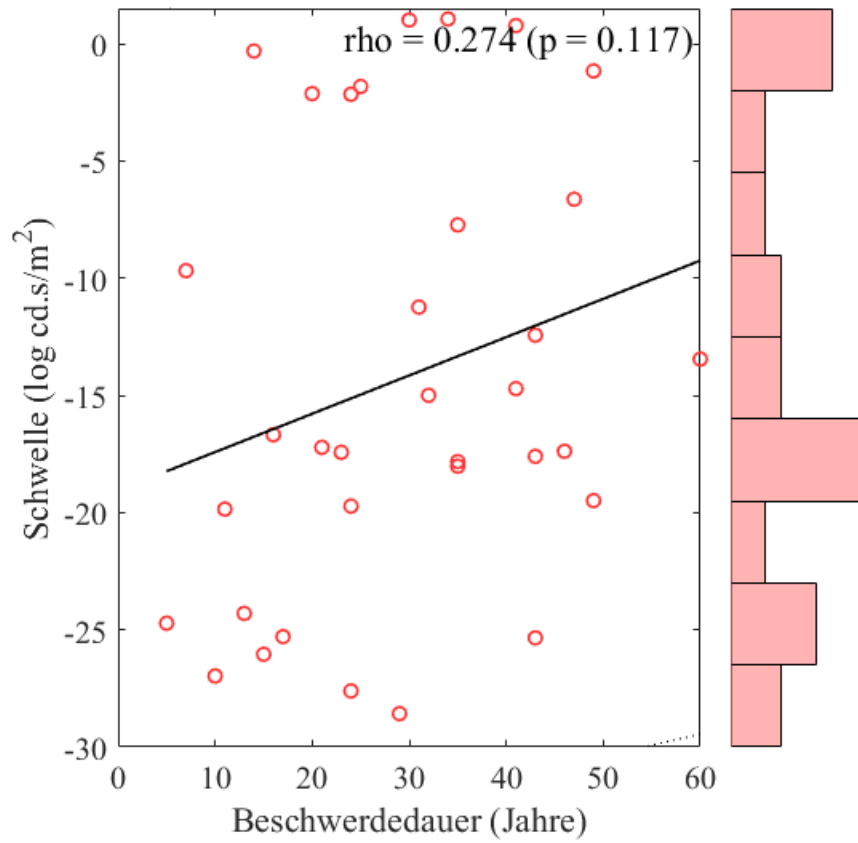


Abbildung 7: FST Werte für rotes Licht gegen die Beschwerdedauer aufgetragen, mit $\rho = 0,274$ und $p = 0,117$. Auf der rechten Seite ist das Histogramm der FST Werte, welches anzeigt, wie viele FST Werte pro Intervall vorkommen.

3.2) Untersuchung des Zusammenhanges zwischen der Differenz zwischen FST Werten der einzelnen Patienten für blaues und rotes Licht und verstrichener Zeit

3.2.1) Untersuchung des Zusammenhanges zwischen der Differenz zwischen FST Werten der einzelnen Patienten für blaues und rotes Licht und deren Lebensalter zum Zeitpunkt der jeweiligen FST Messung

Von 38 Patienten (20 männlich, 18 weiblich) liegen 67 Differenzen zwischen FST Werten für rotes und blaues Licht vor. Dabei war das durchschnittliche Alter bei der entsprechenden FST Messung 41,6 Jahre mit einer Standardabweichung von 13,1 Jahre. Für die Untersuchung des Zusammenhangs zwischen den Differenzen der FST Werte für blaues und rotes Licht und dem Lebensalter wurde von den 38 Patienten jeweils eine Differenz eingeschlossen, wobei das Lebensalter zum Zeitpunkt der FST Messung für blaues und rotes Licht von 14 bis 65 Jahren variiert. Die höchste eingeschlossene Differenz ist 3,24 dB, die niedrigste ist -27,66 dB. Es lässt sich mit einem p- Wert $<0,001$ für den Shapiro Wilk Test keine Normalverteilung feststellen. Ebenso lässt sich mit einem Spearmans Rho von 0,128 und einem mit einem p-Wert von 0,444 kein linearer Zusammenhang ablesen (Abbildung 8).

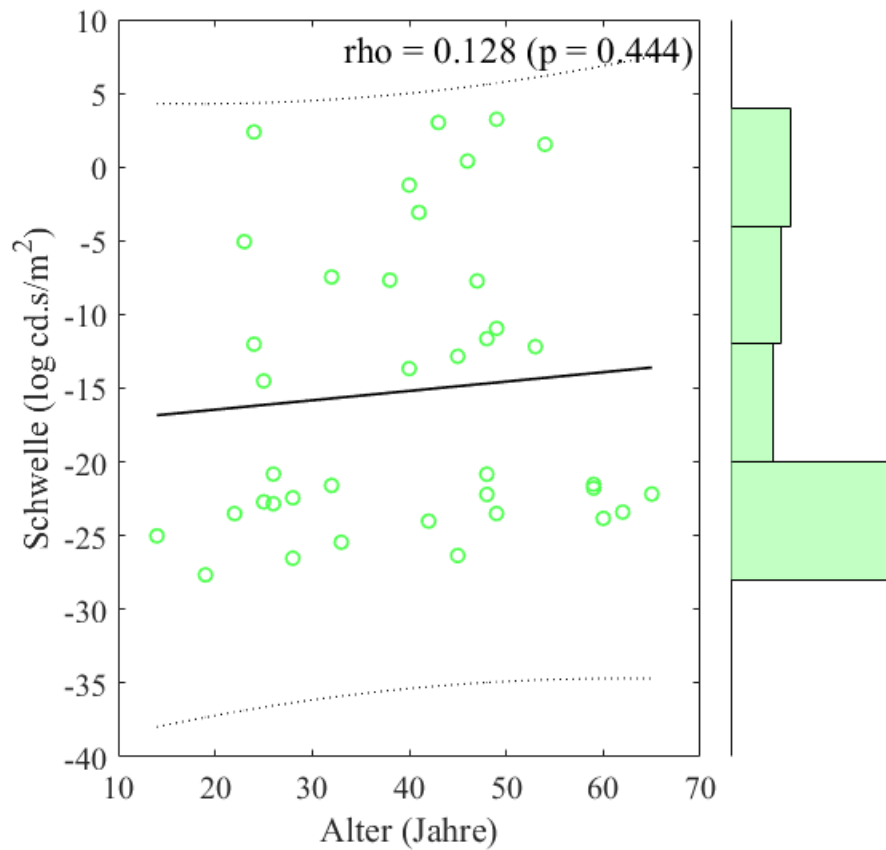


Abbildung 8: Differenzen zwischen den FST Werte für blaues und rotes Licht der verschiedenen Einzelpersonen gegen das Lebensalter zum Zeitpunkt der FST Messung aufgetragen, mit $\rho = 0,128$ und $p = 0,444$. Auf der rechten Seite ist das Histogramm der FST Werte, welches anzeigt, wie viele FST Werte pro Intervall vorkommen.

