

Aus der Augenklinik und Poliklinik  
der Ludwig-Maximilians-Universität München

Direktor: Prof. Dr. A. Kampik

**Vergleichende Evaluation eines Weitwinkel Scanning-  
Laser-Verfahrens (Optomap) zur Darstellung  
pigmentierter Tumoren der Choroidea**

Dissertation

zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin  
an der Medizinischen Fakultät der  
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

Vorgelegt von  
Carmen Stumpf  
aus Würzburg

2014



Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der  
Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. med. Aljoscha Steffen Neubauer

Mitberichterstatter: Prof. Dr. Wolfgang Zimmermann

Priv. Doz. Dr. Ulrich Schaller

Mitbetreuung durch den  
promovierten Mitarbeiter: Priv.-Doz. Dr. med. Markus Kernt

Dekan: Prof. Dr. med. Dr. h.c. Maximilian Reiser, FACR, FRCR

Tag der mündlichen Prüfung: 03.07.2014





# Inhaltsverzeichnis

Abbildungsverzeichnis.....	vii
Tabellenverzeichnis.....	ix
Abkürzungsverzeichnis.....	xi
1. Fragestellung.....	1
2. Grundlagen.....	3
2.1. Uveales Melanom.....	3
2.1.1 Epidemiologie und Überblick der Erkrankung.....	3
2.1.2 Diagnostik.....	5
2.2 Autofluoreszenz.....	7
2.2.1 Hintergrund.....	7
2.2.2 Messprinzipien.....	8
2.2.4 Autofluoreszenz in der Diagnostik von Aderhauttumoren.....	10
3. Methoden.....	13
3.1 Patienten.....	13
3.2 Ultraschall.....	13
3.3 Optomap Imaging.....	15
3.3.1 Allgemein.....	15
3.3.2 Zwei-Laser-Wellenlängen-Scanning.....	16
3.3.3 Autofluoreszenz Scanning.....	18
3.4 Bildanalyse und Statistik.....	19
3.4.1 Bildanalyse.....	19
3.4.2 Kenngrößen.....	19
3.4.3 Statistische Auswertung.....	22
4. Ergebnisse.....	25
4.1 Charakteristische Unterschiede zwischen Melanom und Nävus.....	25
4.1.1 Abstand zur Papille.....	25
4.1.2 Ansammlung subretinaler Flüssigkeit.....	25
4.1.3 Läsionsgröße.....	26
4.1.4 Darstellung der Läsion im grünen Bildkanal.....	27

4.1.5 Autofluoreszenz .....	28
4.2 Regressionsanalyse der mit Optomap erhobenen Daten .....	32
5. Diskussion.....	35
6. Zusammenfassung.....	39
Literaturverzeichnis.....	41
Danksagung .....	46

# Abbildungsverzeichnis

**Abbildung 1:** Farbdarstellung beispielhafter Veränderungen am Augenhintergrund. Links: Aderhautnävus: kleine, flache Läsion ohne begleitende Veränderungen der Retina. Rechts: Aderhautmelanom: große, erhabene Läsion mit angrenzender Netzhautatrophie..... 3

**Abbildung 2:** Parapapilläres Aderhautmelanom mit lokaler Metastase. Darstellung mittels der semirealistischen Farbdarstellung des Optomap. Das Melanom grenzt direkt an die Papille und hebt die Netzhaut ab..... 4

**Abbildung 3:** Normale Fundusautofluoreszenz: Diffuses Signal über dem posterioren Pol, Gefäße, Papille und Makula stellen sich hypoautofluoreszent dar aufgrund fehlenden fluoreszenten Material..... 9

**Abbildung 4:** Nävus in der Autofluoreszenzdarstellung mit zentraler, fleckiger Hypoautofluoreszenz und randständiger Hyperautofluoreszenz..... 10

**Abbildung 5:** Aderhautmelanom nach Radiatio mit randständiger und zentraler Hypoautofluoreszenz (gelbe Pfeile), diffuser Hyperautofluoreszenz (rote Pfeile), sowie isoautofluoreszenten Anteilen (grüne Pfeile) ..... 11

**Abbildung 6:** Ultraschall B-Scan eines Aderhautmelanoms: Deutlich prominenter Tumor mit angrenzender, subretinaler Flüssigkeit..... 14

**Abbildung 7:** Ultraschall A-Scan eines Aderhautmelanoms: gut erkennbarer initialer hoher Peak, niedrige Reflektivität im Inneren des Tumors und erneute hohe Reflektivität am Übergang des Tumors zur Sklera. .... 15

**Abbildung 8:** Strahlengang des Optomap Panoramic 200caf: Durch die miotische Pupille können ca. 200° der Netzhaut dargestellt werden. Auch jenseits des Äquators gelegene Läsionen können somit abgebildet werden..... 16

**Abbildung 9:** Vergleich der Eindringtiefe von Lasern unterschiedlicher Wellenlänge: Je kürzer die Wellenlänge, desto geringer die Eindringtiefe in biologische Gewebe <sup>2</sup>. Strahlen der Wellenlänge 532 nm (grüner Laser) werden bereits am RPE reflektiert, Strahlen der Wellenlänge 633 nm (roter Laser) dringen bis in die Choroidea vor..... 17

<b>Abbildung 10:</b> Links: Gesunde Netzhaut in der Grünlaser-Darstellung. Hierbei kann besonders gut die neurosensorische Netzhaut beurteilt werden. Rechts: Gesunde Netzhaut in der Rotlaser-Darstellung. Hierbei können besonders gut das RPE und tiefere Netzhautschichten beurteilt werden. ....	17
<b>Abbildung 11:</b> Gesunde Netzhaut in semirealistischer Farbdarstellung (Überlagerung von Abbildung 10 links und rechts).....	18
<b>Abbildung 12:</b> Direkt an der Papille liegendes Melanom in semirealistischer Farbdarstellung .....	21
<b>Abbildung 13:</b> Aderhautmelanom mit deutlicher Prominenz, subretinaler Flüssigkeit und hierdurch abgehobener, flottierender Netzhaut in semirealistischer Farbdarstellung .....	21
<b>Abbildung 14:</b> Aderhautmelanom mit geringer fleckiger, zentraler FAF (Hypoautofluoreszenz, siehe weiße Pfeile) und Randwall mit erhöhter Autofluoreszenz (schwarze Pfeile) .....	22
<b>Abbildung 15:</b> Boxplot: Größenverteilung Melanom vs. Nävus in T-Richtung [in Papillendurchmessern].....	26
<b>Abbildung 16:</b> Boxplot: Größenverteilung Melanom vs. Nävus in L-Richtung [in Papillendurchmessern].....	27
<b>Abbildung 17:</b> Autofluoreszenz von Melanom vs. Nävus (Median der Helligkeitsmesswerte in der Läsion).....	28
<b>Abbildung 18:</b> Autofluoreszenz von Melanom vs. Nävus (Mittelwert der Helligkeitsmesswerte in der Läsion).....	29
<b>Abbildung 19:</b> Autofluoreszenz von Melanom vs. Nävus (Helligkeitsschwankung im Bereich der Läsion).....	30

# Tabellenverzeichnis

<b>Tabelle 1:</b> Prozentsatz von Wachstum choroidaler Nävi zu Melanomen mit und ohne Risikofaktoren („ <i>Percentage Growth of Choroidal Nevus into Melanoma with and without Risk Factors</i> “, entnommen aus <sup>41)</sup> .....	6
<b>Tabelle 2:</b> Kriterium „Abstand zur Papille“ in der Optomap-Bildgebung .....	25
<b>Tabelle 3:</b> Kriterium „Ansammlung subretinaler Flüssigkeit“ in der Optomap-Bildgebung....	25
<b>Tabelle 4:</b> Darstellung der Läsion im grünen Bildkanal.....	27
<b>Tabelle 5:</b> Gruppen Nävus und Melanom in der Autofluoreszenz .....	31
<b>Tabelle 6:</b> Variablen im logistischen Regressionsmodell zur Unterscheidung Melanom/Nävus anhand der Optomap-Bilder. <i>B</i> ist der Logit-Koeffizient, <i>S. E.</i> der geschätzte Standardfehler, die Wald-Statistik ist vergleichbar einem <i>t</i> -Test, <i>df</i> zeigt die Freiheitsgrade und <i>p</i> den Signifikanzwert für die Wald-Statistik, $\text{Exp}(B)$ ist die <i>Odds Ratio</i> und ist $e^B$ mit $e = 2,718...$ ...	32
<b>Tabelle 7:</b> Klassifikationstabelle zur diagnostischen Genauigkeit .....	33



# Abkürzungsverzeichnis

AF → Autofluoreszenz

AMD → altersabhängige Makuladegeneration

A-Scan → eindimensionales Bild

B-Scan → zweidimensionales Bild

cSLO → *confocal Scanning Laser Ophthalmoscope*

FAF → Fundusautofluoreszenz

HRA → *Heidelberg Retina Angiograph*

LF → Lipofuszin

OCT → optische Kohärenztomographie

p200caf → Scanning Laser Ophthalmoskop „Optomap p200caf“

RPE → retinales Pigmentepithel

SD → Standardabweichung

SLO → Scanning Laser Ophthalmoskop

T/L-Richtung → Transversal/Longitudinal-Richtung





# 1. Fragestellung

Am Augenhintergrund finden sich häufig pigmentierte Aderhauttumoren. Benigne und maligne Tumoren unterscheiden sich prinzipiell in ihrem klinischen Erscheinungsbild sowie in weiteren diagnostischen Kriterien. Dennoch ist es für den Augenarzt häufig im Einzelfall schwierig eine eindeutige Differenzierung zu treffen. Dies gilt insbesondere für kleinere Tumoren.

Zur aktuell in der Regel angewandten Diagnostik zählen neben der klinischen Untersuchung in Mydriasis, insbesondere die A- und B-Bild Echographie, sowie bei kleinen Läsionen die Fundusfotografie in Mydriasis. Da diese Methoden aber insbesondere untersucherabhängig und aufwändig sind, wäre es besonders für Screening-Untersuchungen und Verlaufskontrollen wünschenswert, geeignete schnellere und für den Patienten angenehmere diagnostische Alternativen zu finden.

Das kürzlich entwickelte Scanning Laser Ophthalmoskop (SLO) Optomap p200caf bietet die Möglichkeit, bis zu 200° der Netzhaut darzustellen. Es kann somit nicht nur am posterioren Pol, sondern auch jenseits des Äquators gelegene verdächtige Läsionen abbilden. Die Bildgebungsmöglichkeiten stützen sich auf rotes und grünes Laserlicht, und die Überlagerung dieser beiden Wellenlängen, wodurch eine der Echtfarbbildgebung ähnliche Qualität resultiert. Zudem ist mit dem Optomap p200caf die Darstellung der Autofluoreszenz des Augenhintergrundes möglich. Durch diese verschiedenen diagnostischen Modalitäten und die Ausdehnung des erfassten Augenhintergrundes könnte möglicherweise mit dem Einsatz des Optomap p200caf eine neue Diagnostik-Möglichkeit zur Unterscheidung zwischen benignen und malignen Tumoren am Fundus verfügbar sein.

Ziel dieser Arbeit ist es daher, diagnostische Eigenschaften und Möglichkeiten des Optomap Panoramic 200caf in Hinblick auf die Unterscheidung zwischen malignen Aderhautmelanomen und benignen Aderhautnävus zu untersuchen. Hierfür wurden 139 Patienten mit klinisch diagnostizierten benignen oder malignen Aderhauttumoren mittels des Optomap Panoramic 200caf untersucht. Die Patienten waren mit der standardisierten Ultraschalluntersuchung – ergänzt um zeitliche Verlaufsinformation, so dass eine hohe Diagnosesicherheit bestand – als Patienten mit malignem Aderhautmelanom oder mit benignem Aderhautnävus identifiziert worden. Die vom Optomap p200caf bereitgestellten Bilder des roten und grünen Farbkanals und die Darstellung der Fundusautofluoreszenz gestatteten die Beurteilung der Aderhautläsionen nach fünf Kriterien, den abhängigen Variablen dieser Studie:

Wie groß ist der Abstand der Läsion zur Papille?

Gibt es im Bereich der Läsion Ansammlungen subretinaler Flüssigkeit?

Wie groß ist der Durchmesser der Läsion?

Weist die Läsion im Grünkanal besondere Helligkeit auf?

Welchen Graustufenwert hat die Läsion in der Darstellung der Autofluoreszenz?

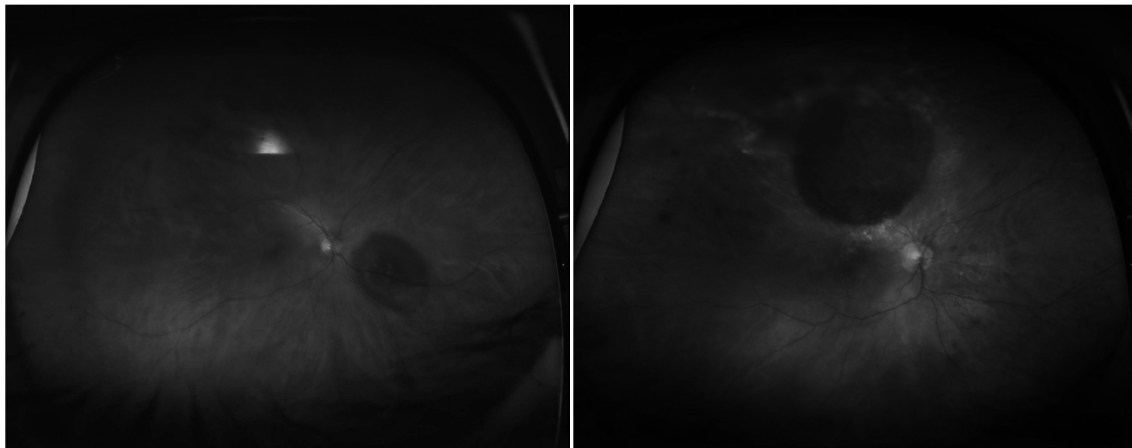
Die Antwort auf diese fünf Fragen wurde für alle 139 Patienten zum Ergebnis der Ultraschalluntersuchung in Beziehung gesetzt. Die diagnostische Einordnung mittels Ultraschall diente als Referenz und unabhängige Variable dieser Studie.

## 2.1. Uveales Melanom

### 2.1.1 Epidemiologie und Überblick der Erkrankung

Das choroidale Melanom der Aderhaut ist mit einer Lebenszeitinzidenz von 1/2000<sup>28, 53</sup> der häufigste primäre, maligne Tumor des Auges. Eine Metastasierung tritt bei 30-50% der erkrankten Patienten auf<sup>9</sup>. Diese ist mit einer äußerst schlechten Prognose in Hinblick auf das Langzeitüberleben der Patienten assoziiert. Eine frühzeitige Diagnose und adäquate Therapie ist daher essentiell. Ein benigner Aderhautnävus findet sich bei ca. 6,5% der kaukasischen Bevölkerung, entsprechend 130/2000<sup>9</sup>.

Die Differenzierung zwischen malignem Aderhautmelanom und benignem Aderhautnävus ist oft nicht einfach, insbesondere bei kleinen Tumoren. Diagnostische Kriterien zur Unterscheidung zwischen benignen und malignen Läsionen sind gleichwohl bekannt<sup>28, 40</sup>.

