

**Progression und Symmetrie der geographischen Atrophie bei altersabhängiger  
Makuladegeneration – Untersuchungen mittels digitaler cSLO -  
Fundusautofluoreszenz**

Inaugural-Dissertation  
zur Erlangung des Doktorgrades  
der Hohen Medizinischen Fakultät  
der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität  
Bonn

Arno Philipp Göbel  
aus Köln

2010

Angefertigt mit Genehmigung der  
Medizinischen Fakultät der Universität Bonn

1. Gutachter: Herr Prof. Dr. med. F.G. Holz
2. Gutachter: Frau Priv.-Doz. Dr. med. Cornelia Kornblum

Tag der Mündlichen Prüfung: 6. September 2010

Aus der Universitäts-Augenklinik Bonn  
Direktor Herr Prof. Dr. med. F.G. Holz

# Inhaltsverzeichnis

|   |           |
|---|-----------|
| <b>Abkürzungen .....</b>  | <b>5</b>  |
| <b>1 Einleitung.....</b>  | <b>7</b>  |
| 1.1 Anatomie, Physiologie und altersabhängige Veränderungen der<br>äußeren Netzhaut ..... | 9         |
| 1.1.1 Die Photorezeptoren .....   | 9         |
| 1.1.2 Das retinale Pigmentepithel .....   | 11        |
| 1.1.3 Die Bruch'sche Membran.....   | 13        |
| 1.1.4 Die Aderhaut .....  | 14        |
| 1.2 Altersabhängige Makuladegeneration .....  | 15        |
| 1.2.1 Epidemiologie.....  | 15        |
| 1.2.2 Risikofaktoren .....  | 17        |
| 1.2.3 Klassifikation und klinische Manifestationsformen .....                             | 19        |
| 1.2.4 Therapie .....  | 20        |
| 1.3 Rolle des retinalen Pigmentepithels .....   | 22        |
| 1.3.1 Pathogenetische Faktoren .....  | 22        |
| 1.3.2 Fundusautofluoreszenz-Imaging .....   | 23        |
| 1.4 Geographische Atrophie des retinalen Pigmentepithels.....                             | 25        |
| 1.4.1 Pathogenese .....   | 25        |
| 1.4.2 Klinische Manifestation .....   | 27        |
| 1.4.3 Natürlicher Verlauf .....   | 28        |
| 1.4.4 Bildgebende Verfahren .....   | 30        |
| 1.5 Fragestellung .....   | 33        |
| <b>2 Patienten und Methoden .....</b>   | <b>34</b> |
| 2.1 Patienten .....   | 34        |
| 2.2 Optisches Prinzip der konfokalen Scanning-Laser-Ophthalmoskopie .....                 | 35        |
| 2.3 Topographische Detektion der Fundusautofluoreszenz.....                               | 36        |
| 2.3.1 Heidelberg Retina Angiograph.....   | 36        |
| 2.3.2 Heidelberg Eye Explorer .....   | 38        |
| 2.3.3 Durchführung des Fundusautofluoreszenz-Imaging.....                                 | 39        |
| 2.4 Auswertung der Fundusautofluoreszenzaufnahmen .....                                   | 40        |
| 2.4.1 Export der Bilddateien.....   | 40        |
| 2.4.2 Bewertung der Qualität .....  | 40        |
| 2.4.3 Alignierung .....   | 41        |
| 2.4.4 Detektion und Quantifikation von Atrophieflächen.....                               | 44        |

|          |  |            |
|----------|--|------------|
| 2.4.5    | Klassifikation von Autofluoreszenzmustern im Randbereich<br>der geographischen Atrophie..... | 47         |
| 2.5      | Statistische Auswertung.....   | 50         |
| 2.5.1    | Progressionsraten.....   | 50         |
| 2.5.2    | Symmetrie.....   | 51         |
| 2.5.3    | Risikofaktoren.....  | 52         |
| <b>3</b> | <b>Ergebnisse.....</b>   | <b>55</b>  |
| 3.1      | Qualität der Fundusautofluoreszenzaufnahmen.....   | 55         |
| 3.2      | Progressionsraten.....   | 59         |
| 3.3      | Fundusautofluoreszenzmuster.....   | 59         |
| 3.4      | Symmetrie.....   | 62         |
| 3.4.1    | Symmetrie der Atrophiegröße.....   | 63         |
| 3.4.2    | Symmetrie der Progressionsrate.....  | 64         |
| 3.4.3    | Symmetrie der Sehschärfe.....  | 66         |
| 3.4.4    | Symmetrie der Fundusautofluoreszenzmuster.....   | 67         |
| 3.5      | Risikofaktoren.....  | 69         |
| 3.5.1    | Uni- oder bilaterale Manifestation.....  | 69         |
| 3.5.2    | Atrophiegröße.....   | 71         |
| 3.5.3    | Anzahl der Atrophieareale.....   | 74         |
| 3.5.4    | Fundusautofluoreszenzmuster.....   | 75         |
| <b>4</b> | <b>Diskussion.....</b>   | <b>77</b>  |
| 4.1      | Erfassung der Fundusautofluoreszenz.....   | 77         |
| 4.2      | Qualität der Fundusautofluoreszenzaufnahmen.....   | 79         |
| 4.3      | Alignierung.....   | 80         |
| 4.4      | Detektion und Quantifikation von Atrophieflächen.....  | 82         |
| 4.5      | Progressionsrate.....  | 85         |
| 4.6      | Fundusautofluoreszenzmuster.....   | 88         |
| 4.7      | Symmetrie.....   | 91         |
| 4.8      | Risikofaktoren.....  | 93         |
| 4.9      | Therapieansätze und Ausblick.....  | 96         |
| 4.10     | Schlussfolgerungen.....  | 99         |
| <b>5</b> | <b>Zusammenfassung.....</b>  | <b>102</b> |
| <b>6</b> | <b>Literaturverzeichnis.....</b>   | <b>104</b> |
| <b>7</b> | <b>Danksagung.....</b>   | <b>122</b> |