3.2.2) Untersuchung des Zusammenhanges zwischen der Differenz zwischen FST Werten der einzelnen Patienten für blaues und rotes Licht und deren Beschwerdedauer zum Zeitpunkt der jeweiligen FST Messung

Von 32 (16 männlich, 16 weiblich) Patienten liegen 56 Differenzen zwischen FST Werten für rotes und blaues Licht vor. Dabei war die durchschnittliche Beschwerdedauer bei der entsprechenden FST Messung 31,4 Jahre mit einer

Standardabweichung von 12,3 Jahre. Für die Untersuchung des Zusammenhangs zwischen den Differenzen der FST Werte für blaues und rotes Licht und der Beschwerdedauer wurden von den 32 Patienten jeweils eine Differenz eingeschlossen, wobei die Beschwerdedauer zum Zeitpunkt der FST Messung für blaues und rotes Licht von 5 bis 60 Jahren variiert. Die höchste eingeschlossene Differenz ist 3,24 dB, die niedrigste ist -27,66 dB. Es lässt sich mit einem p- Wert für den Shapiro Wilk Test von 0.003 keine Normalverteilung feststellen. Jedoch lässt sich mit einem Spearmans Rho von 0,387 ein mittlerer positiver Zusammenhang ablesen, der mit einem p-Wert von 0,029 signifikant ist (Abbildung 9).

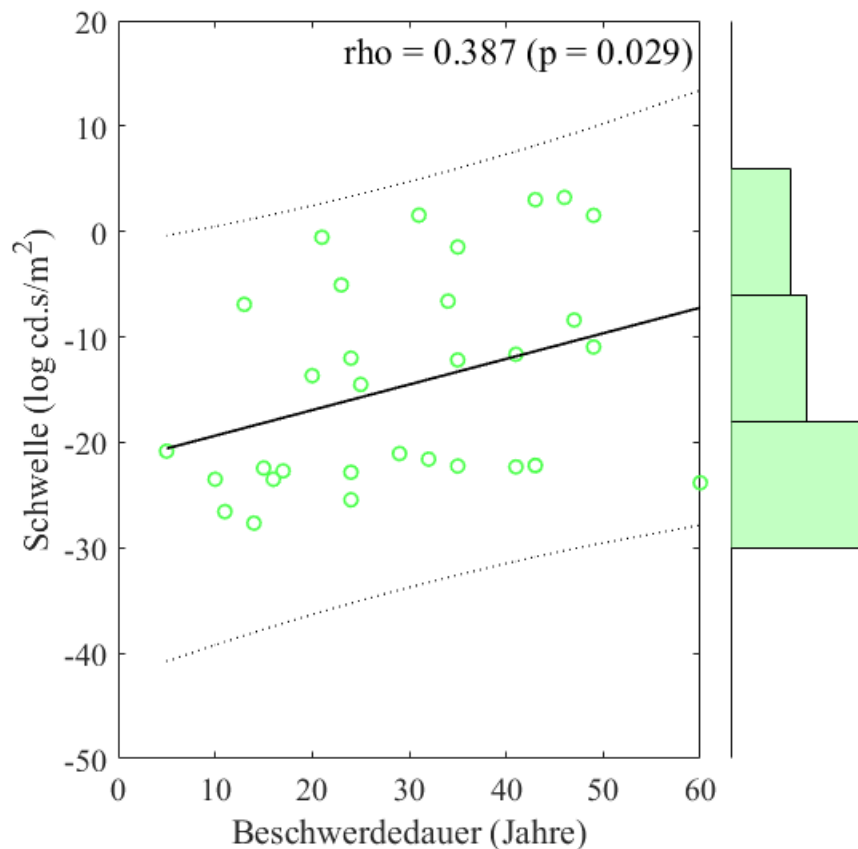


Abbildung 9: Differenzen zwischen den FST Werte für blaues und rotes Licht

der verschiedenen Einzelpersonen gegen die Beschwerdedauer zum Zeitpunkt der FST Messung aufgetragen, mit $\rho = 0,387$ und $p = 0,029$. Auf der rechten Seite ist das Histogramm der FST Werte, welches anzeigt, wie viele FST Werte pro Intervall vorkommen.

3.3) Inter-visit variability (gerechnet nach Bland Altman)

Von 46 Patienten (21 männlich und 25 weiblich) liegen zwei oder mehr FST Werte aus unterschiedlichen Zeitpunkten für weißes Licht vor. Der Mittelwert der Differenz zwischen den Werten liegt bei $-1,9$ dB. Die Standardabweichung liegt bei $\pm 6,6$ dB. Unter der Annahme, dass die Daten normalverteilt sind, liegt das 95% Konfidenzintervall zwischen -15 dB und 11 dB (Abbildung 10).

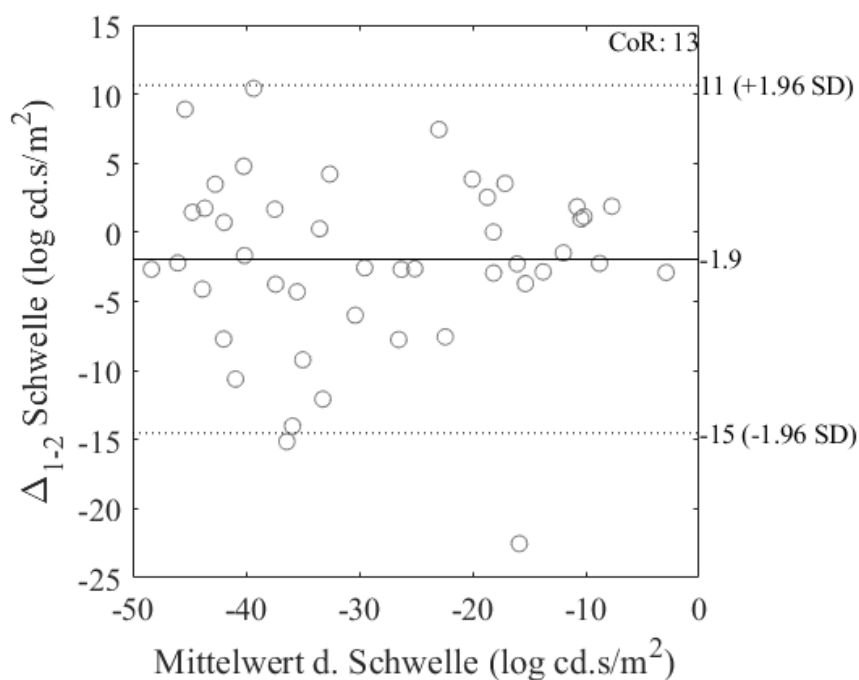


Abbildung 10: Bland-Altman-Diagramm für weiße FST Werte, mit dem Mittelwert der Differenz zwischen den Werten von $-1,9$ dB und einer Standardabweichung von $\pm 6,6$ dB.