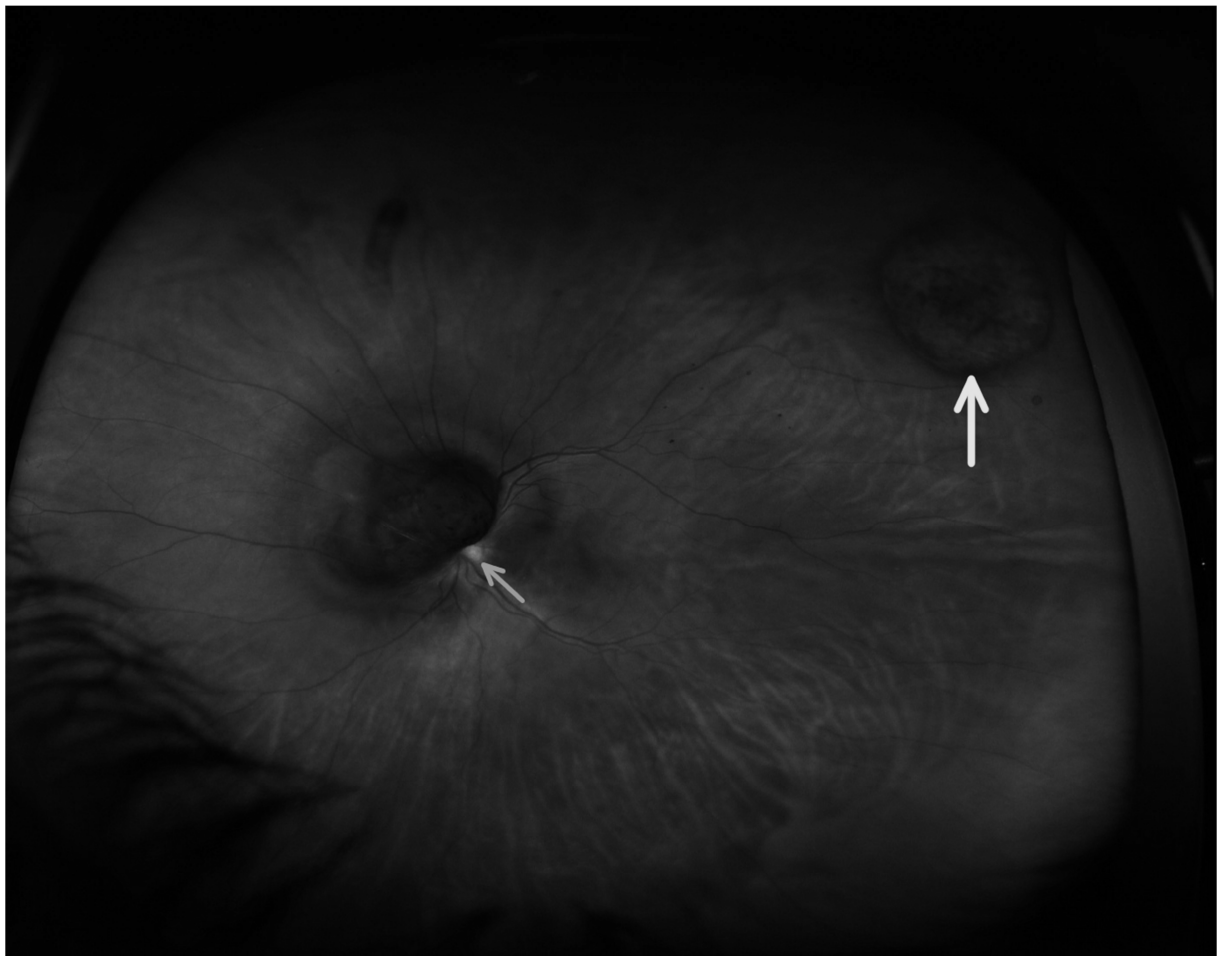


**Abbildung 1:** Farbdarstellung beispielhafter Veränderungen am Augenhintergrund. Links: Aderhautnävus: kleine, flache Läsion ohne begleitende Veränderungen der Retina. Rechts: Aderhautmelanom: große, erhabene Läsion mit angrenzender Netzhautatrophie

Abbildung 1 zeigt links einen benignen Aderhautnävus, rechts ein malignes Aderhautmelanom. Obschon sich die gezeigten Läsionen anhand bestimmter Merkmale, wie der Größe der Läsion oder der Dicke des Tumors, bei genauer Betrachtung unterscheiden, ist selbst für das geübte Auge eine unmittelbare Differenzierung schwierig. Die umseitige Abbildung 2 stellt zum Vergleich eine maligne Läsion im fortgeschrittenen Stadium dar. Anhand eindeutiger Merkmale, wie dem Vorhandensein einer Metastase (siehe gelber Pfeil), dem unmittelbaren Angrenzen an die Papille (siehe hellblauer Pfeil), sowie der sichtbaren

Prominenz des Tumors, ist hier dem Ophthalmologen eine eindeutige Differenzierung gut möglich.

Das uveale Melanom ist mit einer alterskorrigierten Inzidenz von ca. 6 Patienten pro einer Million Erwachsener in den USA <sup>22</sup> der häufigste primäre intraokulare Tumor im Erwachsenenalter. Er entwickelt sich aus den neuroektodermalen Zellen der Aderhaut. Das uveale Melanom tritt meist einseitig und hauptsächlich in der 5.-7. Lebensdekade auf. Es bleibt lange Zeit klinisch unauffällig. Die Diagnose wird daher im Frühstadium oft zufällig gestellt. Erst in späteren Stadien führt der Tumor durch sekundäre Netzhautablösung, pseudouveitischen Reizzustand und Sekundärglaukom zur Einschränkung des Sehvermögens.



**Abbildung 2:** Parapapilläres Aderhautmelanom mit lokaler Metastase. Darstellung mittels der semirealistischen Farbdarstellung des Optomap. Das Melanom grenzt direkt an die Papille und hebt die Netzhaut ab.

Die Therapiemöglichkeiten für choroidale Melanome sind vielfältig und richten sich nach Größe, Lokalisation und Ausdehnung des Tumors. Am weitesten verbreitet sind Therapien, die auf eine Verödung des Tumors mittels Photokoagulation, Strahlen- oder

Thermotherapie, auf eine möglichst komplette chirurgische Entfernung des Tumors oder auf eine Kombination beider Therapien abzielen <sup>16, 9, 27</sup>. Da die Aderhaut nicht über Lymphgefäße verfügt, metastasieren uveale Melanome im Gegensatz zu kutanen Melanomen zunächst ausschließlich hämatogen. Die Metastasierungsrate beträgt bis zu 50% in 5 Jahren. Metastasen finden sich hauptsächlich in Leber, Lunge und Gehirn. Circa 30-50% der Patienten sterben an Folgen der Metastasierung <sup>16, 9, 27</sup>.

Besonders umstritten ist das Management kleiner oder unklarer melanozytärer Tumoren, da in diesem Stadium die Unterscheidung zwischen benignem Aderhautnaevus und malignem Aderhautmelanom schwer fällt und der natürliche Verlauf und das metastatische Potential dieser Läsionen relativ unklar ist. Bei einer Prominenz von bis zu 2-3 mm wird daher zunächst ein abwartendes Vorgehen mit regelmäßigen Verlaufskontrollen empfohlen. Erst bei Nachweis von Wachstum ist therapeutisch einzugreifen <sup>9, 27, 45</sup>. Da im Falle eines eingetretenen Wachstums bei einem kleinen choroidalen, melanozytären Tumor jedoch bereits mit einem erhöhten Risiko einer Metastasierung zu rechnen ist, wurden einige Studien zur Ermittlung verlässlicher diagnostischer Kriterien zur Unterscheidung zwischen kleinen Aderhautnaevi und Aderhautmelanomen sowie auf Wachstum bzw. Metastasierung hinweisende Risikofaktoren durchgeführt <sup>40, 16, 3</sup>. Dennoch bleibt hier eine gewisse diagnostische Unsicherheit, so dass auf die Verlaufskontrolle und insbesondere wiederholte Ultraschall-Untersuchungen heute nicht verzichtet werden kann.

### **2.1.2 Diagnostik**

Sowohl die histologische Untersuchung als auch die labortechnische Bestimmung immunologischer (HLA-DR-Expression, tumorinfiltrierende Lymphozyten-TIL, Melanom-assoziierte Antigene z.B. S-100, Mab097), genetischer (Monosomie 3, Chromosom 8q-Multiplikation, C-Myc-Onkogen, Punktmutationen im p53-Suppressorgen), morphometrischer und flowzytometrischer Parameter hat eine hohe differenzialdiagnostische Aussagekraft für melanozytäre Tumoren. Auf Grund der Invasivität der Materialgewinnung mit verbundenem Zeit- und Kostenaufwand, und insbesondere im Fall der histologischen Materialgewinnung zusätzlichen Gefahr einer iatrogenen Ausschwemmung von Tumormaterial, sind diese Methoden für den klinischen Alltag jedoch weitgehend ungeeignet <sup>16</sup>.

Von Relevanz sind hingegen einfache, klinisch ermittelbare Kriterien, die Hinweise auf Wachstum und Transformation choroidaler Tumoren liefern können. Hierzu zählen neben epidemiologischen Merkmalen wie sozioökonomischer Status, weiße Rasse, männliches Geschlecht und höheres Lebensalter, die mit einem erhöhten Risiko einer Metastasierung einhergehen <sup>42</sup>, vor allem fünf von Shields *et al.* 2004 beschriebene Risikofaktoren <sup>40</sup>:

- Tumordicke > 2 mm
- subretinale Flüssigkeit
- Vorhandensein von *orange pigment* (oranges Pigment)
- klinische Symptome
- Lokalisation des Tumors in direkter Nachbarschaft der Papille

Aderhauttumoren, welche keinen dieser Risikofaktoren aufweisen, haben ein Risiko von nur ca. 3%, innerhalb der nächsten 5 Jahre maligne zu transformieren. Es handelt sich bei ihnen mit sehr hoher Wahrscheinlichkeit um Aderhautnävi. Tumoren, die einen der Risikofaktoren aufweisen, zeigen mit einer Wahrscheinlichkeit von ca. 38% Wachstum, bei zwei oder mehr vorhandenen Risikofaktoren tritt Wachstum in über 50% der Fälle auf. Dann handelt es sich mit hoher Wahrscheinlichkeit um Aderhautmelanome und eine entsprechende Therapie sollte eingeleitet werden <sup>28</sup>.

In einer neueren Studie von 2009 indentifizierten Shields *et al.* <sup>42</sup> unter Berücksichtigung des Ultraschalls zwei weitere Merkmale mit hoher diagnostischer Relevanz: *ultrasonographic hollowness* (ultrasonographisch leer erscheinend) und *halo absence* (Fehlen eines amelanozytären Rings). In dieser Studie führten das Vorhandensein von subretinaler Flüssigkeit, *ultrasonographic hollowness* und *orange pigment* zu einer Verdreifachung des Wachstumsrisikos. Eine Tumordicke von über 2 mm, klinische Symptome und unmittelbare Nähe zur Papille verdoppelten das Risiko. Das Fehlen eines amelanozytären Rings ging sogar mit einem sechsfach erhöhten Risiko für Wachstum einher <sup>42</sup>.

**Tabelle 1:** Prozentsatz von Wachstum choroidaler Nävi zu Melanomen mit und ohne Risikofaktoren („Percentage Growth of Choroidal Nevus into Melanoma with and without Risk Factors“, entnommen aus <sup>41</sup>)

Features	Nevus Growth into Melanoma, No. (%)		HR*
	Feature present	Feature absent	
Thickness > 2 mm	82 (19)	98 (5)	2
Fluid	71 (27)	109 (5)	3
Symptoms	69 (23)	111 (5)	2
Orange pigment	58 (30)	122 (5)	3
Margin ≤ 3 mm to disc	105 (13)	75 (4)	2
Ultrasonographic hollowness	103 (25)	77 (4)	3
Halo absence	177 (7)	3 (2)	6

\*HR = hazard ratio (Figure rounded. Compared with eye without feature using multivariable analysis.)

Diese Kenngrößen können u.a. anhand von Fundoskopie, ggf. Fluoreszenzangiographie und Sonographie ermittelt werden.

## 2.2 Autofluoreszenz

### 2.2.1 Hintergrund

Mittels des Optomap Panoramic 200caf kann neben der Lage des Tumors und dem Vorhandensein von subretinaler Flüssigkeit zudem das Ausmaß der Autofluoreszenz des Tumors bestimmt werden. Verschiedene Studien zeigten, dass unterschiedliche Autofluoreszenzmuster zur früheren Differenzierung zwischen Melanom und Nävus beitragen könnten<sup>10, 43</sup>.

Autofluoreszenzmessung ist eine nicht invasive Methode, die der Evaluation der intrinsischen Fluoreszenz verschiedener Gewebe dient. Am Auge weist neben anderen Strukturen wie der kristallinen Linse, der Sklera und der Uvea vor allem das retinale Pigmentepithel (RPE) ein relativ hohes Maß an Autofluoreszenz auf. Histopathologische Untersuchungen zeigen, dass die Hauptquelle der Fundusautofluoreszenz (FAF) Lipofuszinablagerungen innerhalb des RPEs sind<sup>14, 22</sup>. Bisherige Studien evaluierten den Nutzen der FAF vor allem im Zusammenhang mit der altersabhängigen Makuladegeneration (AMD). Hier zeigte sich, dass Abweichungen vom normalen Fluoreszenzmuster Hinweise auf bevorstehende den Visus bedrohende Veränderungen am Fundus liefern und somit die Möglichkeit der frühzeitigen therapeutischen Intervention bieten könnten<sup>22, 46</sup>.

Im Zusammenhang mit intraokularen Tumoren gibt es bisher nur wenige Veröffentlichungen. Hinweise, dass unterschiedliche Fluoreszenzmuster Aufschluss über die Aktivität der Tumorzellen sowie das Vorhandensein von *orange pigment* liefern könnten<sup>22,18</sup>, lassen weitere Arbeiten in diesem Bereich jedoch ebenfalls vielversprechend erscheinen. Die Fundus-Autofluoreszenz ist wie oben beschrieben abhängig von Anhäufung bzw. Abbau von Lipofuszin (LF) im RPE. Lipofuszingranula weisen bei Stimulation mit ultraviolettem und blauem Licht eine charakteristische Autofluoreszenz auf. Diese Fluoreszenz ermöglicht es, Lipofuszin nichtinvasiv darzustellen und zu messen<sup>23</sup>.

Die Anhäufung dieses fluoreszenten Materials spiegelt unter anderem das Ausmaß an metabolischer Aktivität im Gewebe wieder, da Lipofuszin im RPE hauptsächlich als Nebenprodukt der konstanten Phagozytose ausgestoßener äußerer Scheiben der Photorezeptoren im Rahmen der Erneuerung entsteht. LF kann auf Grund seiner chemischen Struktur nicht abgebaut werden und häuft sich deshalb besonders bei Dysfunktion der Zellen des RPEs oder übermäßiger metabolischer Aktivität intrazellulär an<sup>14, 47, 59</sup>. Toxische Eigenschaften des LF und seiner Komponenten wie A2-E (n-retinylidene-N-retinylethanol-amine) können über verschiedene molekulare Mechanismen unter anderem durch Beeinflussung des lysosomalen Abbaus von Proteinen<sup>15, 35</sup> und der RPE Apoptose<sup>50</sup> oder Verursachung von DNA-<sup>51, 52</sup> und Membranschäden<sup>48, 49</sup> den normalen

Zellstoffwechsel stören. Die exzessive Anhäufung dieses Materials scheint daher bei verschiedenen monogenetischen Makulaerkrankungen (z.B. Morbus Stargardt<sup>5</sup>) sowie bei der AMD eine wichtige Rolle zu spielen, tritt aber in geringeren Maßen auch im Rahmen der normalen Alterung auf<sup>14, 47, 54, 57</sup>.

### 2.2.2 Messprinzipien

Während in der *Ex-vivo*- bzw. *In-vitro*-Mikroskopie regelmäßig ultraviolettes Licht zur Darstellung von LF verwendet wird, welches aufgrund von Absorption durch die okularen Medien *in vivo* kaum die Retina erreicht, nutzt man hier in der Regel sichtbares Licht. Fundusautofluoreszenz (FAF) kann besonders leicht zwischen 430 nm und 600 nm ausgelöst werden<sup>14</sup>.

Keilhauer und Delori<sup>17</sup> untersuchten Eigenschaften und Ursprung der FAF unter Verwendung nahezu infraroten Lichtes (787 nm). Sowohl Intensität als auch Verteilung der hierdurch erzeugten AF unterscheidet sich deutlich von dem üblichen, mit blauem Licht generierten Muster. Die Ergebnisse legen nahe, dass in diesem Spektrum, im Gegensatz zur Verwendung kurzwelligen Lichtes wie oben beschrieben, hauptsächlich Lipofuszin für das Maß der AF verantwortlich ist, und vor allem Melanin bzw. dessen Abbauprodukte das Fluoreszenzmuster beeinflussen.

Insbesondere zur Diagnostik der altersabhängigen Makuladegeneration (AMD) war lange Zeit die Verwendung blauen, kurzwelligen Lichtes der Wellenlänge 488 nm üblich und gut etabliert<sup>4, 21, 58</sup>. Wolf-Schnurrbusch *et al.* konnten 2011 zeigen, dass grünes Licht der Wellenlänge 514 nm in der Determination kleiner, zentraler Pathologien aufgrund geringerer Interferenz mit Makulapigment blauem Licht diagnostisch überlegen ist<sup>58</sup>. Das Optomap Panoramic 200caf verwendet zur AF-Darstellung ebenfalls grünes Licht mit einer Wellenlänge von 532 nm. Vorteil ist hier die bereits erwähnte, im Vergleich zu kurzwelligem Licht (488 nm) besonders hohe Spezifität für Lipofuszin, mit scheinbar lediglich geringer Interferenz mit anderen Fluophoren wie Kollagen oder Makulapigment<sup>12, 33, 36, 58</sup>.

Der normale Fundus zeigt in der FAF-Darstellung ein diffuses Signal über dem posterioren Pol. Retinale Gefäße und die Papille stellen sich aufgrund fehlenden fluoreszierenden Materials dunkel dar. Auch der Bereich der Makula zeigt geringere Intensitätslevel, da hier kurzwelliges Licht durch luteales Pigment absorbiert wird<sup>34</sup>.





**Abbildung 3:** Normale Fundusautofluoreszenz: Diffuses Signal über dem posterioren Pol, Gefäße, Papille und Makula stellen sich hypoautofluoreszent dar aufgrund fehlenden fluoreszenten Material.