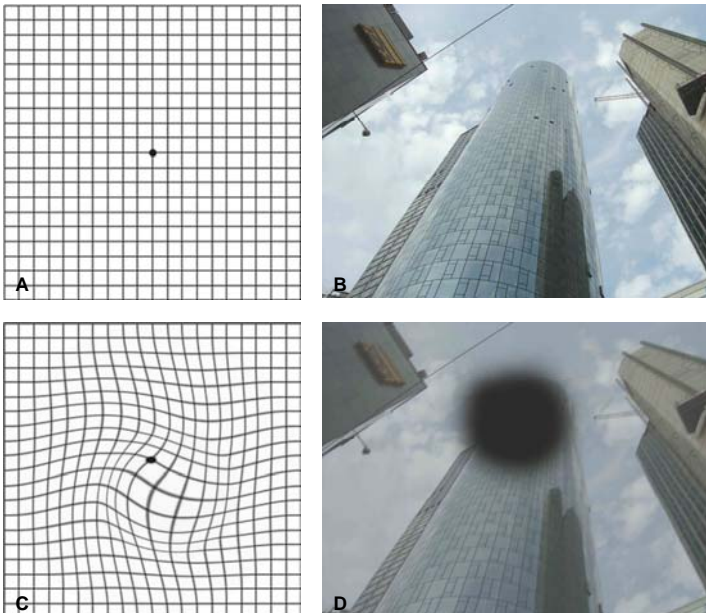
## Abkürzungen

|        |   |
|--------|---|
| A2-E   | N-Retinylden-N-Retinyl-Äthanolamin                            |
| AMD    | Altersabhängige Makuladegeneration                            |
| AREDS  | Age-related Eye Disease Study                                 |
| BCVA   | Best-corrected visual acuity                                  |
| Blob   | Binary large object   |
| Bmp    | Bitmap-Dateiformat  |
| CCC    | Concordance Correlation Coefficient                           |
| CFH    | Komplementfaktor H  |
| CNTF   | Ciliary Neurotrophic Factor                                   |
| CNV    | Chorioidale Neovaskularisation                                |
| cSLO   | Konfokales Scanning-Laser-Ophthalmoskop                       |
| DA     | Disc area (Fläche des Sehnervenkopfes) = 2,54 mm <sup>2</sup> |
| ECT    | Encapsulated cell technology                                  |
| ETDRS  | Early Treatment Diabetic Retinopathy Study                    |
| FAF    | Fundusautofluoreszenz   |
| FAM    | Fundus Autofluorescence in Age-related Macular Degeneration   |
| GA     | Geographische Atrophie  |
| HEE    | Heidelberg Eye Explorer                                       |
| HRA    | Heidelberg Retina Angiograph                                  |
| KI     | Konfidenzintervall  |
| logMAR | Logarithm of the minimum angle of resolution                  |
| LUE    | Lichtunterschiedsempfindlichkeit                              |

|                |  |
|----------------|--|
| mRNA           | Messenger-RNA                          |
| NF- $\kappa$ B | Protein complex nuclear factor-kappa B |
| Nm             | Nanometer                              |
| OCT            | Optische Kohärenztomographie           |
| PDT            | Photodynamische Therapie               |
| PEDF           | Pigment Epithelial Derived Factor      |
| ROI            | Region of Interest                     |
| RPE            | Retinales Pigmentepithel               |
| siRNA          | Small-interfering-RNA                  |
| SOP            | Standard Operation Procedure           |
| TLR3           | Toll-like receptor 3                   |
| VEGF           | Vascular Endothelial Growth Factor     |
| VSH            | Vergrößernde Sehhilfen                 |

## 1 Einleitung

Die altersabhängige Makuladegeneration (AMD) ist heute die häufigste Ursache für den Verlust des zentralen Sehens in allen Industrienationen (Holz et al. 2004a; Holz et al. 2007; Jager et al. 2008; Schmitz-Valckenberg et al. 2009). Weltweit sind über 30 Millionen und allein in Deutschland nach Schätzungen der AMD Alliance International etwa 4,5 Millionen Patienten betroffen (Holz et al. 2006). Mehr als die Hälfte aller über 65jährigen Menschen in Europa weisen am Fundus pathologische oder einer beginnenden AMD zumindest verdächtige Befunde auf (Augood et al. 2006). Epidemiologische Studien weisen auf den exponentiellen Anstieg von Prävalenz und Inzidenz jenseits des 50. Lebensjahres hin, wobei angesichts der demographischen Entwicklung mit einer weiteren deutlichen Zunahme der Zahl Betroffener zu rechnen ist (Klein et al. 2007).