Von 22 Patienten (12 männlich und 10 weiblich) liegen zwei oder mehr FST Werte aus unterschiedlichen Visiten für blaues Licht vor. Der Mittelwert der

Differenz zwischen den Werten liegt bei -0,81 dB. Die Standardabweichung liegt bei $\pm 3,5$ dB. Unter der Annahme, dass die Daten normalverteilt sind, liegt das 95% Konfidenzintervall zwischen -7,7 dB und 6,1 dB (Abbildung 11).

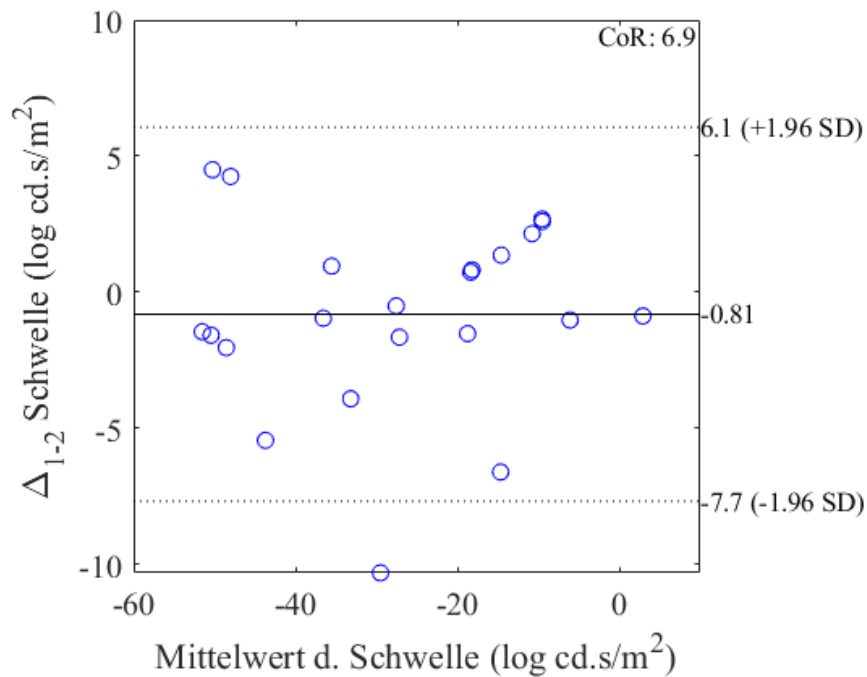


Abbildung 11: Bland-Altman-Diagramm für blaue FST Werte, mit dem Mittelwert der Differenz zwischen den Werten von -0,81 dB und einer Standardabweichung von $\pm 3,5$ dB.

Von 20 Patienten (10 männlich und 10 weiblich) liegen zwei oder mehr FST Werte aus unterschiedlichen Visiten für rotes Licht vor. Der Mittelwert der Differenz zwischen den Werten liegt bei -0,56 dB. Die Standardabweichung liegt bei $\pm 2,8$ dB. Unter der Annahme, dass die Daten normalverteilt sind, liegt das 95% Konfidenzintervall zwischen -6 dB und 4,8 (Abbildung 12).

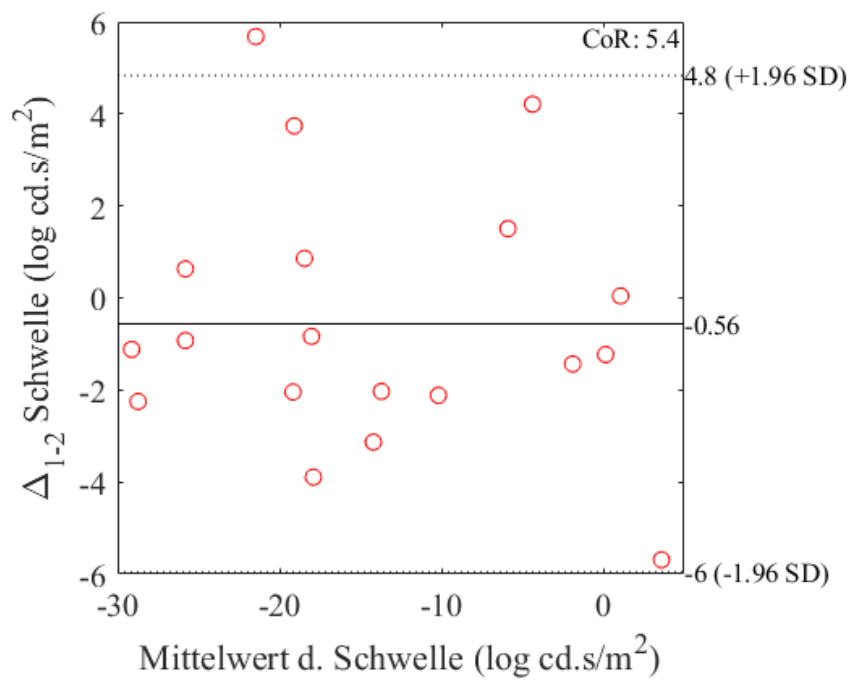


Abbildung 12: Bland-Altman-Diagramm für rote FST Werte, mit dem Mittelwert der Differenz zwischen den Werten von -0,56 dB und einer Standardabweichung von $\pm 2,8$ dB.

4) Diskussion

Ziel dieser Arbeit war es, den zeitlichen Verlauf der Dunkeladaptationsendschwelle in Form von FST Werten zu untersuchen. Dies wurde auf zwei Wegen realisiert: Zum einen wurde die Zeit als Lebensalter zum Zeitpunkt der FST Werte aufgetragen, zum anderen wurde die Zeit als Beschwerdedauer bis zur jeweiligen FST Messung aufgetragen. Dabei war auch von Interesse, wie sich die Differenz zwischen den FST Werten für rotes und blaues Licht im Verlauf der Zeit verhält. Weiterhin wurde die Inter-visit variability nach Bland Altman der FST Werte errechnet, um die vorliegenden Daten mit denen der Literatur zu vergleichen.

Die Resultate dieser Dissertation zeigen, dass die FST Werte, vor allem wenn gemessen mit weißem und blauem Licht, zwar nicht mit dem Alter des Patienten, aber mit der Erkrankungsdauer korrelieren.

Die FST Werte zeigen für keine Farbe (weiß, blau oder rot) eine signifikante Korrelation mit dem Lebensalter (Abbildungen 2 bis 4). Jedoch liegt eine signifikante geringe Korrelation zwischen den FST Werten für weißes Licht und der Beschwerdedauer (Abbildung 5), sowie eine signifikante mittlere Korrelation zwischen den FST Werten für blaues Licht und der Beschwerdedauer vor (Abbildung 6). Zwischen den FST Werten für rotes Licht und der Beschwerdedauer liegt kein signifikanter Zusammenhang vor (Abbildung 7). Zwischen der Differenz der FST Werte für blaues und rotes Licht und dem Lebensalter zum Zeitpunkt der jeweiligen FST Messung (Abbildung 8) besteht kein signifikanter linearer Zusammenhang. Jedoch besteht zwischen der Differenz der FST Werte für blaues und rotes Licht und der Beschwerdedauer zum Zeitpunkt der jeweiligen FST Messung (Abbildung 9) ein signifikanter, mittlerer positiver Zusammenhang. Die Ergebnisse dieser Dissertation legen nahe, dass die FST Messung ein valider Faktor ist, um den natürlichen Verlauf der Stäbchenfunktion bei RP, aber auch etwaige Therapieeffekte in klinischen Studien zu untersuchen. Dies gilt besonders für Stimuli mit weißem und blauem

Licht, die besser als die roten Stimuli in der Wellenlängenempfindlichkeit der Stäbchen liegen.