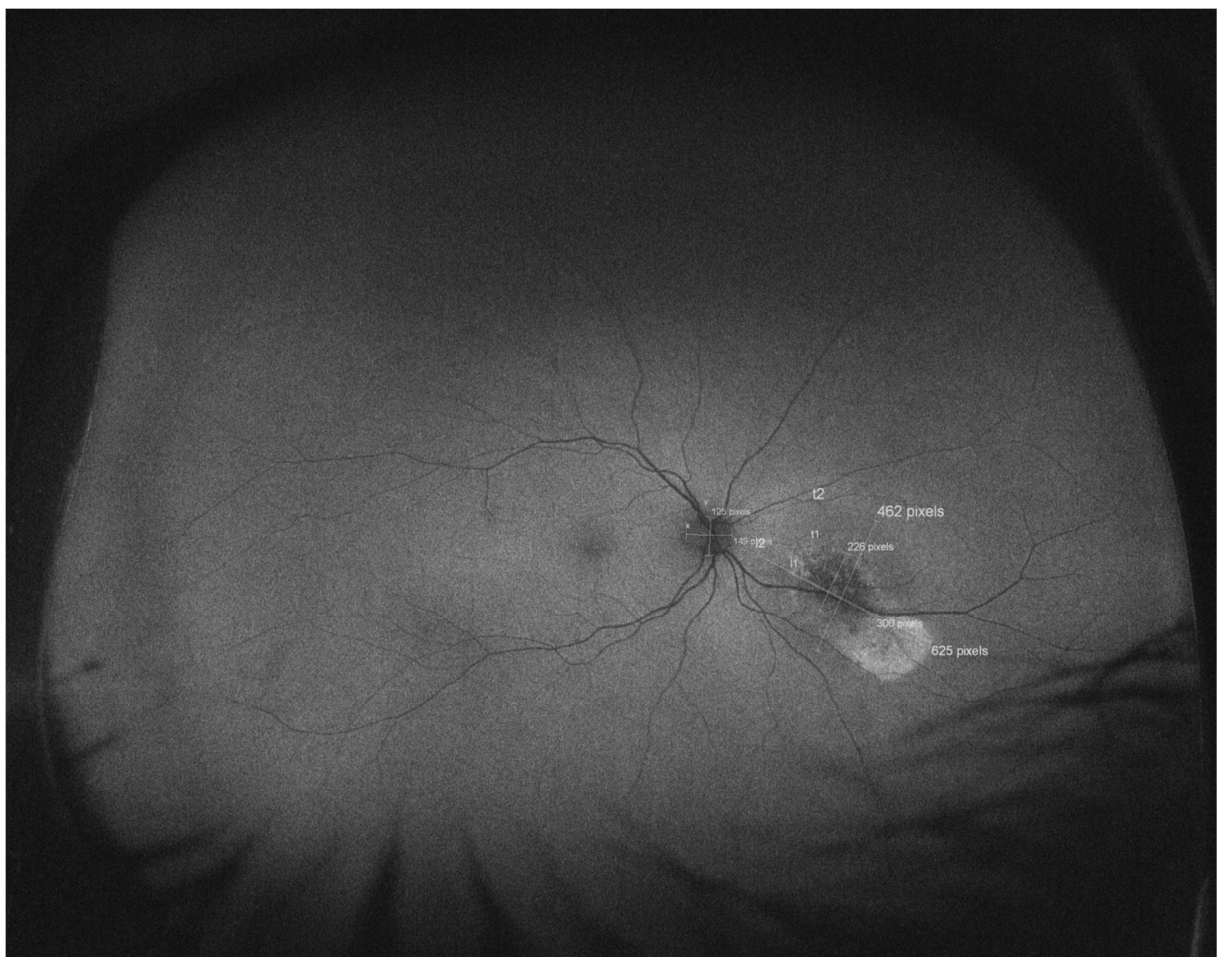
Beispielhaft hierzu zeigt Abbildung 3 die AF-Darstellung einer gesunden Netzhaut. Wie bereits erwähnt stellen sich Bereiche mit geringer AF (z.B. Papille, gelber Pfeil; Gefäße, hellblaue Pfeile) dunkel dar, während der restliche Fundus (hellblaue Kreise) ein diffuses Signal aufweist.

Wegen der geringen Intensität der FAF lassen sich akzeptable Signal-Rausch-Verhältnisse nur realisieren, wenn man Kamerasysteme verwendet die eine hohe Sensitivität oder die Möglichkeit der Mittelung über mehrere Bilder (*image-averaging*) besitzen <sup>56</sup>. Während zunächst benutzte konfokale Scanning Laser Ophthalmoskope diesen Kriterien optimal entsprachen, aber nur einen Bereich von ca. 55° der Netzhaut auf einem Bild darstellen konnten, ermöglichen *Ultra-wide-field-SLO* wie der Optomap Panoramic 200caf die Darstellung von bis zu 200° der Netzhaut. Für die Abbildung von häufig peripher gelegenen und zum Teil relativ großen Aderhauttumoren erscheint dies vorteilhaft.

## 2.2.4 Autofluoreszenz in der Diagnostik von Aderhauttumoren

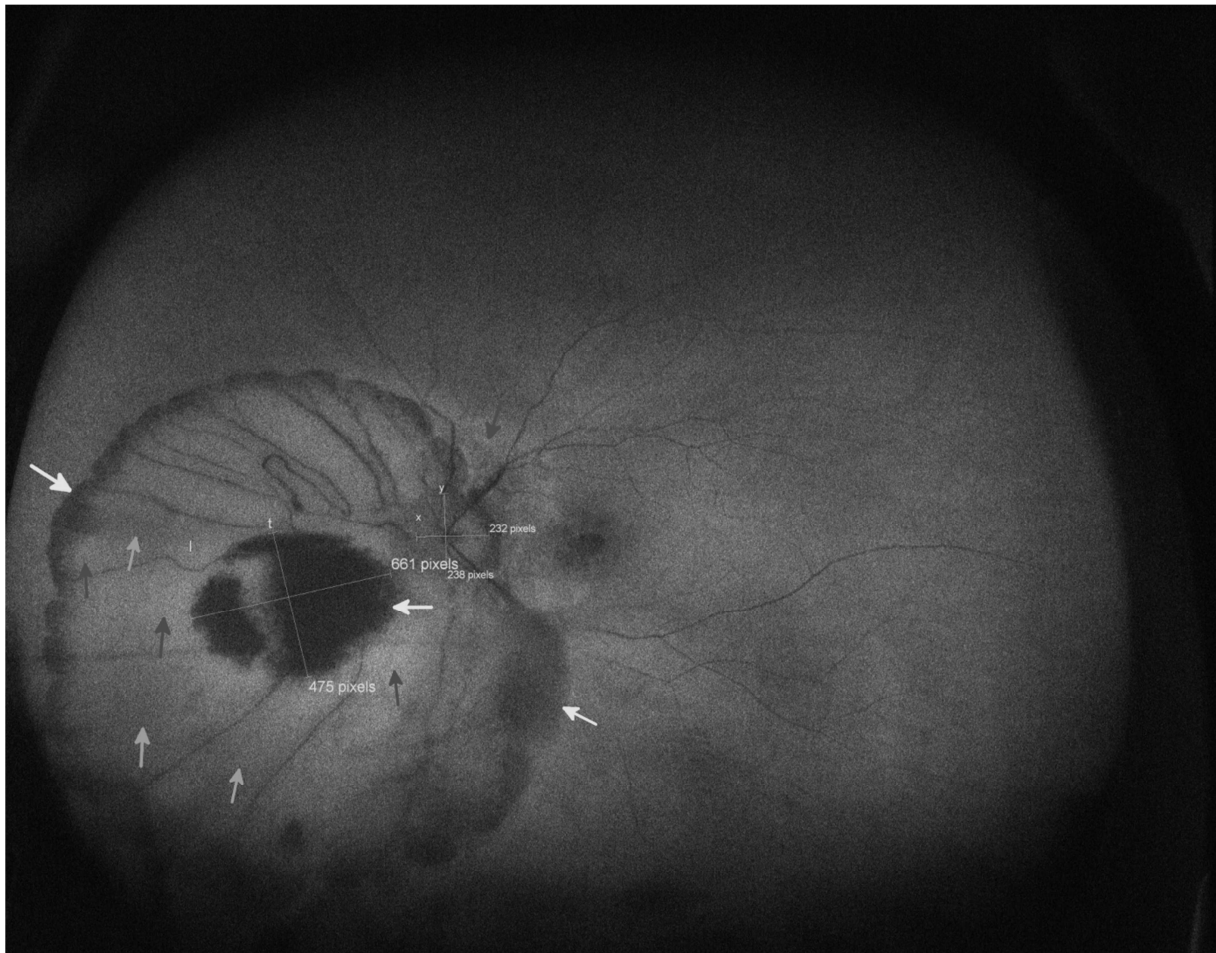
Gündüz *et al.* <sup>10</sup> zeigten unter Verwendung des *Heidelberg confocal Scanning Laser Ophthalmoscope (cSLO) Systems (Heidelberg Retina Angiograph (HRA); Heidelberg Engineering, Dossenheim, Germany)* bei Wellenlänge 488 nm, dass ca. 90% der choroidalen, melanozytären Läsionen mit Hyperpigmentation und LF Auflagerungen (*orange pigment*) mit erhöhter FAF assoziiert sind. Choroidale Nävi scheinen hingegen in dieser Studie nur wenig intrinsische Autofluoreszenz und kein charakteristisches Muster zu besitzen. Allerdings zeigen benachbarte Alterationen des RPE wie Atrophien oder *orange pigment* dramatische von dunkel hypoautofluoreszent bis hell hyperfluoreszent reichende Veränderungen <sup>19, 43, 10</sup>.

Abbildung 4 zeigt einen choroidalen Nävus mit zentraler, fleckiger Hypoautofluoreszenz, entsprechend einer geringen intrinsischen AF und randständiger Hyperautofluoreszenz als Hinweis auf oben erwähnte benachbarte Alterationen des RPE.



**Abbildung 4:** Nävus in der Autofluoreszenzdarstellung mit zentraler, fleckiger Hypoautofluoreszenz und randständiger Hyperautofluoreszenz

Obwohl auch das Aderhautmelanom an sich isoautofluoreszent zu sein scheint <sup>37</sup>, stellt es sich v.a. durch Auflagerung von *orange pigment* (= LF), aber auch durch Hyperpigmentation, Drusen und fibröse Metaplasie häufig hell hyperautofluoreszent dar <sup>10, 37</sup>. Dieser Effekt wird durch Anwendung von Radiotherapie und transpupillärer Thermotherapie noch verstärkt <sup>1</sup>. In einer Studie mit 51 Patienten mit Aderhautmelanomen fanden Shields *et al.* in 39% der Fälle eine hypofluoreszente Darstellung des Melanoms. 6% erschienen isofluoreszent. 55% der Tumoren waren hyperfluoreszent. Eine erhöhte Autofluoreszenz trat v.a. bei großen und pigmentierten Tumoren auf <sup>38</sup>. Gündüz *et al.* führten die Unterscheidung „fleckiges“ und „diffuses“ Autofluoreszenzmuster ein. Als „fleckig“ bezeichnet man scharf abgegrenzte hyperfluoreszente Areale inmitten von Arealen mit normaler Autofluoreszenz. „Diffus“ bedeutet das Vorhandensein unscharf begrenzter Bereiche mit erhöhter FAF, die den Großteil des Tumors (> 50%) einnehmen. Während Aderhautmelanome sowohl „diffuse“ als auch „fleckige“ Muster aufwiesen, wobei große Aderhautmelanome häufiger mit „diffusem“ Muster assoziiert waren, zeigten Nävi überwiegend „fleckige“ Autofluoreszenzmuster <sup>11</sup>.



**Abbildung 5:** Aderhautmelanom nach Radiatio mit randständiger und zentraler Hypoautofluoreszenz (gelbe Pfeile), diffuser Hyperautofluoreszenz (rote Pfeile), sowie isoautofluoreszenten Anteilen (grüne Pfeile)

Abbildung 5 zeigt beispielhaft ein großes Aderhautmelanom nach Anwendung von Radiotherapie. Zentral sowie randständig weist der Tumor einen scharf abgegrenzten hypoaufleuoreszenten Bereich auf, während der übrige Tumor diffus hyper- bzw. isofluoreszent erscheint.

## 3. Methoden

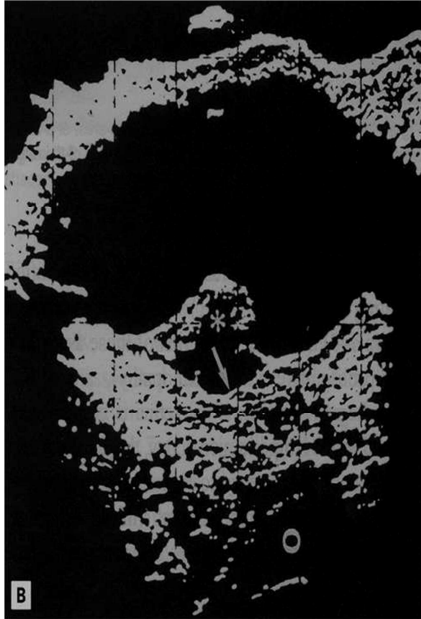
### 3.1 Patienten

In diese Studie wurden Patienten aufgenommen, die sich zwischen Januar und Mai 2010 mit klinisch diagnostiziertem Aderhautmelanom oder Aderhautnävus in der ophthalmologischen Ambulanz der Augenklinik der Ludwig-Maximilians-Universität München vorgestellt hatten und bei denen die optischen Medien ausreichend klar waren, um den Tumor adäquat zu dokumentieren. Insgesamt schlossen wir 139 Patienten mit choroidalen pigmentierten Läsionen ein. Davon litten 101 Patienten unter einem Aderhautmelanom (definiert durch nachgewiesenes Wachstum bei wiederholten Ultraschalluntersuchungen). Bei den restlichen 38 Fällen handelte es sich um Aderhautnävi, definiert durch das Fehlen maligner klinischer und echographischer Kriterien, siehe unten, bzw. keine Wachstumstendenz innerhalb der letzten zwei Jahre. Alle Patienten wurden klinisch, echographisch und mittels Optomap Fundus und Autofluoreszenz Imaging untersucht. Die Ergebnisse der klinischen Untersuchung flossen nicht in die Studie ein, da nur die Eigenschaften der SLO-Untersuchung eruiert werden sollten.

### 3.2 Ultraschall

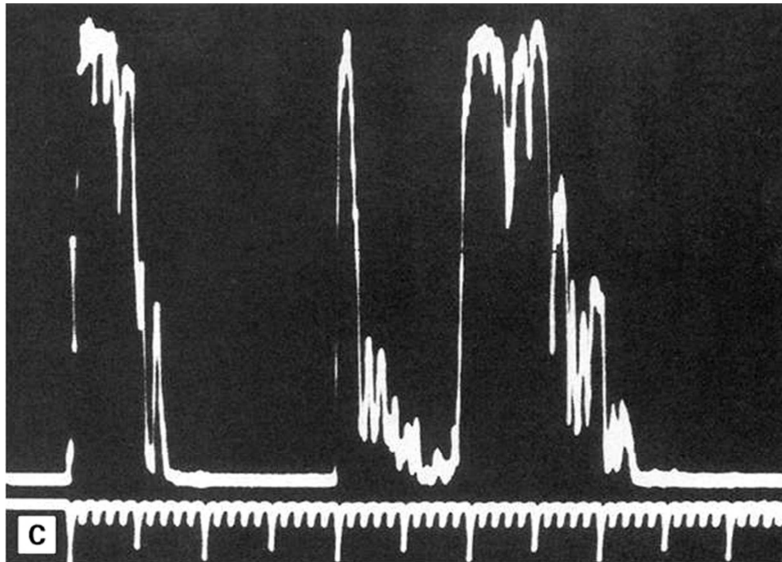
Die echographische Untersuchung entsprach dem Verfahren der standardisierten Echographie nach Ossoinig *et al.* <sup>26</sup>. Alle Patienten wurden mit dem gleichen Gerät untersucht (Ultrasound Cinescan-S, Memory Card Version S 2.07, Quantel Medical, Clermont-Ferrand, Frankreich). Es wurde jeweils eine A- und B-Scan-Untersuchung durchgeführt. In die Auswertung flossen Lage, Form, longitudinaler und transversaler Durchmesser des Tumors, Prominenz und Reflektivität des Tumors.

Während der Untersuchung waren die Augen der Patienten geöffnet. Mit Hilfe des B-Scans wurde anhand der zweidimensionalen Schnittbilddarstellung zunächst Lage, Form und maximaler Durchmesser des Tumors ermittelt. Hierbei wurde die Empfindlichkeits-Einstellung nicht spezifiziert, aber um valide Messungen zu erhalten, möglichst gering gehalten.



**Abbildung 6:** Ultraschall B-Scan eines Aderhautmelanoms: Deutlich prominenter Tumor mit angrenzender, subretinaler Flüssigkeit.