**Abbildung 1** Visuelle Beeinträchtigungen bei altersabhängiger Makuladegeneration (C und D) im Vergleich zu normaler Sehfunktion (A und B). Ein frühes Symptom stellt das „Verzerrtsehen“ dar. Die Linien im Amsler-Gitter werden als wellenförmig und verbogen wahrgenommen (C). Später kann ein zentraler Gesichtsfeldausfall vorliegen (D).

Bei der AMD handelt es sich um eine multifaktorielle, komplexe, progrediente Erkrankung des zentralen Netzhaut-/Pigmentepithel-/Aderhaut-Komplexes, bei der sowohl genetische Determinanten als auch Umweltfaktoren eine Rolle spielen (Ambati et al. 2003; Scholl et al. 2007). Die Sehstörung beginnt oft damit, dass die Patienten gerade Linien als verzerrt und gebogen wahrnehmen, während später im Verlauf zentrale Gesichtsfeldausfälle hinzutreten können, die z.B. das Erkennen von Gesichtern unmöglich machen (Abbildung 1). Auch andere alltägliche Sehleistungen wie Lesen, Autofahren oder Fernsehen können erheblich beeinträchtigt werden. Zur vollständigen Erblindung führt die Erkrankung in aller Regel nicht, da periphere Netzhautbereiche nicht betroffen werden. Dennoch kann gerade in der heutigen visuell orientierten Welt ein Verlust der selbstständigen Lebensführung resultieren, wodurch die Lebensqualität gravierend eingeschränkt wird (Finger et al. 2007; Holz et al. 2006; Margaritidis 1998). Bei visueller Beeinträchtigung bestehen auch häufig depressive Begleiterkrankungen (Brody et al. 2001; Slakter und Stur 2005). Auch aufgrund der soziokulturellen Bedeutung des Sehens sind die Auswirkungen dieser Entwicklung bei einer stetig alternden Bevölkerung von enormer Bedeutung und werden zu einer weiter steigenden Belastung der Gesundheitssysteme und der Gesellschaft mit erheblichen Folgekosten führen (Finger et al. 2007; Schrader 2006).

Für schweren Sehverlust bei AMD ist in ca. 80% der Fälle die neovaskuläre (exsudative) Spätform verantwortlich (Ferris et al. 1984), nach deren pathophysiologischen Mechanismen in jüngster Zeit intensiv mit dem Ergebnis wirksamer therapeutischer Ansätze geforscht worden ist. Für die trockene Spätform, die sog. „geographische Atrophie“ (GA) des retinalen Pigmentepithels (RPE), welche ca. 20% des durch AMD verursachten schweren Sehverlusts bedingt, ist hingegen bislang noch keine gesicherte Therapie verfügbar (Schmitz-Valckenberg et al. 2009). Die genauen pathophysiologischen Mechanismen der trockenen Spätform sind bisher noch unvollständig aufgeklärt. Einen relevanten pathogenetischen Faktor stellt offensichtlich die exzessive Akkumulation von Lipofuszingranula im postmitotischen RPE dar, welche sowohl im Alter als auch bei weiteren Netzhauterkrankungen beobachtet wird. Mit der Entwicklung der konfokalen Scanning-Laser-Ophthalmoskopie (cSLO) ist die Erfassung der topographischen Verteilung von Lipofuszin am Augenhintergrund auf Grundlage seiner autofluoreszenten Eigenschaften möglich geworden (Bellmann et al. 1997; Holz



2001; von Rückmann et al. 1995). Aufnahmen, die dieses Phänomen der Fundusautofluoreszenz (FAF) abbilden, dienen in der vorliegenden Arbeit als Grundlage der Auswertungen.

Im Laufe der Entwicklung der GA bleibt die Fovea häufig längere Zeit ausgespart, während die Atrophie kontinuierlich an Größe zunimmt. Insbesondere bei noch nicht betroffenem fovealen Bereich kann die alleinige Berücksichtigung der Sehschärfe zu einer Unterschätzung der visuellen Beeinträchtigung führen. Die Größe der Atrophie ist ein wesentlicher Faktor bei komplexeren Sehaufgaben wie Lesen (Sunness et al. 1996; Sunness et al. 2006). Ihre Zunahme mit der Zeit kann als Maß für die Krankheitsprogression angesehen werden.

Die vorliegende Arbeit hat zum Ziel, die Methode zur Erfassung der Größenveränderung von Atrophiearealen weiterzuentwickeln, die Symmetrie verschiedener Krankheitscharakteristika bei bilateraler GA zu analysieren sowie den Einfluss potenzieller Risikofaktoren auf die Krankheitsprogression zu bestimmen.