Die in dieser Dissertation verwendeten Dunkeladaptationsendschwellenwerte wurden durch das D-FST erhoben, welches die heute gängige Messmethode der FST Messung darstellt. Dies ist ein Messverfahren, bei dem die gesamte Retina des Patienten belichtet wird, wobei der ermittelte Schwellenwert mit dem Schwellenwert der sensibelsten noch verbleibenden Areale der Retina korreliert. Das bedeutet, dass es für dieses Verfahren keine Rolle spielt, wo die noch intakten Photorezeptorzellen in der Retina lokalisiert sind, da sie in jedem Fall beleuchtet werden. Somit kann dieses Messverfahren auch bei Patienten mit weiter fortgeschrittenem Stadium der Retinitis pigmentosa zum Einsatz kommen, wenn diese aufgrund der reduzierten Sehschärfe nicht mehr in der Lage sind, einen Punkt zu fixieren. Es liefert auch dann noch Ergebnisse, wenn andere Messverfahren wie das ERG keine messbaren Antworten mehr geben. Da dies ein subjektives, psychophysikalisches, Testverfahren ist, besteht prinzipiell die Möglichkeit, dass Patienten (bewusst oder unbewusst) falsche Antworten geben. Allerdings wird die Dunkeladaptationsendschwelle durch eine sogenannte Zweiparameter Weibull-Funktion berechnet und liegt bei der Lichtintensität, die in 50% der Fälle noch wahrgenommen wird, wobei diese Funktion die positiven und negativen Falschantworten berücksichtigt, was das Testverfahren gegen (bewusste oder unbewusste) Falschantworten sicherer macht. Dadurch, dass dem Patienten Licht in drei verschiedenen Farben dargeboten werden kann (weiß, blau und rot) kann man einschätzen, inwiefern das Stäbchen- und das Zapfensystem betroffen ist (Jacobson, Voigt et al. 1986, Roman, Schwartz et al. 2005, Roman, Cideciyan et al. 2007, Klein and Birch 2009).

Das FST hat sich im klinischen Alltag als bewährte Messmethode im Bereich der retinalen Funktionsdiagnostik für Patienten mit fortgeschrittener Stäbchendysfunktion etabliert. So wurde diese Methode in zahlreichen Veröffentlichungen bereits als Untersuchungsmethode benutzt, die den Verlauf der funktionellen Photorezeptordegeneration bei RP dokumentieren kann

(Hauswirth, Aleman et al. 2008, Jacobson, Cideciyan et al. 2012, Collison, Park et al. 2015, Russell, Bennett et al. 2017, Dimopoulos, Freund et al. 2018, Stingl, Kuehlewein et al. 2019, Wall, Lee et al. 2019). Von besonderem klinischem Interesse ist die in dieser Doktorarbeit untersuchte unterschiedliche Korrelation der FST Werte mit dem Alter vs. mit der Beschwerdedauer; die Korrelation der Verlaufswerte von FST (blaue und weiße Stimuli, teilweise auch die Differenz blau-rot) ist viel stärker mit der Erkrankungsdauer als mit dem eigentlichen Alter des Patienten (Abbildungen 2 bis 7).

Schaut man sich den Verlauf der FST Werte im Verlauf der Beschwerdedauer zum Zeitpunkt der jeweiligen FST Messung an, so liegt für weißes Licht ein hochsignifikanter, schwachpositiver lienaler Zusammenhang vor (Abbildung 5). Für blaues Licht liegt ein signifikanter, mittlerer positiver Zusammenhang vor (Abbildung 6). Für rotes Licht liegt aber nur ein nicht signifikanter, schwachpositiver Zusammenhang vor (Abbildung 7).

Diese Ergebnisse sind insofern nicht verwunderlich, da Retinitis pigmentosa einen sehr variablen Verlauf hat und zu unterschiedlichen Lebensaltern klinisch manifest werden kann (Verbakel, van Huet et al. 2018). Die Beschwerdedauer umgeht dieses Problem, indem sie nur die Zeit seit dem Auftreten der ersten Beschwerden zählt. Bei einem Teil der Patienten beginnt sich die Krankheit in frühester Kindheit deutlich bemerkbar zu machen, während bei anderen Patienten erst im mittleren Erwachsenenalter Symptome auftreten (Verbakel, van Huet et al. 2018). Darum beschreibt die Messung der Dunkeladaptationsendschwelle mit FST den eigentlichen Krankheitsverlauf der Photorezeptorendegeneration, ab Eintreten der Beschwerden. Diese Heterogenität hat vermutlich auch mit der Heterogenität der Genotypen zu tun, die in dieser Forschungsarbeit nicht aufgeschlüsselt worden sind. Es könnten möglicherweise noch bessere Zusammenhänge errechnet werden, wenn man Patienten mit gleichen Retinitis pigmentosa verursachenden Mutationen in Gruppen zusammen zu fassen, und die FST Werte innerhalb dieser Gruppe im Verlauf der Zeit zu beobachten. Dies ist für einzelne Genotypen bereits geschehen (Stingl, Kuehlewein et al. 2019).

Interessant wäre ebenfalls zu untersuchen, wie die prozentuale Verteilung des Beschwerdebeginns der Retinitis pigmentosa in Beziehung zum Lebensalter ist. Damit könnte man im Idealfall eine Einschätzung vornehmen, wie groß dieser Einflussfaktor auf den Verlauf der FST Werte im Verlauf des Lebensalters ist.

Ein allgemeines Problem bei Angaben des Beschwerdebeginns ist, dass sich die Betroffenen oft nicht mehr ganz genau an den Beginn erinnern können, insbesondere, wenn dieser schon einige Jahre in der Vergangenheit liegt. Dies resultiert teilweise in sehr schwammigen Angaben wie „seit frühester Jugend“. Zudem können wir uns nicht sicher sein, dass Angaben wie „seit dem zwölften Lebensjahr“ richtig memoriert werden. Zudem wird der Beginn der Beschwerden, sofern erinnerlich, in den meisten Fällen nur auf das Jahr genau angegeben. Dazu kommt noch, dass die Retinitis pigmentosa einen sehr variablen Verlauf hat und bei jedem Patienten unterschiedlich schnell und stark ausgeprägt beginnt (Verbakel, van Huet et al. 2018). Deshalb ist es möglich, dass der eigentliche Beschwerdebeginn der Erkrankung noch weiter in der Vergangenheit liegt, als es vom Betroffenen überhaupt bemerkt worden ist, was ebenfalls eine gewisse Ungenauigkeit mit sich bringt. Trotz dieser Unsicherheit und Ungenauigkeit der anamnestischen Angaben zur Erstmanifestation ist jedoch der subjektive Beginn der ersten Beschwerden der eigentliche Zeitpunkt, an dem die Photorezeptorendegeneration beginnt, bzw. eine bestimmte psychophysische Schwelle der Wahrnehmung erreicht. Nach diesem Zeitpunkt kann die FST Messung mit blauen und weißen Stimuli, unseren Resultaten nach, die Progression der funktionellen Degeneration valid weiterverfolgen.