Zur Erhebung der Messung wurde das Gerät zunächst auf Gewebesensitivität gestellt und der Schallkopf gegenüber dem Tumor platziert. Gemäß Ossoinig *et al.* <sup>28</sup> wurde der Reflexionsgrad anhand der Echozackenhöhe im Vergleich zur Bildschirmhöhe ermittelt. Erst wenn sich die Echozacken der Tumoroberfläche und der inneren Sklera mit maximaler Höhe darstellten, wurde die Sensitivität reduziert, bis sich die Zacken deutlich und klar abzeichneten. Um die Prominenz des Tumors zu ermitteln, wurde das Bild eingefroren und der Marker an die Spitze der Tumorzacke und der Zacke der inneren Sklera platziert. Das Gerät misst so die Dicke bzw. Prominenz des Tumors. Zur genaueren Einsicht in die Methodik des Ultraschalls, siehe DiBernardo & Greenberg <sup>6</sup>.



**Abbildung 7:** Ultraschall A-Scan eines Aderhautmelanoms: gut erkennbarer initialer hoher Peak, niedrige Reflektivität im Inneren des Tumors und erneute hohe Reflektivität am Übergang des Tumors zur Sklera.

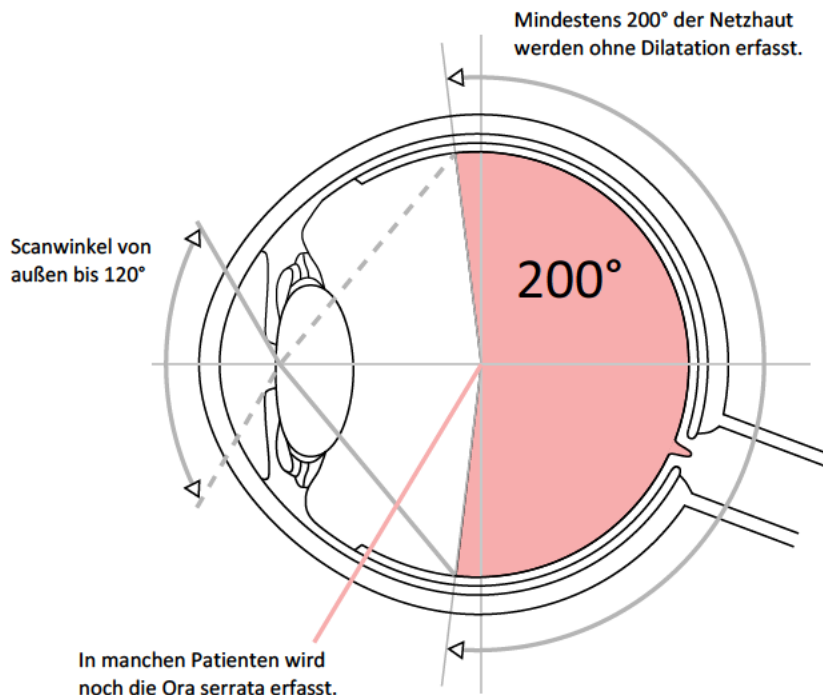
Als echographische Kriterien für Malignität galten nach Ossoinig <sup>28</sup> eine solide Konsistenz, niedrige Reflektivität (ca. 2-60%), regelmäßige bis leicht irreguläre Struktur, Blutstrom, evtl. im B-Scan nachweisbare Pilzform und Tumorwachstum im Vergleich zur Voruntersuchung.

Alle Ultraschallmessungen wurden von einem erfahrenen Ophthalmologen durchgeführt und interpretiert. Die Ergebnisse dienen zusammen mit der Verlaufskontrolle über 2 Jahre als diagnostische Referenz.

### 3.3 Optomap Imaging

#### 3.3.1 Allgemein

Das Optomap Imaging wurde vor oder nach und unabhängig von der klinischen und echographischen Untersuchung durchgeführt. Da der Optomap Panoramic 200caf nur eine schmale optische Achse von ca. 2 mm benötigt und durch den Einsatz von Spiegeln auch ohne Pupillendilatation Weitwinkelaufnahmen von ca. 180-200° ermöglicht, erfolgten die Aufnahmen non-mydriatisch. Abbildung 8 zeigt schematisch den Strahlengang des Geräts.



**Abbildung 8:** Strahlengang des Optomap Panoramic 200caf: Durch die miotische Pupille können ca. 200° der Netzhaut dargestellt werden. Auch jenseits des Äquators gelegene Läsionen können somit abgebildet werden. (Quelle: eigene Darstellung)

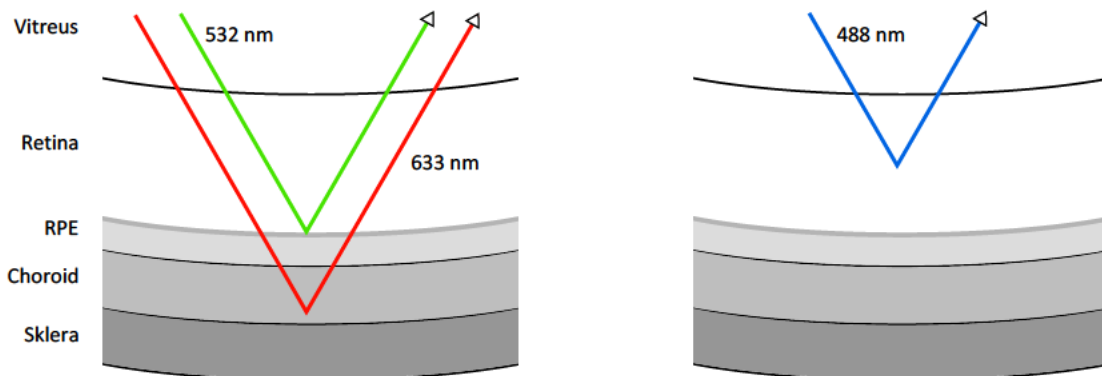
Lediglich Patienten, welche aufgrund der klinischen Untersuchung bereits dilatiert waren, wurden in Mydriasis aufgenommen. Das Gerät benötigt lediglich 0,25 Sekunden zur Bildaufnahme. Hierdurch wurden Bewegungsartefakte vermieden. Insgesamt nahm die Bildgebung mittels Optomap 5-10 min in Anspruch. Es wurden jeweils mehrere Bilder pro Auge und Einstellung aufgenommen, von denen die besten zur späteren Auswertung auf einem Server gespeichert wurden. Die optische Auflösung des in dieser Studie benutzten Geräts betrug 3900 x 3072 Pixel; das entsprach ca. 17-20 Pixel pro Grad. Für weitere detaillierte Information siehe die Internetadresse des Herstellers: [www.optos.com](http://www.optos.com).

### 3.3.2 Zwei-Laser-Wellenlängen-Scanning

Zunächst erfolgte die Weitwinkelaufnahme des Augenhintergrunds durch Zwei-Laser-Wellenlängen-Scanning. Hierbei handelt es sich um ein Verfahren, welches mittels Remission zweier über den Augenhintergrund scannender Laserstrahlen unterschiedlicher Frequenz – und damit unterschiedlicher Gewebeeindringtiefe – eine zweidimensionale Abbildung der Netzhaut erzeugt. Der Optomap Panoramic 200caf verwendet einen grünen (532 nm) und einen roten (633 nm) Laser. Der grüne Laser scannt den Bereich der neurosensorischen Netzhaut sowie des retinalen Pigmentepithels (RPE), der rote den vom RPE bis zur

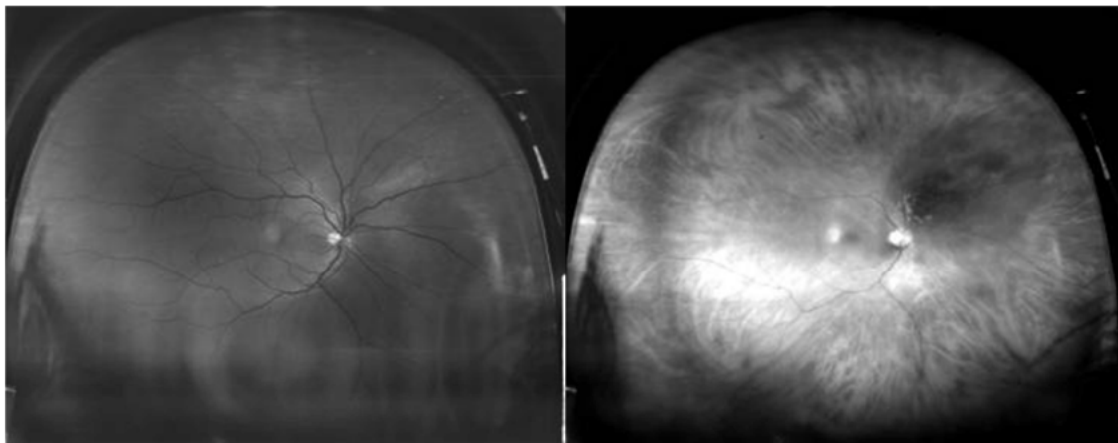


Choroidea. Um unterschiedliche Schichten der Retina genauer beurteilen zu können, ist es auch möglich, den roten und den grünen Laserscan einzeln zu betrachten.



**Abbildung 9:** Vergleich der Eindringtiefe von Lasern unterschiedlicher Wellenlänge: Je kürzer die Wellenlänge, desto geringer die Eindringtiefe in biologische Gewebe<sup>2</sup>. Strahlen der Wellenlänge 532 nm (grüner Laser) werden bereits am RPE reflektiert, Strahlen der Wellenlänge 633 nm (roter Laser) dringen bis in die Choroidea vor. (Quelle: eigene Darstellung)

Durch die unmittelbare optische Überlagerung des roten und grünen Bildes werden semirealistische Farbdarstellungen erreicht. Die nachfolgenden Abbildungen 10 und 11 illustrieren das Verfahren der Überlagerung der Einzelscans.



**Abbildung 10:** Links: Gesunde Netzhaut in der Grünlaser-Darstellung. Hierbei kann besonders gut die neurosensorische Netzhaut beurteilt werden. Rechts: Gesunde Netzhaut in der Rotlaser-Darstellung. Hierbei können besonders gut das RPE und tiefere Netzhautschichten beurteilt werden.



**Abbildung 11:** Gesunde Netzhaut in semirealistischer Farbdarstellung (Überlagerung von Abbildung 10 links und rechts)

Neben Papille, Makula und zentralem Gefäßbogen können auch periphere Anteile der Netzhaut beurteilt werden.

### **3.3.3 Autofluoreszenz Scanning**

Um die FAF darzustellen, verwendet der Optomap Panoramic 200caf im Gegensatz zu anderen Systemen (z.B. Heidelberg HRA 2 FAF Detektionssystem [Heidelberg Engineering, Heidelberg, Germany]) grünes Laserlicht der Wellenlänge 532 nm. Das grüne Licht regt gewisse Fluorophoren (v.a. Lipofuszin, siehe oben) zur Lichtemission im gelben, orangenen und roten Bereich an. Ein potentieller Vorteil der Verwendung dieser Wellenlänge ist die möglicherweise höhere Spezifität für Lipofuszin aufgrund besonders geringer Interferenz mit der Kollagen-induzierten Autofluoreszenz <sup>36</sup>. Bei Optomap Panoramic 200caf wird mittels Breitband-Detektor das emittierte FAF Signal zwischen 570 nm und 780 nm quantitativ gemessen und in unterschiedlichen Graustufen dargestellt.

## 3.4 Bildanalyse und Statistik

### 3.4.1 Bildanalyse

Die Retinabilder wurden mittels Netzwerk vom Server auf einen 17-Zoll Kathodenstrahl-Farbbildschirm geladen. Die Auswertung erfolgte anhand der Optomap Vantage V2 Software. Diese ermöglicht grundsätzlich einfache Bildmanipulationen, wie die Änderung des Kontrasts, der Helligkeit oder der Größe. Zudem können Bilder sowohl in der semirealistischen Farbdarstellung als auch der *Single-Wavelength*-Darstellung betrachtet werden. Da der grüne Laser, im Gegensatz zum roten mit einer längeren Wellenlänge, das retinale Pigmentepithel im Wesentlichen nicht durchdringen kann, diente Letzterer zur besseren Differenzierung der Läsionsgröße.

Alle Bilder wurden in der überlagerten Farbdarstellung sowie der Einzel-Wellenlängen Darstellung betrachtet, zudem in verschiedenen Vergrößerungen. Weitere Bildmanipulationen wurden in dieser Studie nicht vorgenommen. Die Auswertung anhand der Kriterien „Lokalisation“ und „subretinale Flüssigkeit“ erfolgte in der überlagerten Farbdarstellung. Die Läsionsgröße wurde anhand der Rot-Kanal-Bilder ermittelt.

Die Auswertung der Optomap-Bilder erfolgte durch Doktorandin, Betreuer und Doktorvater. Informationen über Ergebnisse anderer Untersuchungsmethoden oder klinischer Symptome lagen zum Zeitpunkt der Auswertung nicht vor.

Größenangaben wurden relativ zum Papillendurchmesser gemacht, da absolute Größenangaben in Unkenntnis der optischen Eigenschaften des jeweiligen Auges – insbesondere der Brechkraft der Hornhaut und der Länge des Augapfels – nicht exakt möglich sind<sup>30, 8, 20</sup>.

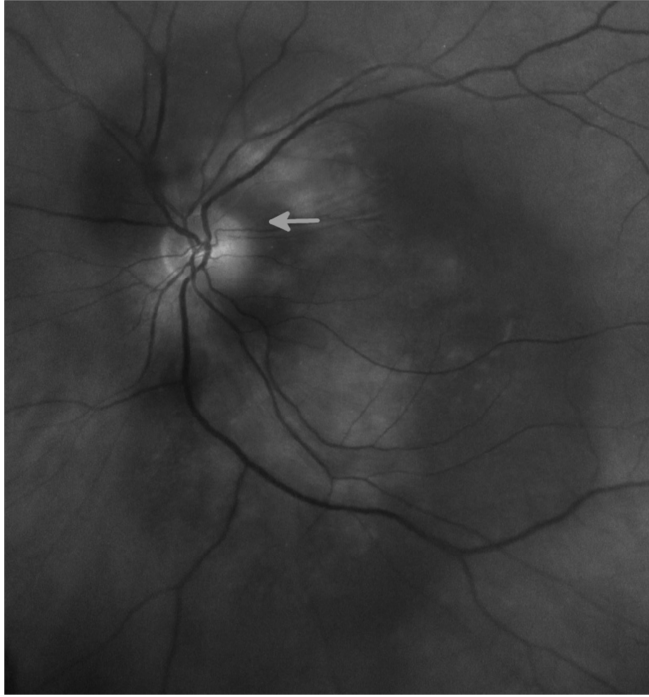
### 3.4.2 Kenngrößen

Die Auswertung erfolgte anhand von 5 charakteristischen Merkmalen:

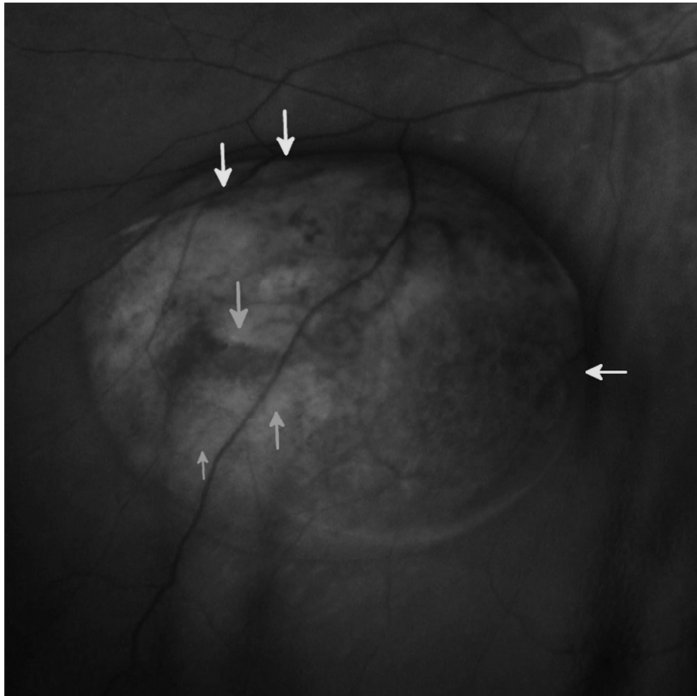
- 1.) Lokalisation im Verhältnis zur Papille: Hierbei erfolgte eine binäre Auswertung: Lag der Tumorrand im Abstand von < zwei Papillendurchmesser (relative Größenangabe) zur Papille oder der Tumor direkt an der Papille, wurde dies als „ja“ und Hinweis auf Malignität gewertet, siehe Abbildung 12. Bei einem Abstand von > zwei Papillendurchmesser zur Papille als „nein“. Shields *et al.* hatten gezeigt, dass eine Lage in unmittelbarer Nähe zur Papille mit einem 2-fach erhöhten Risiko für Wachstum und Transformation assoziiert ist<sup>42</sup>.