## **1.1 Anatomie, Physiologie und altersabhängige Veränderungen der äußeren Netzhaut**

### **1.1.1 Die Photorezeptoren**

Die Netzhaut enthält in ihrer äußersten Schicht zur Aderhaut hin ungefähr 120 Millionen Stäbchen-Photorezeptoren und ungefähr 6 Millionen Zapfen-Photorezeptoren. Während in der zentralen Netzhaut vorwiegend Zapfen vorhanden sind, die das Tag- und Farbsehen gewährleisten, finden sich die für das Dämmerungs- und Nachtsehen verantwortlichen Stäbchen hauptsächlich in der Peripherie. Die Foveola bildet den zentralen Anteil der Macula lutea (Makula) und hat einen Durchmesser von ca. 0,2 mm. Sie enthält ausschließlich Zapfen-Photorezeptoren. Die Macula lutea befindet sich mit einem Durchmesser von ca. 5,5 mm temporal der Sehnerv-Papille am hinteren Augenpol und kann in der Funduskopie als querovaler „gelber Fleck“, dessen Farbe durch die Anreicherung von Lutein und Zeaxanthin erklärt wird, von der übrigen Netzhaut abgegrenzt werden (Funk et al. 1997; Spalton und Marshall 1996; Whitehead et al. 2006). Die Außensegmente der Photorezeptoren enthalten zahlreiche,

spezialisierte Membranscheibchen, die alle für den Phototransduktionsprozess wichtigen Komponenten beinhalten (Holz et al. 2004b). Nach lichtinduzierter Erregung von Stäbchen oder Zapfen werden Signale über bipolare Zellen, Horizontalzellen und amakrine Zellen an die Ganglienzellen weitergegeben. Über die Axone der Ganglienzellen, die den Nervus opticus bilden, gelangen die Signale schließlich in den Cortex cerebri. Während in der Netzhautperipherie viele Rezeptoren auf eine Ganglienzelle konvergieren, ist jeder foveale Zapfen mit nur einer bipolaren Zelle und einer Ganglienzelle verschaltet. Aufgrund dieser hohen räumlichen Dichte der Photorezeptoren stellt die Makula mit ihrem Zentrum, der Foveola, das leistungsfähigste sensorische Organ des menschlichen Körpers für die räumlich differenzierende Wahrnehmung dar (Zrenner et al. 2004).

Im Laufe des Lebens vollziehen sich in den Photorezeptoren verschiedene altersabhängige Veränderungen. Dazu gehört eine Desorganisation der in ihren Außensegmenten eingebauten Membranscheibchen, die einen sehr hohen Gehalt an lipoidalem Material einschließlich Phospholipiden mit langkettigen mehrfach ungesättigten Fettsäuren aufweisen. Diese Substanzen sind sehr empfindlich auf lichttoxische und lichtoxidative Schädigung durch freie Radikale (Beatty et al. 2000; Young 1988). Durch den im Laufe des Lebens kumulativen, oxidativen Stress könnte es zur Peroxidation der Lipide kommen. In der Tat konnten De La Paz und Anderson eine mit dem Alter zunehmende Lipidperoxidation am hinteren Augenpol feststellen (De La Paz und Anderson 1992). In der Folge kann die Peroxidation zur Bildung höhermolekularer Polymere führen, welche durch lysosomale Enzyme im RPE nicht mehr erkannt und abgebaut werden können. Eine Akkumulation von Material in lysosomalen Kompartimenten des RPE könnte dadurch begünstigt werden und pigmentepitheliale Funktionen beeinträchtigen (Holz et al. 2004b).

Altersabhängige Veränderungen umfassen auch eine Verbreiterung und Distorsion der Außensegmente, deren Ursache bislang ungeklärt ist (Holz et al. 2004b). Zusätzlich wird eine Verringerung der Dichte sowohl der Zapfen als auch der Stäbchen in höherem Alter beobachtet (Feeney-Burns et al. 1990; Gartner und Henkind 1981). Bei einem Untergang von Zapfen, sei es durch „normale“ altersabhängige Veränderungen oder im

Rahmen der AMD, sind entsprechend den Aufgaben der Zapfen im Netzhautzentrum und ihrer Verteilung verschiedene retinale Funktionen betroffen (Zrenner et al. 2004):

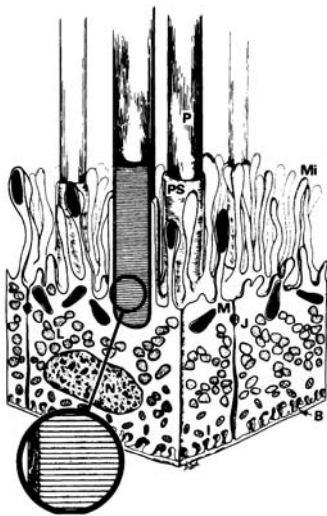
- Sehschärfe, wegen herabgesetzter Zapfendichte
- Lesefähigkeit, wenn Skotome im Lesefeld auftreten
- Gesichtsfeld, wegen lokaler Ausfälle kleiner Zapfenpopulationen
- Zentrale Lichtunterschiedsempfindlichkeit (LUE), wegen der reduzierten räumlichen Integrationsfähigkeit von hellen Flächen
- Farbunterschiedsempfindlichkeit, wegen der Ausdünnung des Mosaiks rot-, grün- und blauempfindlicher Zapfen
- Kontrastsehen, wegen der Auflockerung der rezeptiven Felder