Eine weitere klinisch interessante Fragestellung, die in dieser Doktorarbeit untersucht worden ist, ist die unterschiedliche Korrelation der drei Farben der FST Testung im Verlauf der Zeit. Das chromatische FST hat sich bereits früher als eine valide Dunkeladaptationsmessung etabliert, mit Hinweisen, dass die Verwendung von blauem und roten Licht besser die dunkeladaptierte Sensitivität der Stäbchen messen kann, als das weiße Licht (Roman, Schwartz et al. 2005, Roman, Cideciyan et al. 2007).

Da die Zapfen für rotes und blaues Licht gleich sensibel sind, ist der FST Wert bei einem Patienten für blaues und rotes Licht gleich groß, sofern die Lichtreize nur noch von den Zapfen wahrgenommen werden. Da die Stäbchen für blaues Licht sensibler sind als für rotes, ist der FST Wert bei einem Patienten für blaues Licht niedriger als für rotes Licht, sofern die Lichtwahrnehmung noch durch die Stäbchen funktioniert. Daraus ergibt sich, dass bei einem Gesunden im Regelfall die Sensitivität für blaues Licht um circa 25 dB größer ist als für rotes Licht (Roman, Cideciyan et al. 2007). Bei einem typischen an Retinitis pigmentosa erkrankten Patienten nimmt die Sensitivität im Krankheitsverlauf für rotes und blaues Licht ab. Sie nimmt jedoch typischerweise für blaues Licht stärker ab als für rotes, da vor allem zu Beginn der Krankheit primär die Stäbchen absterben (Hartong, Berson et al. 2006). Bei einem Teil der Patienten gleicht sich die Sensibilität im fortgeschrittenen Stadium für rotes und blaues Licht an, sodass die dunkeladaptierte Endschwelle für blaues und rotes Licht dann gleich ist und somit von den Zapfen vermittelt (Roman, Cideciyan et al. 2007).

Jedoch ist dieser Prozess für eine größere Patientenzahl nie zeitlich untersucht worden. Bislang standen für eine größere Patientenzahl nur die zeitlich punktuellen statischen FST Messungen von Patienten mit verschieden stark ausgeprägter Retinitis pigmentosa zu Verfügung (Roman, Schwartz et al. 2005, Roman, Cideciyan et al. 2007). Mit Hilfe von Abbildungen 8 und 9 lässt sich erkennen, dass sich diese Entwicklung, wenn auch mit gewissen Schwankungen, durch das Auftragen der Differenzen zwischen den FST Mittelwerte für rotes und blaues Licht gegen die Beschwerdedauergruppe bestätigt wird, jedoch nicht, wenn man die Differenzen gegen die Altersgruppen aufträgt.

Bei genotypisch homogenen Kohorten konnte bereits früher eine Korrelation zwischen den FST Werten für blaues und rotes Licht gegen die Beschwerdedauer beobachtet werden, so z.B. für das Spätstadium der „early-onset retinitis pigmentosa“, die durch Mutationen im Gen *CRB1* entstand. Bei

Patienten mit diesem Genotyp ist das FST ein guter Marker für die Progression (Stingl, Kuehlewein et al. 2019).

Eine weitere homogene Genkohorte, die mit dem FST untersucht worden ist, ist die Leberamaurose, die durch eine Mutation im Gen *CEP290* verursacht wird (*LCA-CEP290*). Zwar wurde hierbei der zeitliche Verlauf der FST Werte im Verlauf der Zeit nicht untersucht, da es sich nur um einzelne Messungen pro Patienten handelten, jedoch konnte ein deutlicher Anstieg der Schwellenwerte für weißes, blaues und rotes Licht gezeigt werden (Collison, Park et al. 2015).

Obwohl der Unterschied der Dunkeladaptationsendschwelle von blauem und rotem Licht in vielen Publikationen als valider Verlaufsparemeter bereits beschrieben wird, zeigen unsere Ergebnisse die statistisch signifikanteste Korrektur der Beschwerdedauer mit weißem und blauem Licht. Das rote Licht allein ist hingegen kein guter klinischer Verlaufsmarker für die progrediente Degeneration der Photorezeptoren (schwache Korrelation, nicht signifikant).

Aus der Literatur und der Sensitivitätskurven unserer Photorezeptoren gibt es Hinweise, dass man mit dem FST für weißes Licht alle Photorezeptoren anspricht, die Sensitivität der Stäbchen für weißes Licht jedoch höher ist als für Zapfen. Dennoch wird durch einen Anstieg der FST Werte für weißes Licht wahrscheinlich die Degeneration von Zapfen und Stäbchen abgebildet. Das FST für blaues Licht wird zwar auch durch die Zapfen wahrgenommen, jedoch sind die Stäbchen hier deutlich sensibler, weshalb man mit den FST Werten für blaues Licht eine gute Einschätzung der Stäbchenfunktion vornehmen kann. Im Bereich der roten Farbe haben die Zapfen eine bessere Sensitivität, jedoch überwiegt im dunkeladaptierten Zustand die sehr reduzierte Sensitivität der gesunden Stäbchen. Somit sind bei Achromatopsie, der totalen Farbblindheit mit funktionslosen Zapfen, die FST Werte, für rotes Licht praktisch gleich mit dem gesunden Auge. Ein Anstieg der FST Werte für rotes Licht würde also bei RP auf eine nicht differenzierbare Degeneration von Stäbchen und Zapfen hindeuten (Roman, Cideciyan et al. 2007, Zobor, Werner et al. 2017).

Bislang gibt es für die meisten an Retinitis pigmentosa erkrankten Patienten keine ursächliche Therapie (Dias, Joo et al. 2018). Jedoch wird an verschiedenen Ansätzen geforscht, wie der Pharmakotherapie (Huang 2018). Zugelassen wurde für die Retinitis pigmentosa auch die transkorneale Elektrostimulation, bei dessen Beurteilung der Wirksamkeit auch das FST verwendet wurde (Schatz, Pach et al. 2017). Bei der durch eine Mutation im *RPE65* Gen bedingten Retinitis pigmentosa wurde durch mehrere Studien die Wirksamkeit einer Gentherapie festgestellt - unter anderem durch FST Wertmessungen vor und nach der Therapie. Hier zeigte sich eine Verbesserung der Lichtempfindlichkeit, vor allem der Stäbchen, sodass im November 2018 die erste Gentherapie zugelassen wurde (Hauswirth, Aleman et al. 2008, Jacobson, Cideciyan et al. 2012, Russell, Bennett et al. 2017).

Zuletzt wurde in dieser Dissertation auch die intervisit-variability der FST Messdaten nach der Bland-Altman Analyse untersucht.