- 2.) Ebenfalls eine binäre Auswertung erfolgte bei der Beurteilung des Vorhandenseins subretinaler Flüssigkeit um oder an der Läsion. Erschien die Netzhaut um oder am Tumor erhaben bzw. abgehoben, wurde dies als subretinale Flüssigkeit und somit als Hinweis auf Malignität gedeutet, siehe Abbildung 13. Die Urteile über subretinale Flüssigkeit und die sich daran anschließenden Zuordnungen waren subjektiv und graderabhängig. Shields *et al.* <sup>42</sup> zeigten, dass das Vorhandensein subretinaler Flüssigkeit mit einem 3-fach erhöhten Risiko für Malignität einhergeht. Die Urteile über subretinale Flüssigkeit und die sich daran anschließenden Zuordnungen waren subjektiv und graderabhängig.
- 3.) Die Läsionsgröße wurde anhand des maximalen und minimalen longitudinalen und transversalen Durchmessers ermittelt: In den mit Optomap generierten Bildern wurde die Zahl der Pixel in horizontaler und vertikaler Richtung bestimmt, gemittelt, und ins Verhältnis gesetzt zur individuellen Größe der Papille. Die Größe der Papille war ebenfalls definiert als Mittelwert des horizontalen und vertikalen Papillendurchmessers. Die auf diese Weise standardisierten Angaben zur Läsionsgröße sind relative, auf die individuelle Papillengröße referenzierte Werte.
- 4.) Das Aussehen der Läsion im grünen Kanal wurde qualitativ beurteilt. Es wurde nach dunklem (*dark*), hellem (*bright*) und gemischtem (*mixed*) Aussehen unterschieden. Eine ähnliche Studie mit geringerer Fallzahl von Kernt *et al.* <sup>18</sup> hatte gezeigt, dass maligne Läsionen im Grünkanal häufig hell (*bright*) wirkten. Ein helles Muster im Grünkanal galt daher als Zeichen für Malignität. Läsionen mit gemischtem Aussehen wurden nicht mit in die Auswertung einbezogen. Die Beurteilung der Grünkanalbilder und die anschließenden Zuordnungen waren subjektiv und graderabhängig.
- 5.) Die Fundusautofluoreszenz wurde quantitativ bestimmt. Anhand unterschiedlicher Graustufen der Darstellung konnte mittels computergestützter Messung im Zentrum der Läsion das Autofluoreszenzlevel bestimmt werden. Die softwareseitig vergebenen Werte für die Helligkeit überstrichen eine Skala, die von 0 bis 255 reichte. Je heller die Läsion im Bild erschien, desto höher war der Messwert und damit die FAF, siehe Abbildung 14.

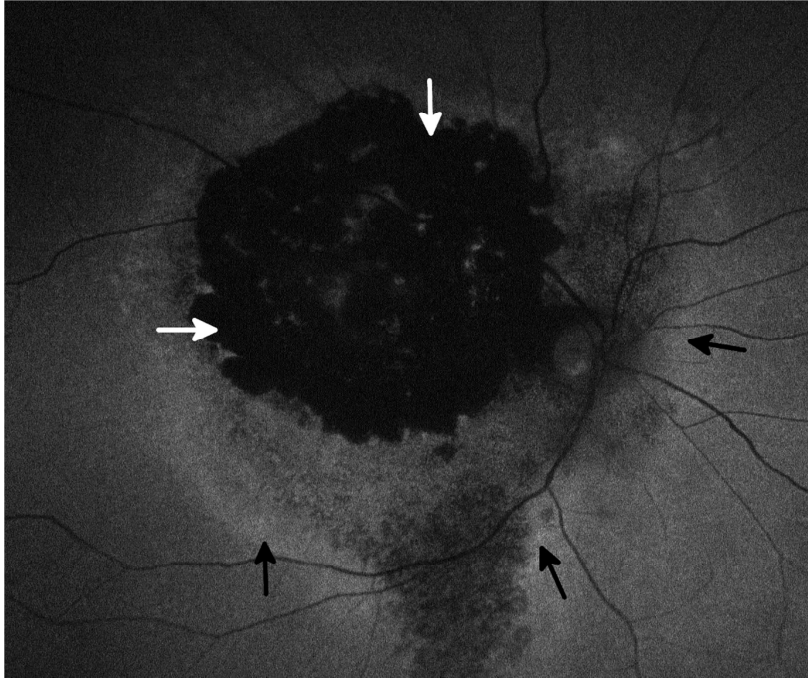
Die Abbildungen 12 bis 14 zeigen beispielhaft Läsionen, bei denen die Auswertung anhand oben genannter Merkmale einfach war: In Abbildung 12 liegt der Tumor eindeutig in unmittelbarer Nähe zur Papille (gelber Pfeil). In Abbildung 13 erkennt man am Farbspiel mit etwas Übung leicht die Prominenz des Tumors (gelbe Pfeile) sowie die Ansammlung subretinaler Flüssigkeit (hellblaue Pfeile). Abbildung 14 zeigt die FAF-Darstellung eines Aderhautmelanoms mit geringer zentraler AF sowie hyperfluoreszentem Randwall.



**Abbildung 12:** Direkt an der Papille liegendes Melanom in semirealistischer Farbdarstellung



**Abbildung 13:** Aderhautmelanom mit deutlicher Prominenz, subretinaler Flüssigkeit und hierdurch abgehobener, flottierender Netzhaut in semirealistischer Farbdarstellung



**Abbildung 14:** Aderhautmelanom mit geringer fleckiger, zentraler FAF (Hypoautofluoreszenz, siehe weiße Pfeile) und Randwall mit erhöhter Autofluoreszenz (schwarze Pfeile)

Das Bildgebungsverfahren (SLO) liefert trotz der Möglichkeit der Überlagerung von rotem Laser-Scan und grünem Laser-Scan nur zweidimensionale Darstellungen. Sie sind nicht geeignet, die Dicke des Tumors genau zu diagnostizieren. Die Läsionshöhe konnte in dieser Untersuchung darum nicht als Differenzierungskriterium herangezogen werden.

### 3.4.3 Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung erfolgte mit Hilfe des Programm SPSS 19.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA). Als Voraussetzung für statistische Signifikanz wurde ein Konfidenzniveau von größer 95% ( $p < 0,05$ ) festgelegt. Zunächst wurde für jede der fünf Variablen – „Abstand der Läsion zur Papille“, „Ansammlung subretinaler Flüssigkeit“, „vertikaler und horizontaler Durchmesser der Läsion“, „Helligkeit der Läsion im Grünkanal“, „Graustufenwert der Läsion in der Darstellung der Autofluoreszenz“ – einzeln geprüft, ob sich das Erscheinungsbild von Nävus und Melanom deutlich, also signifikant, voneinander unterscheiden lässt. Von einer Normalverteilung der abhängigen Variablen kann nicht ausgegangen werden, sodass ein nichtparametrischer Test erforderlich war. Zum Einsatz kam der Wilcoxon-Mann-Whitney-Test. Um den Beitrag der einzelnen Kenngrößen zur diagnostischen Differenzierung und die besten Prädiktoren unter den fünf abhängigen Variablen zu ermitteln, wurde eine Regressionsanalyse durchgeführt. Die Skalenqualität der abhängigen Variablen ist gering, z.B. ist die Variable „Ansammlung subretinaler Flüssigkeit“ nur dichotom: Entweder wurde subretinale Flüssigkeit im Bereich der Läsion vorgefunden oder nicht. Andere Variablen

wurden aus praktischen Gründen dichotom kodiert, z.B. wurde der Abstand der Läsion zur Papille nur als „papillennah“ ja oder nein erfasst. Ein lineares Regressionsmodell schied deshalb aus. Zur Anwendung kam stattdessen die auch für abhängige Variablen mit nur nominalem Skalenniveau geeignete logistische Regressionsanalyse, auch Logit-Modell genannt.





## 4. Ergebnisse

### 4.1 Charakteristische Unterschiede zwischen Melanom und Nävus

Es wurden 139 Augen von 139 Patienten untersucht. Darunter waren 101 Läsionen Melanome und 38 Läsionen melanozytäre Läsionen – jedoch ohne Melanomkennzeichen, also Nävi. Das mittlere Alter der Patienten betrug 65,0 Jahre für die Melanom- und 63,4 Jahre für die Nicht-Melanomgruppe (Nävusgruppe). In der Melanomgruppe waren 40,6% Männer, in der Nävusgruppe 44,7%. Beide Unterschiede waren statistisch nicht signifikant.

#### 4.1.1 Abstand zur Papille

Eine Berührung der Papille trat beim Nävus seltener auf ( $p < 0,001$ ). Lediglich einer der 38 Nävi lag in unmittelbarer Nähe zur Papille. Dahingegen berührten 31 von 101 Melanomen die Papille.

**Tabelle 2:** Kriterium „Abstand zur Papille“ in der Optomap-Bildgebung

		Gruppe		
		Nävus	Melanom	Summe
Papillennähe	Nein	37	70	107
	Ja	1	31	32
Summe		38	101	139

#### 4.1.2 Ansammlung subretinaler Flüssigkeit

Subretinale Flüssigkeit trat ausschließlich bei Melanomen auf ( $p = 0,003$ ). Bei 18 der 100 untersuchten Melanome war subretinale Flüssigkeit nachweisbar. Bei den 37 Nävi fand sich kein Anhalt für subretinale Flüssigkeit.

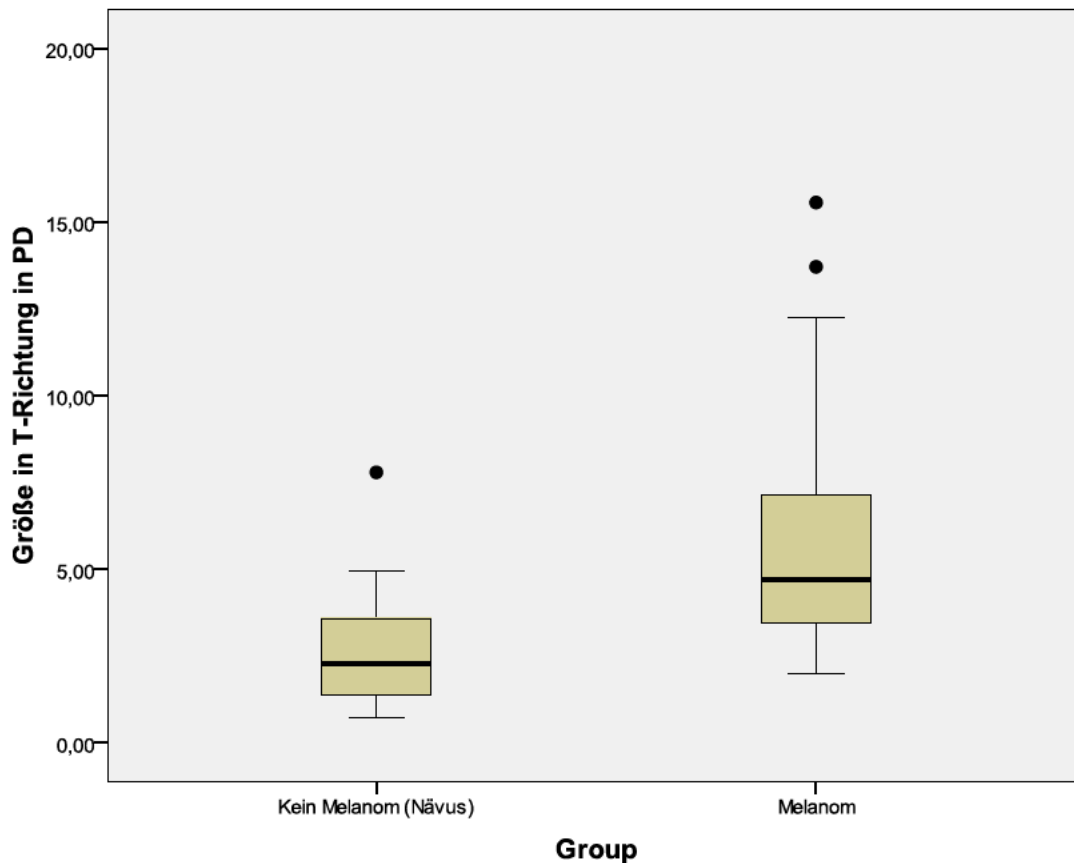
**Tabelle 3:** Kriterium „Ansammlung subretinaler Flüssigkeit“ in der Optomap-Bildgebung

		Gruppe		
		Nicht-Melanom (Nävus)	Melanom	Summe
Subretinale Flüssigkeit	Nein	37	82	119
	Ja	0	18	18
Summe		37	100	137*

\* Bei je einem Nävus und einem Melanom ließ sich die subretinale Flüssigkeit nicht anhand des Optomap-Bildes klassifizieren.

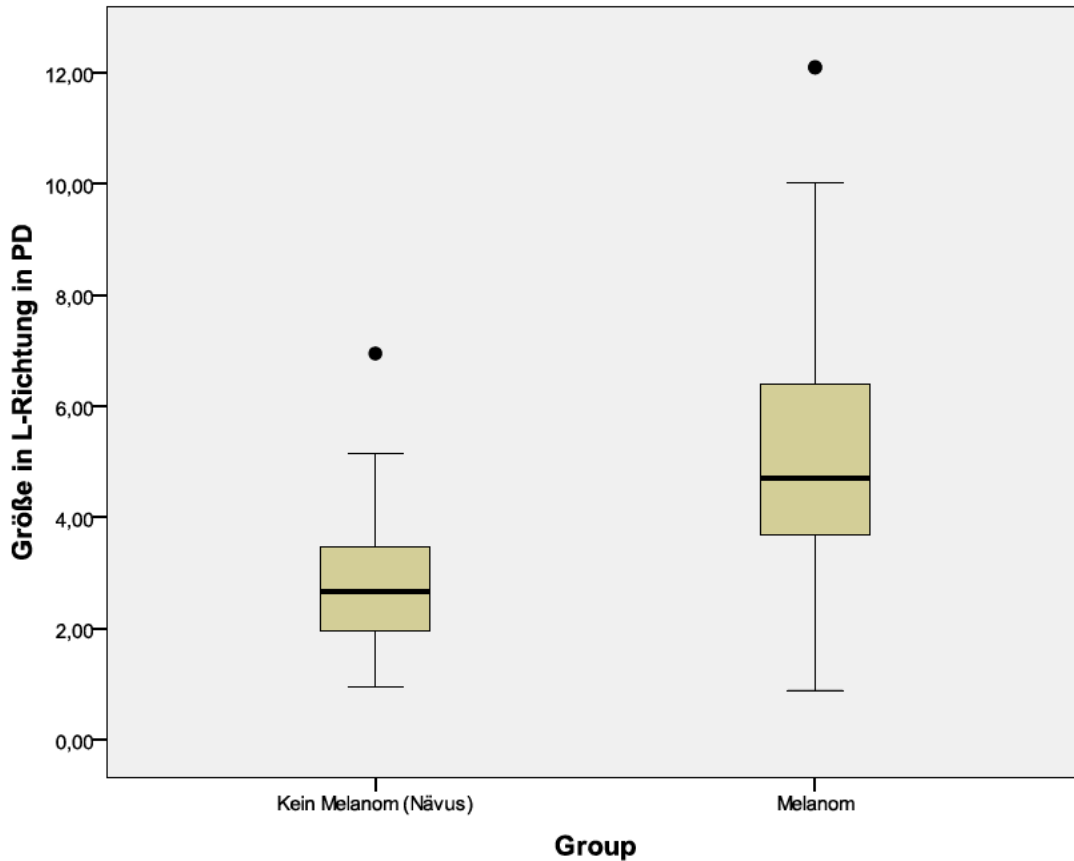
### 4.1.3 Läsionsgröße

Die Läsionsgröße unterschied sich klar zwischen den beiden Gruppen: Die Melanome hatten eine mittlere Größe von transversal 5,6 +/- 3,0 Papillendurchmesser und longitudinal 5,2 +/- 2,3 Papillendurchmesser. Davon unterschieden sich die gutartigen Nävi deutlich mit transversal 2,6 +/- 1,5 und longitudinal 2,8 +/- 1,3 Papillendurchmesser (jeweils  $p < 0,001$ ).



**Abbildung 15:** Boxplot: Größenverteilung Melanom vs. Nävus in T-Richtung [in Papillendurchmessern]

Wie die Kastengrafiken der Abbildungen 15 und 16 veranschaulichen, wiesen Melanome einen statistisch signifikant ( $p < 0,001$ ) größeren transversalen Durchmesser wie auch einen statistisch signifikant ( $p < 0,001$ ) größeren longitudinalen Durchmesser auf als Nävi.