### **1.1.2 Das retinale Pigmentepithel**

Das retinale Pigmentepithel (RPE) liegt als einlagige Zellschicht streng polarisierter, hexagonaler, pigmentierter Zellen zwischen den Außensegmenten der Photorezeptoren, mit denen es eine funktionelle Einheit bildet, und den fenestrierten Kapillaren der Aderhaut (Holz et al. 2004b; Strauss 2009). Es entwickelt sich embryologisch aus dem äußeren Blatt des Augenbechers und ist damit, wie die neurosensorische Netzhaut, neuroektodermalen Ursprungs (Streeten 1969). Die Struktur des Pigmentepithel-Photorezeptor-Außensegment-Komplexes ist aufgezeigt (Abbildung 2). Das Zytoplasma der pigmentepithelialen Zellen enthält im apikalen Bereich zahlreiche melaninhaltige Vesikel, die vorwiegend Licht im Wellenlängenbereich von 400-800nm absorbieren und die Photorezeptoren vor Lichtreflexion und Lichtstreuung schützen (Spalton und Marshall 1996). Jede Pigmentepithelzelle umgibt in ihrem apikalen Teil mehrere hundert Außensegmente mit fingerförmigen Zellfortsätzen und phagozytiert täglich eine Vielzahl verbrauchter Membranscheibchen, die von den Außensegmenten der Photorezeptoren periodisch über den Tag abgegeben werden (Bok 1985; Holz et al. 2004b; Spitznas und Hogan 1970). Die phagozytierten Fragmente - Phagosomen genannt - werden nach enzymalem Abbau in Lysosomen entweder zur Wiederverwertung an die

Photorezeptoren abgegeben oder nach Diffusion durch die Bruch'sche Membran von den Aderhautgefäßen abtransportiert.

Das RPE ist zwar nicht direkt an der Umwandlung von Licht in neuronale Signale beteiligt, aber nicht zuletzt seine Lage zwischen den Außensegmenten der Photorezeptoren und der Bruch'schen Membran unterstreicht seine herausragende Bedeutung für die normale Funktion der Photorezeptoren. So gehen bei Atrophie des RPE auch die korrespondierenden Photorezeptoren zugrunde (Maguire und Vine 1986; Sarks 1976). Neben der Phagozytose von Membranscheibchen und der Lichtabsorption besitzt das RPE weitere vielfältige Funktionen wie die Aufrechterhaltung der Blut-Retina-Schranke, die Teilnahme im Vitamin-A-Kreislauf, die Synthese der extrazellulären Matrix, die Sekretion verschiedener Wachstumsfaktoren und die Vermittlung des Stoffaustauschs zwischen Netzhaut und Blut (Boulton und Dayhaw-Barker 2001; Holz 2001; Strauss 2009).



**Abbildung 2** Schematische Darstellung des Pigmentepithel-Photorezeptor-Außensegment-Komplexes. Interzelluläre junctionale Komplexe (J) finden sich zwischen benachbarten Zellen. Die apikale Membran des RPE weist zahlreiche Mikrovilli auf, die sich in 2 Typen unterscheiden lassen: lange, dünne Mikrovilli (Mi), die nicht in Kontakt mit den Außensegmenten der Photorezeptoren stehen, und kürzere Mikrovilli, die eine Scheide für die Außensegmente bilden (PS). An der basalen RPE-Zellseite finden sich viele Invaginationen (I); darunter erkennt man die Bruch-Membran (B). Das Zytoplasma der RPE-Zellen enthält viele Organellen einschließlich dem Nucleus (N), Melanin (M) und Lipofuszingranula (L) (Holz et al. 2004b).

Mit zunehmendem Alter verringert sich die Zahl und damit die Dichte der Pigmentepithelzellen (Dorey et al. 1989). Da sich die postmitotischen RPE-Zellen unter physiologischen Bedingungen nicht teilen, wird die gleichbleibende Fläche durch eine horizontale Vergrößerung der Zellen ausgefüllt (Boulton und Dayhaw-Barker 2001; Feeney-Burns et al. 1984; Holz et al. 2004b). Jede einzelne verbleibende Zelle wird

damit funktionell mehr belastet, wodurch es offensichtlich zu einer Einschränkung des Abbaus von phagozytiertem Photorezeptormaterial kommt. Eine weitere altersabhängige Veränderung, die möglicherweise mit der eingeschränkten lysosomalen Funktion in Zusammenhang steht, stellt die Akkumulation von Lipofuszingranula im Zytoplasma der RPE-Zellen dar, welche dadurch dauernd und progressiv mehr Zellvolumen einnehmen und damit einen weiteren Funktionsverlust der RPE-Zellen herbeiführen (Feeney-Burns et al. 1984; Hogan 1972).

Des Weiteren beschrieben Feeney und Mitarbeiter einen verminderten Melaningehalt mit steigendem Lebensalter: während Melanin in der ersten und zweiten Lebensdekade ca. 8% des Zellvolumens der RPE-Zellen darstellte, sank dieser Anteil auf 3,5% in der Gruppe der 41-90jährigen (Feeney-Burns et al. 1984). Neben der oben erwähnten schützenden Lichtabsorption spielt das Melanin auch durch das Auffangen freier Radikale eine protektive Rolle. Dieser Schutzmechanismus könnte damit altersabhängig Einschränkungen erfahren (Holz et al. 2004b).

### **1.1.3 Die Bruch'sche Membran**

Die Bruch'sche Membran ist eine Membran aus azellulärem, interstitiellen Bindegewebe zwischen RPE und Aderhaut. Elektronenmikroskopisch konnte eine pentalaminare Struktur aufgedeckt werden, welche folgende fünf Schichten von innen nach außen umfasst (Pauleikhoff et al. 2004):

1. die Basallamina des RPE
2. die innere kollagene Schicht
3. die elastische Schicht
4. die äußere kollagene Schicht und
5. die Basallamina der Choriokapillaris.