Der Mittelwert für die Differenz beträgt bei den hier präsentierten Daten für weißes Licht: -1,9 dB. Die Standardabweichung der Differenz beträgt bei diesen Daten ± 13 dB (Abbildung 10). Nicht ganz so sehr streuen die Differenzen für die anderen Farben, der Mittelwert der Differenz liegt aber für alle drei Farben im negativen Bereich (Abbildungen 11 und 12).

In der Literatur sind folgende Werte für die Inter-visit variability nach Bland Altman beschrieben worden: Für Gesunde liegt dieser bei -0,82 Δ dB, mit einer Standardabweichung von $\pm 1,76$ Δ dB und einem p Wert von 0,18. Für Patienten liegt er bei 0,05 Δ dB, mit einer Standardabweichung von $\pm 1,95$ Δ dB und einem p Wert von 0,86, was bedeutet, dass sich beide Gruppen nicht signifikant von 0 unterscheiden. Die Werte stammen von 10 Gesunden und 41 Patienten und gelten nur für weißes Licht. Zusätzlich gibt der Autor an, dass bei jedem Gesunden und Patienten höchstens 6 Monate Zeit zwischen der ersten und der zweiten FST Wertmessung verstrichen sind. Zu beachten ist ebenfalls, dass bei diesen in der Literatur angegebenen Werten der FST Wert des ersten, also zeitlich älteren, Besuches vom FST Wert des zweiten, also zeitlich jüngeren, Besuches subtrahiert worden ist (Roman, Schwartz et al. 2005).

Bei den vorliegenden FST Werten für weißes Licht lagen jedoch nur bei 8 Messungen von 5 Patienten (von insgesamt 56 Differenzen zwischen zwei FST Werten von 46 Patienten) weniger als 6 Monate zwischen zwei Messungen. Vielmehr haben wir hier die Daten der klinischen Verlaufsbeobachtungen ausgewertet. Oft lagen mehrere Jahre zwischen den FST Messungen. Retinitis pigmentosa ist eine progrediente degenerative Netzhautkrankheit, bei der mit zunehmendem zeitlichem Verlauf die Photorezeptorzellen absterben, was sich unter anderem in eine abnehmende Empfindlichkeit gegenüber Lichtreizen äußert (Hartong, Berson et al. 2006, Verbakel, van Huet et al. 2018), wie auch unsere Bland-Altman Analyse nahelegt. Der jeweils für alle Farben negative Wert der Differenzen in der Bland-Altman Analyse entspricht der Tatsache, dass die Werte der Dunkeladaptationsendschwellen im Laufe der Zeit schlechter, d.h. höher werden.

Ein weiterer Unterschied zur früheren Literatur ist, dass die FST Wertmessungen der Patienten mit mehreren FST Wertmessungen für eine Farbe zu unterschiedlichen Tageszeiten in der Augenklinik Tübingen gemessen worden sind, während sie in der Literatur immer zur selben Zeit am Tag gemessen worden sind (Roman, Schwartz et al. 2005). Jedoch ist in der Literatur nichts von Schwankungen der FST Werte über den Tag berichtet worden, weshalb dieser Unterschied vernachlässigbar sein dürfte.

Außerdem wurde in dieser Untersuchung – anders als in der Literatur - der FST Wert des zweiten, also zeitlich jüngeren, Besuches vom FST Wert des ersten, also zeitlich älteren, Besuches subtrahiert.

Geht man davon aus, dass die FST Werte, die normalerweise negativ sind, im Laufe der Zeit positiver werden, so sollte die mittlere Differenz zwischen zwei FST Werten, also dem zweiten, zeitlich jüngeren, FST Wert minus dem ersten, also zeitlich älteren, FST Wert, positiv sein. Da in der Literatur die FST Werte positiv waren (Roman, Schwartz et al. 2005) (entsprechende Daten in dieser Dissertation sind negativ), hätte man annehmen können, dass die mittlere Differenz zwischen dem zweiten, zeitlich jüngeren, FST Wert und dem ersten, zeitlich älteren, FST Wert negativ gewesen wäre. Diese waren aber für die

Patientengruppe auch leicht positiv, für die Gruppe der Gesunden waren sie negativ. Jedoch kann man dieses Ergebnis der Literatur insoweit vernachlässigen, da die Autoren angaben, dass sich dieses Ergebnis nicht signifikant von 0 unterscheidet, was bedeutet, dass auch der leicht negative bzw. positive Wert nicht signifikant ist (Roman, Schwartz et al. 2005). Das bedeutet, dass die beiden Werte innerhalb von 6 Monaten noch keinen signifikant messbaren Unterschied in der Sensibilität der Netzhaut von an Retinitis pigmentosa – einer eher über Jahre oder Dekaden progredienten Erkrankung – diagnostizierten Patienten mit dem FST darstellen. Die in der Literatur beschriebenen Werte stellen also die tatsächliche test-retest variability dar, die hier präsentierten Daten hingegen die sich ändernde Messdaten im Rahmen der klinischen Verlaufsbeobachtung.

5) Zusammenfassung

Verlauf der Dunkeladaptationsendschwelle im Krankheitsverlauf der Retinitis Pigmentosa

Bei der erblich degenerativen Netzhauterkrankung Retinitis pigmentosa (RP) sterben im typischen Verlauf anfangs die Stäbchen, welche für das Nachtsehen zuständig sind, und später die Zapfen, welche das Helligkeits- und Farbsehen ermöglichen, ab. Eine Möglichkeit die Netzhautfunktion zu messen, selbst wenn andere Verfahren nicht mehr funktionieren, ist das Full-field Stimulus Threshold (FST). Dabei handelt es sich um ein subjektives, psychophysikalisches, Testverfahren, welches die dunkeladaptierte Sensibilität der Netzhaut darstellt. Ziel dieser Arbeit war es, FST Werte mit weißen, blauen und roten Stimuli im Verlauf der Zeit zu untersuchen. Die eingeschlossenen Patienten waren alle in der Augenklinik in Tübingen vorstellig und hatten eine sicher diagnostizierte RP. Es wurde die Korrelation der FST Werte im Verlauf des Lebensalters und der Beschwerdedauer untersucht. Dabei zeigt sich kein Zusammenhang der Werte mit dem Lebensalter, dasselbe gilt für die Differenz zwischen blauen und roten FST Werten. Jedoch liegt ein hochsignifikanter schwachpositiver Zusammenhang zwischen den FST Werten für weißes Licht und der Beschwerdedauer vor und ein signifikanter mittlerer Zusammenhang zwischen den FST Werten für blaues Licht, sowie für die Differenz zwischen blauen und roten FST Werten, und der Beschwerdedauer vor. Die Inter-visit variability war bei dieser Untersuchung deutlich höher als in der Literatur angegeben, was mit dem progressiven Verlauf der Erkrankung zusammenhängt, im Verlauf derer die Werte erhoben worden sind.