**Abbildung 16:** Boxplot: Größenverteilung Melanom vs. Nävus in L-Richtung [in Papillendurchmessern]

#### 4.1.4 Darstellung der Läsion im grünen Bildkanal

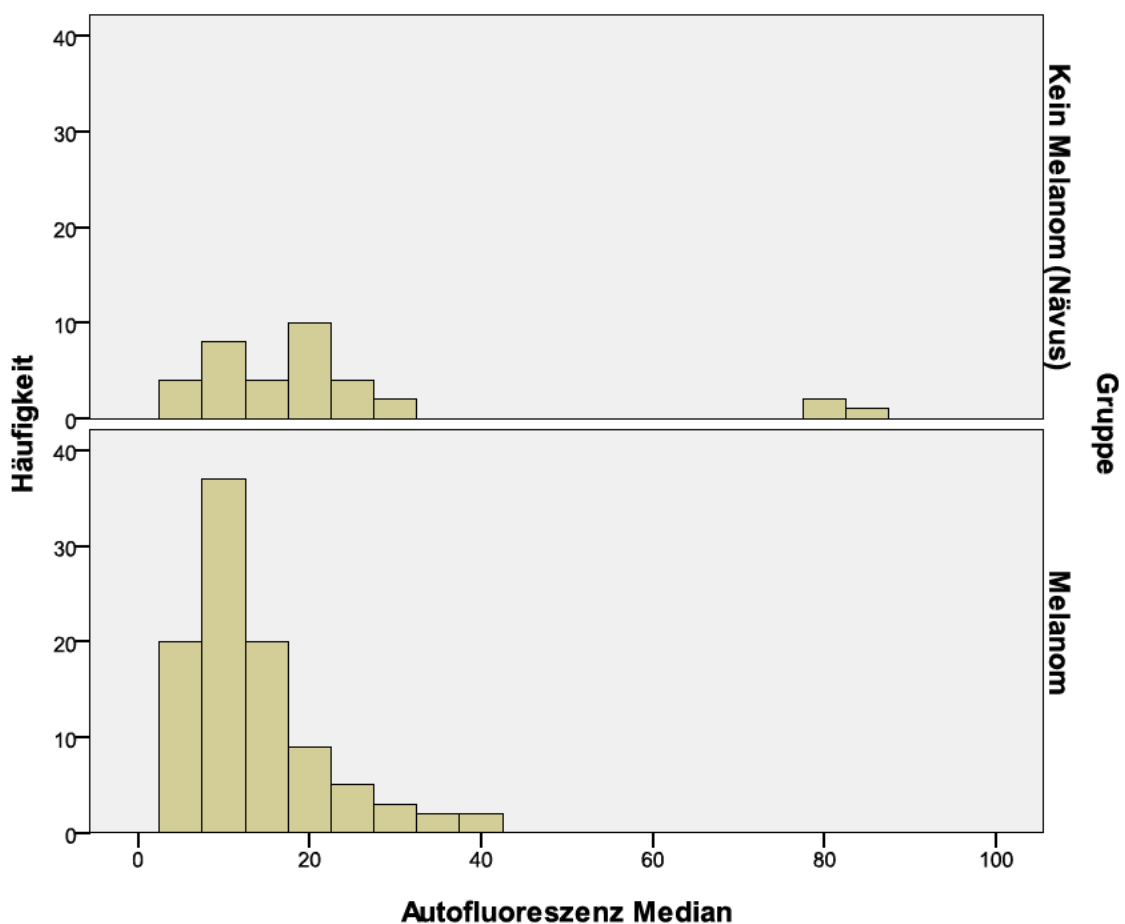
Das Aussehen der Melanome und Nävi bei Darstellung mittels grünem Laserscan unterschied sich statistisch nicht signifikant. Jedoch zeigte sich eine statistisch nicht signifikante Tendenz zu einem häufigeren Vorkommen des „gemischten“ Erscheinungsbildes bei Melanomen. Als „gemischt“ wurden Darstellungen bezeichnet, die sowohl helle als auch dunkle Anteile aufwiesen.

**Tabelle 4:** Darstellung der Läsion im grünen Bildkanal

		Gruppe		
		Kein Melanom (Nävus)	Melanom	Summe
Aussehen im Grün-Kanal	dunkel	18	44	62
	hell	17	34	51
	gemischt	3	23	26
Summe		38	101	139

#### 4.1.5 Autofluoreszenz

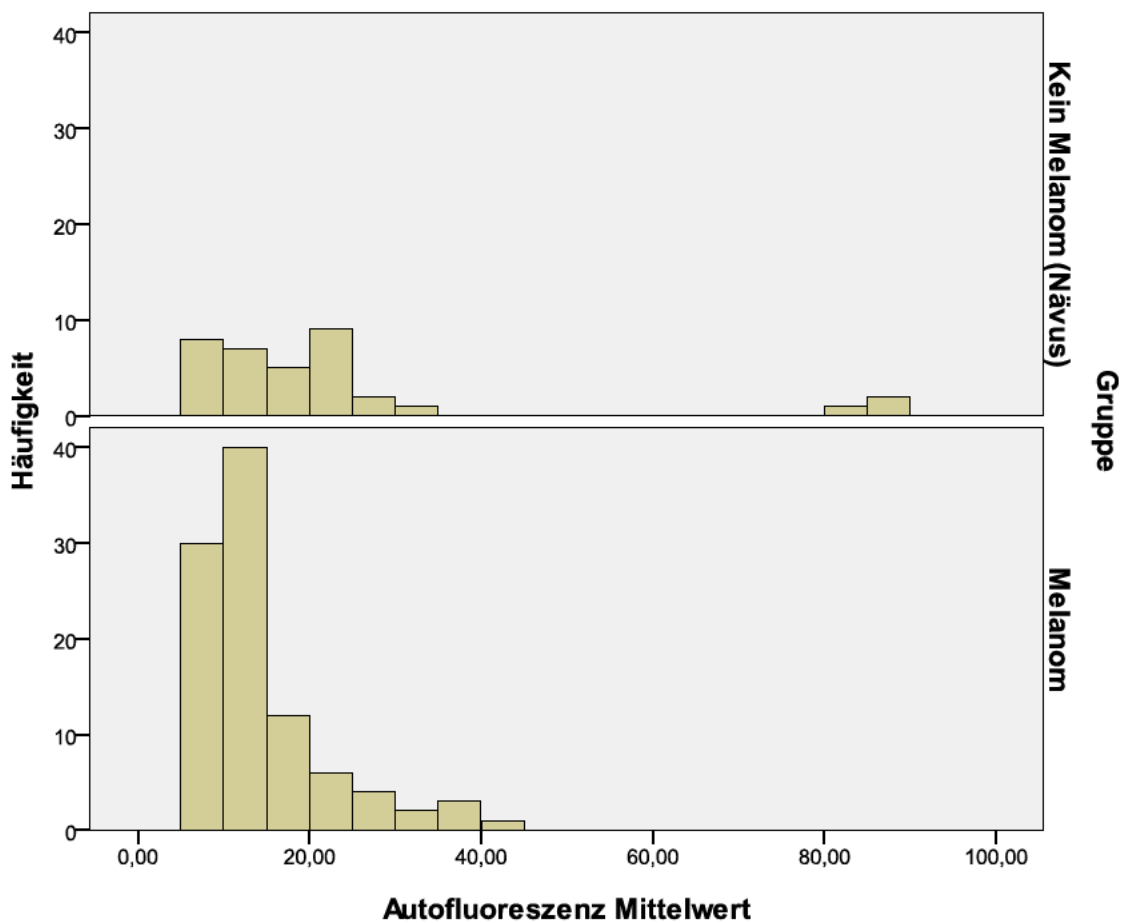
Die graphische Analyse von Mittelwert und Median der Läsionen deutet zwei Untergruppen innerhalb der Nävi an. Während ein kleiner Teil der Nävi eine erhöhte Autofluoreszenz (hohe Werte, im Autofluoreszenzbild hell) aufweist, stellt sich der größere Teil mit einer eher niedrigen Autofluoreszenz dar (niedrige Werte, im Autofluoreszenzbild dunkel). Bei Überlappung der Melanom- und Nävusgruppe weist die Melanomgruppe insgesamt eine niedrigere Autofluoreszenz auf, wie die folgenden Abbildungen zeigen. Trotz geringer Unterschiede und breiter Überlappung sind im Gruppenvergleich sowohl Mittelwert ( $p < 0,002$ ) als auch Median ( $p < 0,001$ ) der Autofluoreszenz signifikant unterschiedlich. Dies veranschaulichen die Abbildungen 17 und 18.



**Abbildung 17:** Autofluoreszenz von Melanom vs. Nävus (Median der Helligkeitsmesswerte in der Läsion)

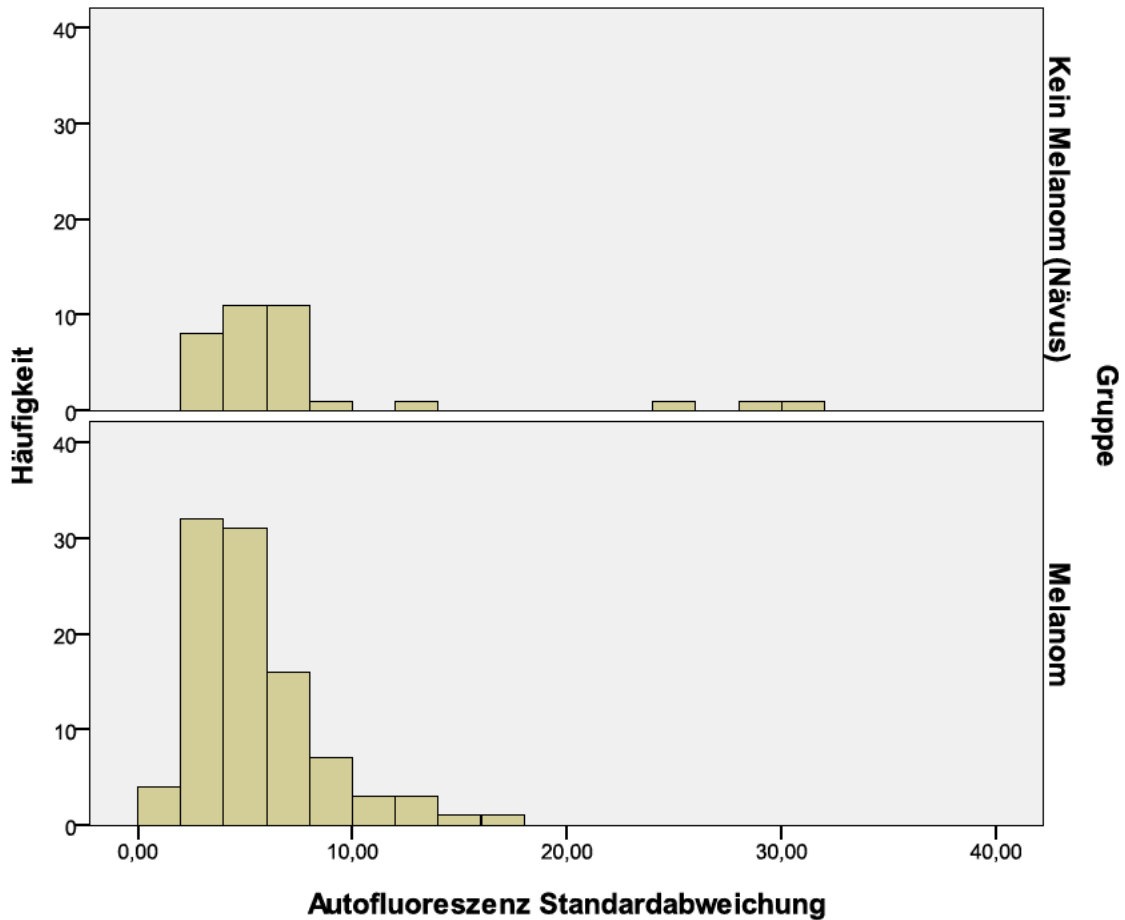
Helle Autofluoreszenz entspricht hohen Werten auf der horizontalen Achse der Grafiken der Abbildungen 17. Bei den Nävi deuten sich zwei Gruppen an: Während einige Nävi hyperautofluoreszent sind, weist der Großteil eine nur gering von der Melanomgruppe

unterschiedliche, geringe Autofluoreszenz auf. Im Gruppenvergleich sind die Nävi jedoch insgesamt signifikant stärker autofluoreszent.



**Abbildung 18:** Autofluoreszenz von Melanom vs. Nävus (Mittelwert der Helligkeitsmesswerte in der Läsion)

Helle Autofluoreszenz entspricht hohen Werten auf der horizontalen Achse der Grafiken der Abbildung 18. Bei den Nävi deuten sich zwei Gruppen an: Während einige Nävi hypoautofluoreszent sind, weist der Großteil eine nur wenig von der Melanomgruppe abweichende Autofluoreszenz auf. Der Gruppenvergleich erweist die Autofluoreszenz der Nävi jedoch als signifikant stärker.



**Abbildung 19:** Autofluoreszenz von Melanom vs. Nävus (Helligkeitsschwankung im Bereich der Läsion)

Helle Autofluoreszenz entspricht hohen Werten auf der horizontalen Achse der Grafiken der Abbildung 19, hier die Standardabweichung der Autofluoreszenz der Läsion, die der Helligkeitsverteilung innerhalb der Läsion entspricht. Die Streuung der Helligkeitswerte ist in der Gruppe der Nävi größer. Dieser Unterschied ist im Gruppenvergleich statistisch signifikant ( $p < 0,03$ ).

Die den Abbildungen 17 bis 19 zugrunde liegenden statistischen Kenngrößen beider Gruppen werden in der nachfolgenden Tabelle 5 zusammenfassend aufgeführt.

**Tabelle 5:** Gruppen Nävus und Melanom in der Autofluoreszenz

	Gruppe		Statistik	Std.-Fehler
Autofluoreszenz- Mittelwert im Läsionsbereich	Nävi	Mittelwert	22,22	3,51
		Median	18,23	
		Varianz	430,39	
		Standardabweichung	20,75	
		Minimum	5,69	
		Maximum	88,34	
		Interquartilsabstand	13,80	
	Melanom	Mittelwert	14,24	0,8
		Median	12,19	
		Varianz	62,07	
		Standardabweichung	7,88	
		Minimum	5,01	
		Maximum	40,07	
		Interquartilsabstand	7,63	
Autofluoreszenz- Median im Läsionsbereich	Nävi	Mittelwert	21,66	3,41
		Median	18,00	
		Varianz	406,53	
		Standardabweichung	20,16	
		Minimum	6	
		Maximum	86	
		Interquartilsabstand	14	
	Melanom	Mittelwert	13,56	0,78
		Median	11,50	
		Varianz	59,18	
		Standardabweichung	7,69	
		Minimum	5	
		Maximum	40	
		Interquartilsabstand	8	
Autofluoreszenz- Standardabweichung über die jeweilige Läsion	Nävi	Mittelwert	7,36	1,16
		Median	5,67	
		Varianz	47,14	
		Standardabweichung	6,87	
		Minimum	2,00	
		Maximum	30,66	
		Interquartilsabstand	2,66	
	Melanom	Mittelwert	5,42	0,3
		Median	4,75	
		Varianz	8,95	
		Standardabweichung	2,99	
		Minimum	1,30	
		Maximum	16,59	
		Interquartilsabstand	3,02	

## 4.2 Regressionsanalyse der mit Optomap erhobenen Daten

Schließlich wurde unter Einbeziehung aller verfügbaren Kenngrößen in einem logistischen Regressionsmodell der Beitrag der einzelnen Bildgebungseigenschaften zur Unterscheidung von Melanom und Nävus untersucht.

**Tabelle 6:** Variablen im logistischen Regressionsmodell zur Unterscheidung Melanom/Nävus anhand der Optomap-Bilder.  $B$  ist der Logit-Koeffizient,  $S. E.$  der geschätzte Standardfehler, die Wald-Statistik ist vergleichbar einem  $t$ -Test,  $df$  zeigt die Freiheitsgrade und  $p$  den Signifikanzwert für die Wald-Statistik,  $Exp(B)$  ist die *Odds Ratio* und ist  $e^B$  mit  $e = 2,718...$

Variable	B	S.E.	Wald	df	p	Exp(B)	95% Konfidenzintervall für Exp(B)	
							untere Grenze	obere Grenze
Lage der Läsion papillennah	3,05	1,28	5,69	1	0,02	21,2	1,72	260
Ansammlung subret. Flüssigkeit	19,58	9856	0,00	1	0,998	$3,2 \cdot 10^8$	0,00	-
Transversaler Durchmesser	0,39	0,34	1,33	1	0,25	1,48	0,76	2,88
Longitudinaler Durchmesser	0,42	0,325	1,64	1	0,20	1,52	0,8	2,87
Darstellung im Grünkanal	0,79	0,37	4,55	1	0,03	0,45	0,22	0,94
Autofluoreszenz im Median	0,08	0,03	5,75	1	0,02	0,98	0,87	0,986

Die Wald-Statistik prüft für jede Variable, ob  $B = 0$  ist. Die Nullhypothese, dass eine Variable als Prädiktor keine Bedeutung hat, kann daraufhin mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit  $p$  zurückgewiesen werden. Mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von  $p < 0,05$  erweisen demnach die in der Fragestellung der Studie formulierten Variablen „Abstand der Läsion zur Papille“, „Helligkeit der Läsion im Grünkanal“ und „Graustufenwert der Läsion in der Darstellung der Autofluoreszenz“ ihre Relevanz für die Diagnostik per Optomap. Für große Werte von  $B$  ist die Wald-Statistik unzuverlässig. Der nach  $B$ -Wert beste Prädiktor „Ansammlung subretinaler Flüssigkeit“ wird in Tabelle 6 darum fälschlicherweise mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von  $p$  nahe 1 ausgewiesen und widerlegt.