Sie besitzt die Funktion einer semipermeablen Filtrationsbarriere. Einerseits können so nutritive Moleküle von der Choriokapillarisschicht der Aderhaut zum RPE und den Photorezeptoren gelangen. Andererseits ist auch der Transport zellulärer Abbauprodukte in Gegenrichtung möglich (Bok 1985; Boulton et al. 1989).

Mit zunehmendem Alter treten in der Bruch'schen Membran vielfältige Veränderungen auf. Hierzu zählen insbesondere ihre diffuse Verdickung, eine zunehmende Kalzifikation der elastischen Schicht und ein erhöhter Faseranteil (Okubo et al. 1999; Ramrattan et al. 1994; van der Schaft et al. 1991). Gleichzeitig kommt es zur Ablagerung von granulärem und amorphem Material sowie von vesikulären Strukturen, welche mit einer allmählichen Aufhebung der erkennbaren Fünfschichtung einhergehen (Feeney-Burns und Ellersieck 1985). Biochemisch handelt es sich bei den eingelagerten Substanzen, die auch als Debris bezeichnet werden, u.a. um Lipide, Proteine und Glykoproteine (Curcio et al. 2005; Holz et al. 1994b; Kliffen et al. 1995; Pauleikhoff et al. 1990a).

Funktionell gehen mit diesen strukturellen und biochemischen Veränderungen offensichtlich eine Abnahme der Elastizität sowie eine Zunahme des Diffusionswiderstandes einher (Fisher 1987; Moore et al. 1995). Alle diese altersabhängigen Veränderungen führen zu weiterer funktioneller Beeinträchtigung im Zusammenwirken von Photorezeptoren, RPE, Bruch'scher Membran und Aderhaut.

#### **1.1.4 Die Aderhaut**

Die Aderhaut, bestehend aus einem schichtartig übereinanderliegenden System von in Bindegewebe eingebetteten Blutgefäßen, liegt zwischen der Sklera (Lederhaut) und der Netzhaut. Die Choriokapillaris bildet die innere Schicht der Aderhaut. Sie besitzt ein gefenstertes Epithel und ermöglicht so die passive Diffusion von kleinen Molekülen und Flüssigkeit. Damit übernimmt die Aderhaut eine Nährfunktion für das RPE und die äußere Netzhaut. Das über die ziliaren Arterien zufließende Blut verlässt die Aderhaut über die Vortexvenen. Ein sehr hoher Blutstrom in Kombination mit einer geringen Sauerstoffausnutzung weist auf eine weitere Funktion der Aderhaut hin: sie hält die Temperatur des hinteren Augenabschnitts konstant, indem sie die Wärmeenergie abführt, die beim photochemischen Prozess entsteht (Grehn 2006; Strauss 2009).

Auch in der Aderhaut sind im Laufe des Lebens Veränderungen zu verzeichnen. So wird eine Aufweitung und Verlängerung der interkapillären Räume einhergehend mit einer Abnahme des Gefäßdurchmessers und der Anzahl chorioidaler Kapillaren beobachtet (Olver et al. 1990). Außerdem nehmen die Dicke der Aderhaut und auch der luminale

Durchmesser der Choriokapillarisgefäße mit steigendem Alter ab (Ramrattan et al. 1994). Die Gefäße der Choriokapillaris beginnen im Rahmen einer chorioidalen Neovaskularisation (CNV) zu proliferieren.

## **1.2 Altersabhängige Makuladegeneration**

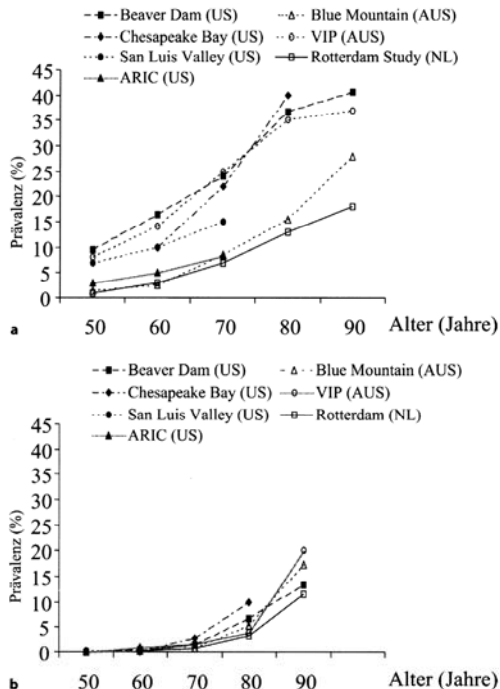
Die altersabhängige Makuladegeneration (AMD) stellt in Industrieländern heutzutage die häufigste Ursache für irreversiblen, schweren Verlust der zentralen Sehschärfe im Alter dar (Congdon et al. 2004; Friedman et al. 2004; Jager et al. 2008; Klaver et al. 2001; Klein et al. 2007; Mitchell et al. 1995; Smith et al. 2001; Tomany et al. 2004; van Leeuwen et al. 2003; Wang et al. 2007). Man unterscheidet zwischen der frühen und der späten AMD. Die Frühform zeichnet sich durch das Vorliegen von Drusen und Hyperpigmentationen aus. Als Spätform manifestiert sich entweder die trockene (GA) oder die feuchte AMD (CNV) oder eine Kombination aus beiden.