Die Ergebnisse legen nahe, dass die FST Messung ein valider Faktor ist, um den Verlauf der RP zu untersuchen. Dies gilt besonders für Stimuli mit weißem und blauem Licht, die besser als die roten Stimuli in der Wellenlängenempfindlichkeit der Stäbchen liegen. Die Heterogenität der Erstmanifestation der RP führt dazu, dass FST Werte nicht mit dem Lebensalter, sondern mit der Erkrankungsdauer des Patienten korrelieren.

6) Literaturverzeichnis

- Albert, D. M., R. C. Pruett and J. L. Craft (1986). "Transmission electron microscopic observations of vitreous abnormalities in retinitis pigmentosa." Am J Ophthalmol **101**(6): 665-672.
- Alexander, K. R. and G. A. Fishman (1984). "Prolonged rod dark adaptation in retinitis pigmentosa." Br J Ophthalmol **68**(8): 561-569.
- Chizzolini, M., A. Galan, E. Milan, A. Sebastiani, C. Costagliola and F. Parmeggiani (2011). "Good epidemiologic practice in retinitis pigmentosa: from phenotyping to biobanking." Curr Genomics **12**(4): 260-266.
- Collison, F. T., J. C. Park, G. A. Fishman, J. J. McAnany and E. M. Stone (2015). "Full-Field Pupillary Light Responses, Luminance Thresholds, and Light Discomfort Thresholds in CEP290 Leber Congenital Amaurosis Patients." Invest Ophthalmol Vis Sci **56**(12): 7130-7136.
- Dias, M. F., K. Joo, J. A. Kemp, S. L. Fialho, A. da Silva Cunha, Jr., S. J. Woo and Y. J. Kwon (2018). "Molecular genetics and emerging therapies for retinitis pigmentosa: Basic research and clinical perspectives." Prog Retin Eye Res **63**: 107-131.
- Dimopoulos, I. S., P. R. Freund, J. A. Knowles and I. M. MacDonald (2018). "The Natural History of Full-Field Stimulus Threshold Decline in Choroideremia." Retina **38**(9): 1731-1742.
- Do, M. T. and K. W. Yau (2010). "Intrinsically photosensitive retinal ganglion cells." Physiol Rev **90**(4): 1547-1581.
- Fankhauser and Schmidt (1957). "Die Untersuchung der Funktionen des dunkeladaptierten Auges mit dem Adaptometer Goldmann-Weekers." Ophthalmologica.
- Forsythe, E., J. Kenny, C. Bacchelli and P. L. Beales (2018). "Managing Bardet-Biedl Syndrome- Now and in the Future." Front Pediatr **6**: 23.
- Friedburg, C. (2004). "[Seeing in the dusk: physiological basis and investigation]." Klin Monbl Augenheilkd **221**(7): 570-576.
- Gaffney, A. J., A. M. Binns and T. H. Margrain (2011). "The repeatability of the Goldmann-Weekers adaptometer for measuring cone adaptation." Doc Ophthalmol **122**(2): 71-75.
- Gekle and Others (2015). Taschenlehrbuch der Physiologie, Thieme.
- Grehn (Juli 2005). Augenheilkunde, Springer.
- Hartong, D. T., E. L. Berson and T. P. Dryja (2006). "Retinitis pigmentosa." Lancet **368**(9549): 1795-1809.
- Hauswirth, W. W., T. S. Aleman, S. Kaushal, A. V. Cideciyan, S. B. Schwartz, L. Wang, T. J. Conlon, S. L. Boye, T. R. Flotte, B. J. Byrne and S. G. Jacobson (2008). "Treatment of leber congenital amaurosis due to RPE65 mutations by ocular subretinal injection of adeno-associated virus gene vector: short-term results of a phase I trial." Hum Gene Ther **19**(10): 979-990.
- Heckenlively, J. R. (1987). "RP cone-rod degeneration." Trans Am Ophthalmol Soc **85**: 438-470.
- Huang, X. F. (2018). "Current Pharmacological Concepts in the Treatment of the Retinitis Pigmentosa." Adv Exp Med Biol **1074**: 439-445.
- Jacobson, S. G., A. V. Cideciyan, R. Ratnakaram, E. Heon, S. B. Schwartz, A. J. Roman, M. C. Peden, T. S. Aleman, S. L. Boye, A. Sumaroka, T. J. Conlon, R. Calcedo, J. J. Pang, K. E. Erger, M. B. Olivares, C. L. Mullins, M. Swider, S. Kaushal, W. J. Feuer, A. Iannaccone, G. A. Fishman, E. M. Stone, B. J. Byrne and W. W. Hauswirth (2012). "Gene therapy for leber congenital amaurosis caused by RPE65 mutations: safety and efficacy in 15 children and adults followed up to 3 years." Arch Ophthalmol **130**(1): 9-24.

Jacobson, S. G., W. J. Voigt, J. M. Parel, P. P. Apathy, L. Nghiem-Phu, S. W. Myers and V. M. Patella (1986). "Automated light- and dark-adapted perimetry for evaluating retinitis pigmentosa." *Ophthalmology* **93**(12): 1604-1611.

Kellner, P. D. U. (11. Februar 2006). from http://retinascience.de/ausgabe/ausgabe.php?S_ID=074.

Klein, M. and D. G. Birch (2009). "Psychophysical assessment of low visual function in patients with retinal degenerative diseases (RDDs) with the Diagnosys full-field stimulus threshold (D-FST)." *Doc Ophthalmol* **119**(3): 217-224.

Konieczka, K., A. J. Flammer, M. Todorova, P. Meyer and J. Flammer (2012). "Retinitis pigmentosa and ocular blood flow." *EPMA J* **3**(1): 17.

Li, Z. Y., D. E. Possin and A. H. Milam (1995). "Histopathology of bone spicule pigmentation in retinitis pigmentosa." *Ophthalmology* **102**(5): 805-816.

Loeffler, P. (2014). *Biochemie und Pathobiochemie*, Springer.

Lüllmann-Rauch and Paulsen (2012). *Taschenlehrbuch*, Thieme.

Mathur, P. D. and J. Yang (2019). "Usher syndrome and non-syndromic deafness: Functions of different whirlin isoforms in the cochlea, vestibular organs, and retina." *Hear Res* **375**: 14-24.

McCulloch, D. L., M. F. Marmor, M. G. Brigell, R. Hamilton, G. E. Holder, R. Tzekov and M. Bach (2015). "ISCEV Standard for full-field clinical electroretinography (2015 update)." *Doc Ophthalmol* **130**(1): 1-12.

Moore, A. T., F. W. Fitzke, C. M. Kemp, G. B. Arden, T. J. Keen, C. F. Inglehearn, S. S. Bhattacharya and A. C. Bird (1992). "Abnormal dark adaptation kinetics in autosomal dominant sector retinitis pigmentosa due to rod opsin mutation." *Br J Ophthalmol* **76**(8): 465-469.

Nakagawa, S., A. Oishi, K. Ogino, Y. Makiyama, M. Kurimoto and N. Yoshimura (2014). "Association of retinal vessel attenuation with visual function in eyes with retinitis pigmentosa." *Clin Ophthalmol* **8**: 1487-1493.