Die *Odds Ratio*  $Exp(B)$  gibt Auskunft darüber, in welchem Verhältnis die Wahrscheinlichkeit für das Auftreten von Eigenschaft  $x$  zur Wahrscheinlichkeit für das Auftreten von Eigenschaft  $y$  steht. Da die Eigenschaft  $x$  (Diagnose Nävus) in dieser Studie immer die Eigenschaft  $y$



(Diagnose Melanom) ausschließt und umgekehrt, liefert die *Odds Ratio*  $\text{Exp}(B)$  nicht mehr als eine künstlich gesteigerte Effektgröße ohne weiteren Erkenntnisgewinn.

Die logistische Regression erlaubt die Berechnung der zusammengefassten diagnostischen Genauigkeit, die der Begutachtung von Optomap-Bildern zu eigen ist. Es geht dabei um die Frage, wie häufig aufgrund der Optomap-Bilder eine korrekte Zuordnung einer Läsion zum per Ultraschall erstellten Befund „Nävus“ oder zum Befund „Melanom“ vorgenommen werden konnte.

**Tabelle 7:** Klassifikationstabelle zur diagnostischen Genauigkeit<sup>1</sup>

		Klinischer Befund (Ultraschall)	
		Nävus	Melanom
Diagnose nach Optomap-Bildern:	Nävus	21	8
	Melanom	11	60
Diagnostische Genauigkeit (Trennwert 0,5)		65,6%	88,2%

Das Maß für die diagnostische Genauigkeit beträgt 81%. Sie setzt sich zusammen aus einer Sensitivität von 65,6% und einer Spezifität von 88,2%. Die Sensitivität erfasst die relative Häufigkeit der richtigen Klassifikation unter der Annahme, dass das Ereignis (hier: Nävus) eingetreten ist,  $21/(11+21) = 0,656$ . Die Spezifität beziffert die relative Häufigkeit der richtigen Klassifikation unter der Annahme, dass das Ereignis (Nävus) nicht eingetreten ist,  $60/(8+60) = 0,882$ .

Das geschätzte Maß der mit den Variablen dieses Logit-Modells erklärbaren Varianz beläuft sich auf  $R^2 = 0,661$  (Nagelkerke). Werte von Nagelkerkes  $R^2 > 0,5$  attestieren den beteiligten Variablen eines Logit-Modells ein sehr gutes Klassifikationsvermögen, hier dem Vermögen, Nävi und Melanome per Optomap-Bildern zu unterscheiden.

Unter Einbezug nur der Variablen „Abstand der Läsion zur Papille“, „Ansammlung subretinaler Flüssigkeit“, „vertikaler und horizontaler Durchmesser der Läsion“, „Graustufenwert der Läsion in der Darstellung der Autofluoreszenz“, also ohne Betrachtung der Bilder im Grünkanal, konnten wir mit einer Sensitivität von 90,6% und einer Spezifität von 75,8% zwischen Melanom und Nävus unterscheiden.

---

<sup>1</sup> Die Gesamtzahl der hier berücksichtigten Probanden beträgt nur  $n = 100$ , weil nicht alle Patienten auf allen Variablen bewertbar waren. Zum Beispiel konnte es sein, dass eine Läsion im Randbereich des Bildes lag und darum ihr vertikaler oder horizontaler Durchmesser nicht voll erfasst wurde.

Als deutlich beste Prädiktoren zur Unterscheidung von Nävi und Melanomen gehen die Variablen „Abstand der Läsion zur Papille“ und „Ansammlung subretinaler Flüssigkeit“ hervor.

## 5. Diskussion

Zur Diagnostik von Aderhauttumoren werden derzeit meist klinische Untersuchung, standardisierte Ultraschalldiagnostik, Netzhautfotografie und OCT herangezogen.

Shields *et al.* konnten zeigen, dass gewisse Charakteristika mit einem signifikant erhöhten Risiko für Wachstum und Transformation einhergehen. Hierzu zählen das Vorhandensein klinischer Symptome, von *orange pigment* oder subretinaler Flüssigkeit, die Lokalisation in direkter Nachbarschaft zur Papille, sowie eine Tumordicke über 2 mm<sup>39, 44</sup>. Etliche Studien weisen darauf hin, dass auch unterschiedliche Fundusautofluoreszenzmuster zur Differenzierung maligner und benigner Läsionen beitragen können<sup>10, 24, 43</sup>.

Mittels Ultraschall können mit hoher Messgenauigkeit Größe, Lage, Prominenz und Vorhandensein subretinaler Flüssigkeit ermittelt werden. Anhand der quantitativen Ergebnisse können auch kleine Änderungen in Größe und Prominenz im Verlauf erfasst werden. Zudem bietet die Ultraschalldiagnostik mit der Reflektivität (niedrig beim Melanom, hoch beim Nävus) ein durch andere Methoden nicht erfassbares Unterscheidungskriterium.

In dieser Studie diente die standardisierte A- und B-Scan-Sonographie als Referenzmethode. Als maligne definiert wurden Läsionen mit nachgewiesenem Wachstum bei wiederholten Ultraschallkontrolluntersuchungen. Läsionen die innerhalb der letzten zwei Jahre kein Wachstum gezeigt hatten und weder im Ultraschall noch in der klinischen Untersuchung Hinweise auf Malignität zeigten (beurteilt nach den oben beschriebenen Kriterien), galten als benigne. Auf Grundlage der skizzierten Kriterien war eine diagnostische Sicherheit bei der Differenzierung der Läsionen von nahezu 100% gewährleistet.

Ziel dieser Studie war nicht ein Vergleich der diagnostischen Wertigkeit der Weitwinkel-SLO mit den derzeit etablierten Verfahren, sondern die Bewertung der Validität der hierbei möglichen Differenzierung, sowie die Darstellung der Utilität und möglicher Vorteile der Scanning-Laser-Ophthalmoskopie in der Tumordiagnostik. Bedeutung hat in diesem Zusammenhang auch der Umstand, dass Ultraschalluntersuchungen mit einem hohen Zeitaufwand für Untersucher und Patienten verbunden sind, zudem von Patienten häufig als unangenehm empfunden werden. Insbesondere bei Screeninguntersuchungen und Verlaufskontrollen könnte die Compliance der Patienten darunter leiden. Um verlässliche Ergebnisse zu erhalten, sollte zudem ein in dieser Technik erfahrener Untersucher die Messungen durchführen und interpretieren. Die Voraussetzungen hierfür sind nicht überall gegeben.

Die standardisierte Fundusfotografie dient insbesondere der objektiven Dokumentation von Größe bzw. Größenzunahme einer Läsion. Auch das Vorhandensein von *orange pigment* kann hierbei beurteilt werden. Nachteilig ist der eingeschränkte Objektivwinkel. Lediglich ein begrenzter Abschnitt des Augenhintergrundes kann hiermit dargestellt werden, detailliert ca. 45-50°, maximal ca. 90-110°. Insbesondere peripher gelegene Tumoren lassen sich häufig nicht abbilden. Zudem ist im Gegensatz zur SLO die pharmakologische Weitstellung der Pupille notwendig, um qualitativ hochwertige Bilder zu erhalten <sup>29</sup>.

Die Optische Kohärenztomographie (OCT) dient bei der Diagnostik choroidaler Tumoren der Beurteilung intra- oder subretinaler Exsudationen. Sayanagi *et al.* <sup>32</sup> fanden mittels *3D spectral domain OCT* bei choroidalen Melanomen eine signifikant erhöhte Prävalenz subretinaler Flüssigkeit (91% versus 14%), retinaler Ödeme (61% versus 14%) und subretinaler Ablagerungen (61% versus 11%) <sup>32</sup>.

Der langsam wachsende Aderhautnävus geht hingegen eher mit chronisch-degenerativen intraretinalen Veränderungen, z.B. Drusen, einher <sup>13</sup>. Insbesondere bei kleinen choroidalen Tumoren mit einer Tumordicke unter 3 mm kann die OCT aufgrund der hohen diagnostischen Sensitivität in Bezug auf subretinale Veränderungen einen wichtigen Beitrag zur frühzeitigen Diagnosefindung leisten <sup>5, 25, 31</sup>. Limitierend ist jedoch die Schwierigkeit, bei großen Melanomen die darüber liegende Netzhaut abzubilden, sowie die fehlende Möglichkeit, mit den derzeit gebräuchlichen Lasern das retinale Pigmentepithel zu durchdringen und damit das Gewebe hinter der anterioren Oberfläche der Choroidea zu beurteilen <sup>7</sup>.

Nahezu allen eben erwähnten Methoden gemein ist ein oft erheblicher Zeitaufwand. Zudem ist regelhaft eine medikamentös induzierte Mydriasis notwendig, welche vom Patienten insbesondere durch die anschließende Unfähigkeit des Fahrzeugführens als einschränkend empfunden wird. Dies kann sich negativ auf die Patientencompliance auswirken. In Anbetracht der Häufigkeit (ca. 6-7%) <sup>53</sup> choroidaler Tumoren wären daher insbesondere für Screeninguntersuchungen einfache und schnelle diagnostische Modalitäten wie die Scanning-Laser-Ophthalmoskopie (SLO) eine Erleichterung, wenn in der Tat damit eine ausreichend gute Diskriminanz möglich ist.

In die Analyse eingeschlossen wurden die mit den oben beschriebenen Modalitäten detektierbaren Parameter „Abstand der Läsion zur Papille“, „Ansammlung subretinaler Flüssigkeit“, „vertikaler und horizontaler Durchmesser der Läsion“, „Helligkeit der Läsion im Grünkanal“ und „Graustufenwert der Läsion in der Darstellung der Autofluoreszenz“.

In einer vorangegangenen Studie von Kernt *et al.* <sup>18</sup>, durchgeführt an einer anderen ähnlich konstituierten Personengruppe und nur geringer Fallzahl, hatte sich ein statistisch signifikanter Zusammenhang zwischen heller Darstellung im Grünkanal und Malignität gezeigt. Dieses Ergebnis bestätigte sich in der hier präsentierten Studie nicht. Es lag zwar eine Häufung von hellen und gemischten Darstellungen beim Melanom vor, statistische Signifikanz konnte aber nicht nachgewiesen werden. Der Anteil dunkel dargestellter Läsionen war sowohl in der Gruppe der Melanome als auch in der Gruppe der Nävi gering.

Die quantitativen Fundusautofluoreszenzwerte unterschieden sich hingegen signifikant: Maligne Läsionen wiesen deutlich geringere FAF-Werte (Durchschnitt 14, *SD* 8) auf als benigne Nävi (Durchschnitt 22, *SD* 21). Frühere Studien von Shields *et al.* <sup>38</sup> und Gündüz *et al.* <sup>11</sup> hatten im Gegensatz hierzu eine Assoziation zwischen erhöhter FAF und Malignität gezeigt. Pathophysiologische Grundlage hierfür waren v.a. vermehrte Lipofuszinablagerung (*orange pigment*), aber auch Drusen und Hyperpigmentation im Bereich maligner Läsionen <sup>19, 38, 11</sup>.

In den Histogrammen der Abbildungen 17 und 18 deutete sich auch in dieser Auswertung eine kleine Fraktion mit erhöhter AF an, der Großteil der Melanome war jedoch hypoautofluoreszent. Ursache für die differenten Ergebnisse könnte z.B. der Einfluss einer therapeutischen Intervention auf das Gewebe sein. Die meisten der in dieser Studie eingeschlossenen Melanome waren bereits im Vorfeld strahlentherapeutisch mit Radiatio, Cyberknife oder Ruthenium-Plombe behandelt worden. Zudem wurden in den vorherigen Studien andere Wellenlängen als Exciter verwendet. Gündüz *et al.* <sup>11</sup> z.B. nutzten blaues Laserlicht der Wellenlänge 488 nm, während in dieser Studie grünes Licht der Wellenlänge 532 nm verwendet wurde. Diesbezüglich sind weitere Studien mit größerer Patientenzahl, einheitlicher Exciterwellenlänge und evtl. Korrelation der FAF zu verschiedenen Therapiemethoden bzw. nichttherapierten Melanomen notwendig.

Wie Shields *et al.* <sup>39</sup> bereits beschrieben, waren auch bei Befunderhebung mittels SLO eine Lokalisation in unmittelbarer Nähe der Papille ( $p < 0,001$ ), das Vorhandensein subretinaler Flüssigkeit ( $p < 0,001$ ) sowie die Größe der Läsion (T:  $p < 0,004$ ; L:  $p < 0,002$ ) statistisch signifikant mit Malignität assoziiert.

Während Sensitivität und Spezifität anderer Untersuchungsmethoden, z.B. des Ultraschalls, z.T. höher sein können, liegt der Vorteil der Weitwinkel-SLO insbesondere in der schnellen und für den Patienten angenehmen Art der Untersuchung. Zudem ist die Interpretation der Ergebnisse anhand festgelegter Kriterien nicht untersucherabhängig und bietet durch einfachen Online-Transfer der Bilder die Möglichkeit des Telescreenings. Eine diagnostische

Wertigkeit der unterschiedlichen Darstellung in Grün- und Rotkanal konnte allerdings in der hier vorgelegten Studie nicht bestätigt werden.

Ein wichtiger limitierender Faktor dieser Untersuchung ist insbesondere die große Anzahl vorbehandelter Melanome. Lediglich 12 der 101 in der Studie eingeschlossenen Melanome wurden zum Zeitpunkt der Untersuchung erstdiagnostiziert. Die übrigen malignen Tumoren waren bereits vorher einer Therapie (zum Großteil Strahlentherapie) unterzogen worden. Dies könnte insbesondere das Autofluoreszenzmuster der Läsion verändert haben. Weitere Studien mit einer größeren Anzahl unbehandelter Tumoren wären notwendig, um eine genauere Aussage über die autofluoreszenten Eigenschaften von Aderhautmelanomen treffen zu können.

## 6. Zusammenfassung

Das Aderhautmelanom ist der häufigste primär maligne Tumor des Augenhintergrundes. Die diagnostische Abgrenzung zum benignen Aderhautnävus fällt trotz einiger etablierter Methoden insbesondere bei kleinen Tumoren oft schwer. In dieser Arbeit wurde deshalb die kürzlich entwickelte Weitwinkel-Scanning- Laser-Ophthalmoskopie mittels Optomap p200caf auf ihre diagnostischen Eigenschaften bei choroidalen Tumoren evaluiert. Hierfür wurde der Augenhintergrund von 139 Patienten mit klinisch diagnostizierten benignen oder malignen Aderhauttumoren untersucht: Es wurden Scans mit zwei verschiedenen Frequenzen realisiert (rotes und grünes Licht) und außerdem Autofluoreszenzbilder erstellt. Eine Diagnose und Differenzierung in Nävi und Melanome, basierend auf diesen Bildern, wurde mit dem Ergebnis einer standardisierten Ultraschalluntersuchung verglichen. Sie diente als Diagnostik-Referenz. Es konnte von einer nahezu 100%igen Diagnosesicherheit des Referenzstandards ausgegangen werden.

Es zeigte sich, dass mittels Optomap Panoramic 200caf innerhalb kurzer Zeit auch peripher gelegene Tumoren gut beurteilt werden konnten. Als beste Prädiktoren zur Unterscheidung von Nävi und Melanomen erwiesen sich die Variablen „Abstand der Läsion zur Papille“ und „Ansammlung subretinaler Flüssigkeit“. Zusammen mit drei weiteren Variablen – „vertikaler und horizontaler Durchmesser der Läsion“, „Helligkeit der Läsion im Grünkanal“, „Graustufenwert der Läsion in der Darstellung der Autofluoreszenz“ – ließ sich ein insgesamt sehr gutes Diskriminationsvermögen der angewendeten Diagnosetechnik nachweisen.

Die Darstellung im Grünkanal der SLO-Untersuchung, wie auch die mit diesem Gerät mögliche *In-vivo*-Fundusautofluoreszenzdarstellung, lieferten nur einen geringen diagnostischen Beitrag. Die Fundusautofluoreszenz könnte dennoch ein relevantes Kriterium sein, welches in Zukunft bei der diagnostischen Differenzierung choroidaler Tumoren unterstützend eingesetzt werden kann. Dazu müssten weitere Studien erfolgen, um insbesondere den Einfluss therapeutischer Maßnahmen auf die AF, bzw. die charakteristischen Autofluoreszenzmuster nichttherapierter Melanome besser zu verstehen. Auch die Wertigkeit der unterschiedlichen Darstellungen im Rot- und Grünkanal müsste noch eingehender eruiert werden.