### **1.2.1 Epidemiologie**

Populationsbasierte Studien zur Prävalenz und Inzidenz der AMD sind in verschiedenen Ländern durchgeführt worden (Klein et al. 1999). Die Ergebnisse der verschiedenen Studien sind teilweise inkonsistent. Eine Ursache für die Variabilität der Prävalenzdaten kann die Verwendung unterschiedlicher Kriterien für die Krankheitsdefinition und unterschiedlicher Erhebungsmethoden darstellen (Bird et al. 1995). Einige Studien verwenden als Hauptkriterium die Herabsetzung des zentralen Sehvermögens und basieren auf der Funduskopie als Untersuchungsmethode, während andere Studien nur Fundusphotographien zugrunde legen ohne Berücksichtigung einer Visusminderung.

Abbildung 3 zeigt die Prävalenz von früher und später AMD unter Kaukasiern in Studien mit einheitlichen Klassifikationssystemen (Klaver et al. 2004). Konsistent in allen Studien wird eine kontinuierliche Zunahme der Prävalenz mit fortschreitendem Alter beschrieben, wobei die Angaben zu den späten Formen deutlich weniger zwischen den verschiedenen Studien schwanken. Die allgemeine Prävalenz für frühe AMD unter Kaukasiern in der Altersgruppe 65 - 74 Jahre beträgt ca. 15%, in der Altersgruppe 75 -

84 Jahre ca. 25% und in der Gruppe über 85 Jahre ca. 30%. Für die späten - atrophischen und neovaskulären - Formen der AMD liegt die durchschnittliche Prävalenz für 65 - 74jährige bei ca. 1%, für 75 - 84jährige bei ca. 5% und für über 85jährige bei ca. 13% (Klaver et al. 2004). In Deutschland sind schätzungsweise 4,5 Millionen Menschen von der AMD betroffen (Holz et al. 2006). Die kumulative Fünfzehnjahresinzidenz in den Vereinigten Staaten wird bei 43 - 86jährigen mit 14,3% für frühe AMD und 3,1% für späte Formen angegeben. Während die Zahlen von der Altersgruppe 43 - 54 Jahre bis zur Gruppe 65 - 74 Jahre deutlich anstiegen, war für über 75jährige eine gewisse Stagnation zu beobachten (Klein et al. 2007) In Europa ist von etwas geringeren Neuerkrankungsraten auszugehen, auch wenn präzise Bestimmungen über einen Zeitraum von fünfzehn Jahren noch ausstehen (Klaver et al. 2001; Klaver et al. 2004).



**Abbildung 3** Prävalenz früher (a) und später (b) altersabhängiger Makuladegeneration unter Kaukasiern (Klaver et al. 2004).



Etwa 90% aller AMD-Patienten sind von (frühen oder späten) trockenen Formen der Erkrankung betroffen (Augood et al. 2006). Die geographische Atrophie stellt einen Anteil von ca. 35% aller Spätformen der AMD dar. Mit zunehmendem Alter steigt dieser Anteil weiter. Die Fünfjahresinzidenz für GA ist bei über 85jährigen viermal höher als für neovaskuläre AMD (Klein, R et al. 2008). In Deutschland ist der Anteil an über 65jährigen von 20,6% im Jahre 1994 auf 24,8% 2004 angestiegen. Die durchschnittliche Lebenserwartung betrug im Jahre 2004 für Frauen 82 und für Männer 76 Jahre (World Health Organization 2006). Vor diesem Hintergrund ist mit einer deutlichen Zunahme des Auftretens der AMD und insbesondere mit einem steigenden relativen Anteil der GA zu rechnen. In den Vereinigten Staaten wird ein Anstieg der AMD-Betroffenen um 50% bis zum Jahre 2020 prognostiziert (Friedman et al. 2004).

### 1.2.2 Risikofaktoren

Die AMD ist eine komplexe, multifaktorielle Erkrankung, deren Pathogenese noch inkomplett verstanden wird. Es werden einige potenzielle Risikofaktoren sowohl für Prävalenz und Inzidenz als auch für die Krankheitsprogression diskutiert. Es besteht Konsens darüber, dass mit steigendem Alter Prävalenz und Inzidenz aller Formen der Erkrankung zunehmen (Jager et al. 2008). Einen zusätzlichen, gesicherten Risikofaktor für die Prävalenz der AMD stellt die aktuelle oder zurückliegende Raucheranamnese dar (Chakravarthy et al. 2007; Smith et al. 2001). Auch die Progression innerhalb früher Erkrankungsformen - von mittelgroßen zu großen Drusen oder Pigmentveränderungen - und die Inzidenz scheinen durch Rauchen dosisabhängig beeinflusst zu werden (Chang et al. 2008). Es wird angenommen, dass weiße Bevölkerungsgruppen häufiger von AMD betroffen sind als schwarze, wobei der Unterschied für späte Manifestationsformen ausgeprägter zu sein scheint (Bressler et al. 2008). Untersuchungen zu anderen potenziellen Risikofaktoren wie Bluthochdruck, Irisfarbe, Arteriosklerose, Diabetes, Weitsichtigkeit und Lichtexposition sind inkonsistent.