Pruett, R. C. (1983). "Retinitis pigmentosa: clinical observations and correlations." *Trans Am Ophthalmol Soc* **81**: 693-735.

Roman, A. J., A. V. Cideciyan, T. S. Aleman and S. G. Jacobson (2007). "Full-field stimulus testing (FST) to quantify visual perception in severely blind candidates for treatment trials." *Physiol Meas* **28**(8): N51-56.

Roman, A. J., S. B. Schwartz, T. S. Aleman, A. V. Cideciyan, J. D. Chico, E. A. Windsor, L. M. Gardner, G. S. Ying, E. E. Smilko, M. G. Maguire and S. G. Jacobson (2005). "Quantifying rod photoreceptor-mediated vision in retinal degenerations: dark-adapted thresholds as outcome measures." *Exp Eye Res* **80**(2): 259-272.

Russell, S., J. Bennett, J. A. Wellman, D. C. Chung, Z. F. Yu, A. Tillman, J. Wittes, J. Pappas, O. Elci, S. McCague, D. Cross, K. A. Marshall, J. Walshire, T. L. Kehoe, H. Reichert, M. Davis, L. Raffini, L. A. George, F. P. Hudson, L. Dingfield, X. Zhu, J. A. Haller, E. H. Sohn, V. B. Mahajan, W. Pfeifer, M. Weckmann, C. Johnson, D. Gewaily, A. Drack, E. Stone, K. Wachtel, F. Simonelli, B. P. Leroy, J. F. Wright, K. A. High and A. M. Maguire (2017). "Efficacy and safety of voretigene neparovec (AAV2-hRPE65v2) in patients with RPE65-mediated inherited retinal dystrophy: a randomised, controlled, open-label, phase 3 trial." *Lancet* **390**(10097): 849-860.

Saari, J. C. (2016). "Vitamin A and Vision." *Subcell Biochem* **81**: 231-259.

Sachsenweger (Juli 2002). *Augenheilkunde, Duale Reihe*, Thieme.

Salesse, C. (2017). "[Physiology of the visual retinal signal: From phototransduction to the visual cycle]." *J Fr Ophtalmol* **40**(3): 239-250.

Schatz, A., J. Pach, M. Gosheva, L. Naycheva, G. Willmann, B. Wilhelm, T. Peters, K. U. Bartz-Schmidt, E. Zrenner, A. Messias and F. Gekeler (2017). "Transcorneal Electrical Stimulation for Patients With Retinitis Pigmentosa: A Prospective, Randomized, Sham-Controlled Follow-up Study Over 1 Year." *Invest Ophthalmol Vis Sci* **58**(1): 257-269.

Schmidt Lang (August 2007). Physiologie des Menschen, Springer.

Schünke, Schulte and Schumacher (2012). Prometheus LernAtlas der Anatomie, Thieme.

Stingl, K. T., L. Kuehlewein, N. Weisschuh, S. Biskup, F. P. M. Cremers, M. I. Khan, C. Kelbsch, T. Peters, M. Ueffing, B. Wilhelm, E. Zrenner and K. Stingl (2019). "Chromatic Full-Field Stimulus Threshold and Pupillography as Functional Markers for Late-Stage, Early-Onset Retinitis Pigmentosa Caused by CRB1 Mutations." Transl Vis Sci Technol **8**(6): 45.

Ulfig (2008). Kurzlehrbuch Neuroanatomie, Thieme.

Ulfig (2009). Kurzlehrbuch Embryologie, Thieme.

Verbakel, S. K., R. A. C. van Huet, C. J. F. Boon, A. I. den Hollander, R. W. J. Collin, C. C. W. Klaver, C. B. Hoyng, R. Roepman and B. J. Klevering (2018). "Non-syndromic retinitis pigmentosa." Prog Retin Eye Res **66**: 157-186.

Wall, M., E. J. Lee, R. J. Wanzek, K. D. Zamba, A. Turpin, L. X. Chong and I. Marin-Franch (2019). "Threshold Automated Perimetry of the Full Visual Field in Patients With Glaucoma With Mild Visual Loss." J Glaucoma **28**(11): 997-1005.

Wandell, B. A. (1995). Foundations of Vision.

Yanoff, Duker and e. al. (2009). "Ophthalmology."

Yue, W. W. S., D. Silverman, X. Ren, R. Frederiksen, K. Sakai, T. Yamashita, Y. Shichida, M. C. Cornwall, J. Chen and K. W. Yau (2019). "Elementary response triggered by transducin in retinal rods." Proc Natl Acad Sci U S A **116**(11): 5144-5153.

Zobor, D., A. Werner, F. Stanzial, F. Benedicenti, G. Rudolph, U. Kellner, C. Hamel, S. Andreasson, G. Zobor, T. Strasser, B. Wissinger, S. Kohl, E. Zrenner and R.-C. Consortium (2017). "The Clinical Phenotype of CNGA3-Related Achromatopsia: Pretreatment Characterization in Preparation of a Gene Replacement Therapy Trial." Invest Ophthalmol Vis Sci **58**(2): 821-832.



7) Erklärung zum Eigenanteil der Dissertationsschrift

Die Arbeit wurde im Department für Augenheilkunde, Forschungsinstitut für Augenheilkunde, Universität Tübingen unter Betreuung von Frau PD Dr. Katarina Stingl durchgeführt.

Die Konzeption der Studie erfolgte in Zusammenarbeit mit meiner Doktormutter Frau PD Dr. Katarina Stingl.

Die statistische Auswertung erfolgte nach Anleitung durch Melanie Kempf und Ronja Jung durch mich.

Ich versichere, das Manuskript selbständig nach Anleitung durch meine Doktormutter Frau PD Dr. Katarina Stingl verfasst zu haben und keine weiteren als die von mir angegebenen Quellen verwendet zu haben.

Weiter versichere ich, dass ich die Arbeit bisher weder im In- noch im Ausland in gleicher oder ähnlicher Form in einem anderen Promotionsverfahren vorgelegt habe

Ich versichere weiterhin, dass ich bei keiner anderen Hochschule ein Promotionsverfahren oder entsprechendes Prüfungsverfahren beantragt habe.

Mir ist bekannt, dass falsche oder unvollständige Angaben zur Folge haben können, dass die Fakultät ein Verfahren zur Entziehung eines eventuell verliehenen akademischen Titels einleiten wird.

Tübingen, den 03.12.2020

Christian Gagel

8) Danksagung

Ich möchte mich bei meiner Doktormutter und Betreuerin Frau Professorin Dr. Katarina Stingl bedanken, insbesondere, dass sie jederzeit für mich erreichbar war und sie mir meine zahlreichen Fragen beantwortet hat,

Melanie Kempf und Ronja Jung für ihre Unterstützung bei der Auswertung der Daten,

Dr. Florian Gagel und Dr. Orsolya Kantor für wertvolle Diskussionen,

Carsten Gießhof für sein Erklären mathematischer Zusammenhänge und Anke Gagel für die Hilfe beim Umgang mit Excel,

und meinen Lehrern, Uwe Finkeldey und Stephanie Harmes.