Da diese Arbeit Neuland betritt und Technologien verwendet, die zuvor nicht verfügbar waren, ist die Replizierung der Studie wünschenswert, möglicherweise mit leicht veränderter Wahl der Variablen, um die diagnostische Güte dadurch noch weiter zu steigern.

Die Nützlichkeit für schnelle, nichtinvasive Diagnosen hat die Optomap-200-Untersuchung in dieser Studie unter Beweis gestellt. Sie bietet sich insbesondere für Verlaufskontrolluntersuchungen an.



# Literaturverzeichnis

- [1] Amselem, L., Pulido, J. S., Gündüz, K., Bakri, S. J., Diaz-Llopis, M., Dolan, J. W., Morgan, K., De Souza, S., Link, T., Rosvold, J. (2009). Changes in fundus autofluorescence of choroidal melanomas following treatment. *Eye (London, UK)* 23 (2), 428-34.
- [3] Butler, P., Char, D. H., Zarbin, M., Kroll, S. (1994). Natural history of indeterminate pigmented choroidal tumors. *Ophthalmology* 101 (4), 710-6.
- [4] Delori, F. C., Fleckner, M. R., Goger, D. G., Weiter, J. J., Dorey, C. K. (2000). Autofluorescence distribution associated with drusen in age-related macular degeneration. *Investigative Ophthalmology & Visual Science* 41 (2), 496-504.
- [5] Delori, F. C., Staurengi, G., Arend, O., Dorey, C. K., Goger, D. G., Weiter, J. J. (1995). In vivo measurement of lipofuscin in Stargardt's disease-Fundus flavimaculatus. *Investigative Ophthalmology & Visual Science* 36 (11), 2327-31.
- [7] Espinoza, G., Rosenblatt, B., Harbour, J. W. (2004). Optical coherence tomography in the evaluation of retinal changes associated with suspicious choroidal melanocytic tumors. *American Journal of Ophthalmology* 137 (1), 90-5.
- [9] Grehn, F. (2008). *Augenheilkunde*, 30. Auflage. Berlin, Heidelberg: Springer-Verlag. Seite 197-198.
- [10] Gündüz, K., Pulido, J. S., Bakri, S. J., Petit-Fond, E. (2007). Fundus autofluorescence in choroidal melanocytic lesions. *Retina* 27 (6), 681-7.
- [11] Gündüz, K., Pulido, J. S., Ezzat, K., Salomao, D., Hann, C. (2009). Review of fundus autofluorescence in choroidal melanocytic lesions. *Eye (London, UK)* 23 (3), 497-503.
- [12] Hammer, M., Königsdörffer, E., Liebermann, C., Framme, C., Schuch, G., Schweitzer, D., Strobel, J. (2008). Ocular fundus auto-fluorescence observations at different wavelengths in patients with age-related macular degeneration and diabetic retinopathy. *Graefe's Archive for Clinical and Experimental Ophthalmology* 246 (1), 105-14.
- [13] Heimann, H., Kellner, U. (2010). *Atlas des Augenhintergrundes: Angiografie, OCT, Autofluoreszenz und Ultraschall*. Stuttgart: Thieme Verlag. Seite 100.
- [14] Holz, F. G., Schmitz-Valckenberg, S., Spaide, R. F., Bird, A. C. (Hrsg.) (2007). *Atlas of fundus autofluorescence imaging*. Berlin: Springer-Verlag.
- [15] Holz, F. G., Schütt, F., Kopitz, J., Eldred, G. E., Kruse, F. E., Völcker, H. E., Cantz, M. (1999). Inhibition of lysosomal degradative functions in RPE cells by a retinoid component of lipofuscin. *Investigative Ophthalmology & Visual Science* 40 (3), 737-43.
- [16] Holzfurtner, A. (2005). *Klinische und sonographische Charakteristika von kleinen choroidalen melanozytären Tumoren und ihre prognostische Bedeutung für die Zeit bis zum Wachstum*. Dissertationsschrift LMU München: Medizinische Fakultät. Seite 5-8.
- [17] Keilhauer, C. N., Delori, F. C. (2006). Near-infrared autofluorescence imaging of the fundus: Visualization of ocular melanin. *Investigative Ophthalmology & Visual Science* 47 (8), 3556-64.
- [18] Kernt, M., Schaller, U. C., Stumpf, C., Ulbig, M. W., Kampik, A., Neubauer, A.S. (2010). Choroidal pigmented lesions imaged by ultra-wide-field scanning laser ophthalmoscopy with two laser wavelengths (Optomap). *Clinical Ophthalmology* 4, 829-36.

- [19] Lavinsky, D., Belfort, R. N., Navajas, E., Torres, V., Martins, M. C., Belfort, R. Jr. (2007). Fundus autofluorescence of choroidal nevus and melanoma. *The British Journal of Ophthalmology* 91 (10), 1299-302.
- [21] Lois, N., Halfyard, A. S., Bunce, C., Bird, A. C., Fitzke, F. W. (1999). Reproducibility of fundus autofluorescence measurements obtained using a confocal scanning laser ophthalmoscope. *The British Journal of Ophthalmology* 83 (3), 276-9.
- [22] Margo, C. E. (2004). The collaborative ocular melanoma study: An overview. *Cancer Control* 11 (5), 304-9.
- [23] Marmorstein, A. D., Marmorstein, L. Y., Sakaguchi, H., Hollyfield, J. G. (2002). Spectral profiling of autofluorescence associated with lipofuscin, Bruch's Membrane, and sub-RPE deposits in normal and AMD eyes. *Investigative Ophthalmology & Visual Science* 43 (7), 2435-41.
- [20] Materin, M. A., Raducu, R., Bianciotto, C., Shields, C. L. (2010). Fundus autofluorescence and optical coherence tomography findings in choroidal melanocytic lesions. *Middle East African Journal of Ophthalmology* 17 (3), 201-6.
- [21] Muscat, S., Parks, S., Kemp, E., Keating, D. (2004). Secondary retinal changes associated with choroidal nevi and melanomas documented by optical coherence tomography. *The British Journal of Ophthalmology* 88 (1), 120-4.
- [22] Shields, C. L., Furuta, M., Berman, E. L., Zahler, J. D., Hoberman, D. M., Dinh, D. H., Mashayekhi, A., Shields, J. A. (2009). Choroidal nevus transformation into melanoma: Analysis of 2514 consecutive cases. *Archives of Ophthalmology* 127 (8), 981-7.
- [23] Rudnicka, A. R., Burk, R. O. W., Edgar, D. F., Fitzke, F. W. (1998). Magnification characteristics of fundus imaging systems. *Ophthalmology* 105 (12), 2186-92.
- [6] DiBernardo, C. W., Greenberg, E. F. (2007). *Ophthalmic ultrasound: A diagnostic atlas*, 2<sup>nd</sup> edition. New York: Thieme Medical Publishers.
- [8] Garway-Heath, D. F., Rudnicka, A. R., Lowe, T., Foster, P. J., Fitzke, F. W., Hitchings, R. A. (1998). Measurement of optic disc size: Equivalence of methods to correct for ocular magnification. *The British Journal of Ophthalmology* 82, 643-9.
- [2] Bille, J., Schlegel, W. (Hrsg.) (2005). *Medizinische Physik 3: Medizinische Laserphysik*. Berlin, Heidelberg: Springer-Verlag. Seite 328.
- [20] Littmann, H. (1982). Zur Bestimmung der wahren Größe eines Objektes auf dem Hintergrund des lebenden Auges. *Klinische Monatsblätter für Augenheilkunde* 180, 286-9.
- [28] Ossoinig, K. C., Bigar, F., Kaefring, S. L. (1975). Malignant melanoma of the choroid and ciliary body. A differential diagnosis in clinical echography. *Bibliotheca Ophthalmologica* 83, 141-54.
- [29] Patzelt, J. (2009). *Augenheilkunde: Basics*. München: Urban & Fischer Verlag. Seite 74.
- [30] Polednak, A. P., Flannery, J.T. (1995). Brain, other central nervous system, and eye cancer. *Cancer* 75, 330-7.
- [31] Reim, M., Kirchhof, B., Wolf, S. (2004). *Diagnosen am Augenhintergrund: Vom Befund zur Diagnose*. Stuttgart: Thieme Verlag. Seite 8.
- [32] Say, E. A., Shah, S. U., Ferenczy, S., Shields, C. L. (2011). Optical coherence tomography of retinal and choroidal tumors. *Journal of Ophthalmology* 2011, 385058.

- [33] Sayanagi, K., Pelayes, D. E., Kaiser, P. K., Singh, A. D. (2011). 3D Spectral domain optical coherence tomography findings in choroidal tumors. *European Journal of Ophthalmology* 21 (3), 271-5.
- [34] Schmitz-Valckenberg, S., Bültmann, S., Dreyhaupt, J., Bindewald, A., Holz, F. G., Rohrschneider K. (2004). Fundus autofluorescence and fundus perimetry in the junctional zone of geographic atrophy in patients with age-related macular degeneration. *Investigative Ophthalmology & Visual Science* 45 (12), 4470-6.
- [35] Schmitz-Valckenberg, S., Fleckenstein, M., Scholl, H. P., Holz, F. G. (2009). Fundus autofluorescence and progression of age-related macular degeneration. *Survey of Ophthalmology* 54 (1), 96-117.
- [36] Schütt, F., Davies, S., Kopitz, J., Holz, F. G., Boulton, M. E. (2000). Photodamage to human RPE cells by A2-E, a retinoid component of lipofuscin. *Investigative Ophthalmology & Visual Science* 41 (8), 2303-8.
- [37] Seidensticker, F., Neubauer, A. S., Wasfy, T., Stumpf, C., Thureau, S. R., Kampik, A., Kernt, M. (2011). Wide-field fundus autofluorescence corresponds to visual fields in chorioretinitis patients. *Clinical Ophthalmology* (Auckland, NZ) 5, 1667-71.
- [38] Shields, C. L., Bianciotto, C., Pirondini, C., Materin, M. A., Harmon, S. A., Shields, J. A. (2007). Autofluorescence of orange pigment overlying small choroidal melanoma. *Retina* 27 (8), 1107-11.
- [39] Shields, C. L., Bianciotto, C., Pirondini, C., Materin, M. A., Harmon, S. A., Shields, J. A. (2008). Autofluorescence of choroidal melanoma in 51 cases. *The British Journal of Ophthalmology* 92 (5), 617-22.
- [40] Shields, C. L., Cater, J., Shields, J. A., Singh, A. D., Santos, M. C., Carvalho, C. (2000). Combination of clinical factors predictive of growth of small choroidal melanocytic tumors. *Archives of Ophthalmology* 118 (3), 360-4.
- [41] Shields, C. L., Demirci, H., Materin, M. A., Marr, B.P., Mashayekhi, A., Shields, J. A. (2004). Clinical factors in the identification of small choroidal melanoma. *Canadian Journal of Ophthalmology* 39 (4), 351-7.
- [42] Shields, C. L., Furuta, M., Berman, E. L., Zahler, J. D., Hoberman, D. M., Dinh, D. H., Mashayekhi, A., Shields, J. A. (2009). Choroidal nevus transformation into melanoma. *Archives of Ophthalmology* 127 (8), 981-7.
- [43] Shields, C. L., Pirondini, C., Bianciotto, C., Materin, M. A., Harmon, S. A., Shields, J. A. (2008). Autofluorescence of choroidal nevus in 64 cases. *Retina* 28 (8), 1035-43.
- [44] Shields, C. L., Shields, J. A. (2002). Clinical features of small choroidal melanoma. *Current Opinion in Ophthalmology* 13 (3), 135-41.
- [45] Shields, C. L., Shields, J. A., Kiratli, H., De Potter, P., Cater, J. R. (1995). Risk factors for growth and metastasis of small choroidal melanocytic lesions. *Ophthalmology* 102 (9), 1351-61.
- [46] Smith, R. T., Chan, J. K., Busuic, M., Sivagnanavel, V., Bird, A. C., Chong, N. V. (2006). Autofluorescence characteristics of early, atrophic, and high-risk fellow eyes in age-related macular degeneration. *Investigative Ophthalmology & Visual Science* 47 (12), 5495-504.
- [47] Sparrow, J. R., Boulton, M. (2005). RPE lipofuscin and its role in retinal pathobiology. *Experimental Eye Research* 80 (5), 595-606.

- [48] Sparrow, J. R., Cai, B., Fishkin, N., Jang, Y. P., Krane, S., Vollmer, H. R., Zhou, J., Nakanishi, K. (2003). A2E, a fluorophore of RPE lipofuscin: Can it cause RPE degeneration? *Advances in Experimental Medicine and Biology* 533, 205-11.
- [49] Sparrow, J. R., Fishkin, N., Zhou, J., Cai, B., Jang, Y. P., Krane, S., Itagaki, Y., Nakanishi, K. (2003). A2E, a byproduct of the visual cycle. *Vision Research* 43 (28), 2983-90.
- [50] Sparrow, J. R., Nakanishi, K., Parish, C. A. (2000). The lipofuscin fluorophore A2E mediates blue light-induced damage to retinal pigmented epithelial cells. *Investigative Ophthalmology & Visual Science* 41 (7), 1981-9.
- [51] Sparrow, J. R., Zhou, J., Ben-Shabat, S., Vollmer, H., Itagaki, Y., Nakanishi, K. (2002). Involvement of oxidative mechanisms in blue-light-induced damage to A2E-laden RPE. *Investigative Ophthalmology & Visual Science* 43 (4), 1222-7.
- [52] Sparrow, J. R., Zhou, J., Cai, B. (2003). DNA is a target of the photodynamic effects elicited in A2E-laden RPE by blue-light illumination. *Investigative Ophthalmology & Visual Science* 44 (5), 2245-51.
- [53] Sumich, P., Mitchell, P., Wang, J. J. (1998). Choroidal nevi in a white population: The Blue Mountains eye study. *Archives of Ophthalmology* 116 (5), 645-50.
- [54] Terman, A., Brunk, U. T. (2006). Oxidative stress, accumulation of biological 'garbage', and aging. *Antioxidants & Redox Signaling* 8 (1-2), 197-204.
- [55] Tibutius, T. I. (2002). *Die bulbuserhaltende Therapie des Aderhautmelanoms*. Dissertationsschrift Universität Essen: Medizinische Fakultät.
- [56] Wade, A., Fitzke, F. (1998). A fast, robust pattern recognition system for low light level image registration and its application to retinal imaging. *Optics Express* 3 (5), 190-7.
- [57] Wing, G. L., Blanchard, G. C., Weiter, J. J. (1978). The topography and age relationship of lipofuscin concentration in the retinal pigment epithelium. *Investigative Ophthalmology & Visual Science* 17 (7), 601-7.
- [58] Wolf-Schnurrbusch, U. E., Wittwer, V. V., Ghanem, R., Niederhaeuser, M., Enzmann, V., Framme, C., Wolf, S. (2011). Blue-light versus green-light autofluorescence: Lesion size of areas of geographic atrophy. *Investigative Ophthalmology & Visual Science* 52 (13), 9497-502.
- [59] Yin, D.. (1996). Biochemical basis of lipofuscin, ceroid, and age pigment-like fluorophores. *Free Radical Biology & Medicine* 21 (6), 871-88.

## Eidesstattliche Versicherung

### **Stumpf, Carmen**

Name, Vorname

Ich erkläre hiermit an Eides statt,  
dass ich die vorliegende Dissertation mit dem Thema

*Vergleichende Evaluation eines Weitwinkel Scanning-Laser-Verfahrens (Optomap) zur  
Darstellung pigmentierter Tumoren der Choroidea.*

selbständig verfasst, mich außer der angegebenen keiner weiteren Hilfsmittel bedient und  
alle Erkenntnisse, die aus dem Schrifttum ganz oder annähernd übernommen sind, als  
solche kenntlich gemacht und nach ihrer Herkunft unter Bezeichnung der Fundstelle  
einzeln nachgewiesen habe.

Ich erkläre des Weiteren, dass die hier vorgelegte Dissertation nicht in gleicher oder in  
ähnlicher Form bei einer anderen Stelle zur Erlangung eines akademischen Grades  
eingereicht wurde.

Fischbachau, 29.07.2014

Ort, Datum

UnterschriftDoktorandin/Doktorand

# Danksagung

Ganz besonders herzlich bedanke ich mich bei Herrn Prof. Dr. med. Kampik, der mir die Möglichkeit gegeben hat, mich mit der neuen Technologie der Optomap-SLO auseinanderzusetzen.

Großer Dank gebührt außerdem Aljoscha Neubauer, Markus Kernt und Florian Seidensticker für die stete Hilfe, Betreuung und Unterstützung.

Zuletzt möchte ich Edeltraud und Oskar Stumpf für bedingungslose Liebe und fraglose Unterstützung, sowie Christian Ulfert für langjährige Freundschaft, kritischen Rat und Tadel danken.