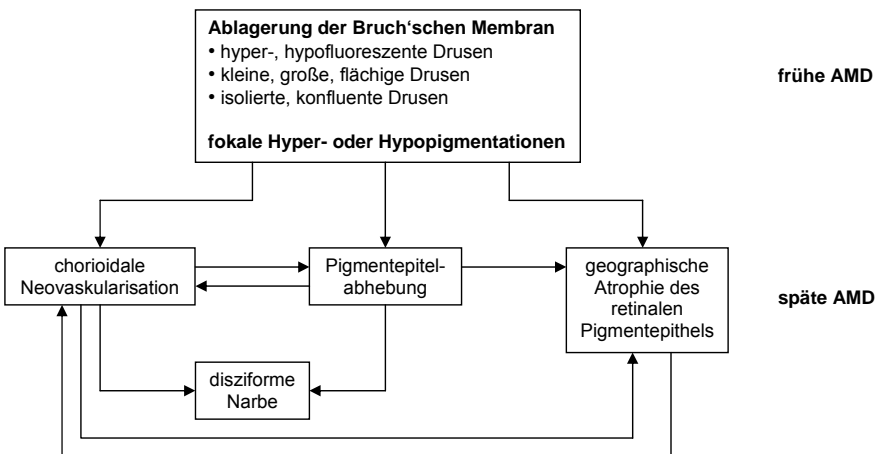
Zahlreiche Befunde sprechen für eine Beteiligung **genetischer Faktoren** bei der AMD (Scholl et al. 2007; Scholl et al. 2008). Ergebnisse von Zwillingstudien weisen auf eine deutliche genetische Determination der Erkrankung hin (Hammond et al. 2002; Klein et

al. 1994; Meyers et al. 1995). Meyers und Mitarbeiter zum Beispiel zeigten eine Konkordanzrate von 100% bei 25 betroffenen monozygoten Zwillingspaaren und eine 42%ige Konkordanz bei 12 dizygotischen Paaren. Im Hinblick auf die spezifischen genetischen Ursachen sind erst in den vergangenen Jahren deutliche Fortschritte erzielt worden. Mehrere Arbeitsgruppen berichteten von einem erhöhten Erkrankungsrisiko bei Vorliegen eines bestimmten Polymorphismus (Y402H) im Komplementfaktor H (CFH) Gen, welches auf dem Chromosom 1 lokalisiert ist (Edwards et al. 2005; Haines et al. 2005; Klein et al. 2005). Despriet und Mitarbeiter konnten in einer populationsbasierten Studie an 5681 Personen zeigen, dass sich das Risiko bei homozygot betroffenen Individuen mit weiter fortschreitender AMD erhöht, bis zu einem Quotenverhältnis von 11,02 für späte AMD (Despriet et al. 2006). Auch für Polymorphismen in anderen Genen ist ein Zusammenhang mit AMD beschrieben worden (Gold et al. 2006; Rivera et al. 2005). Maller und Mitarbeiter berichteten von einem bis zu 250-fach erhöhten Risiko für AMD, falls Hochrisiko-Polymorphismen homozygot an drei Genorten (CFH, LOC387715/HTRA1 und C2-FB) auftreten (Maller et al. 2006). Interessanterweise geht von der Kombination aus genetischer Prädisposition und Raucheranamnese ein deutlich höheres Risiko für AMD aus als von jedem Faktor allein (Schmidt et al. 2006). Eine aktuelle Raucheranamnese bei Personen, die homozygot für Y402H sind, erhöht das Quotenverhältnis für späte AMD auf 34,0, während Raucher ohne den Polymorphismus lediglich ein 3,36-fach erhöhtes Risiko für AMD haben (Despriet et al. 2006).

Ob genetische Faktoren auch die Wachstumsgeschwindigkeit von Arealen geographischer Atrophie beeinflussen, ist Gegenstand aktueller Forschung. Bisherige Untersuchungen zeigen, dass Varianten in bestimmten Risikogenen für AMD nicht mit der Progressionsrate assoziiert sind (Scholl et al. 2009). Bezogen auf die Progression geographischer Atrophie können bestimmte phänotypische Merkmale der Krankheitsausprägung als potenzielle Risikofaktoren angesehen werden, welche in der vorliegenden Arbeit weiter zu untersuchen sind (siehe Kapitel 3.5). Bisherige Ergebnisse legen nahe, dass vor allem spezifische phänotypische Fundusautofluoreszenzmerkmale eine Rolle spielen (Holz et al. 2007).

### 1.2.3 Klassifikation und klinische Manifestationsformen

Die Existenz mehrerer Klassifikationssysteme für AMD macht die Heterogenität des Krankheitsbildes deutlich (Age-Related Eye Disease Study Research Group 2000; Bird et al. 1995; Klein et al. 1991). Die AMD tritt typischerweise am hinteren Augenpol auf. Drusen sowie fokale Hyper- und Hypopigmentationen stellen Frühformen der Erkrankung dar und bestehen meist ohne Beeinträchtigung der Sehfunktion. Die Spätstadien hingegen sind durch teilweise erheblich visuseinschränkende Veränderungen charakterisiert. Zu ihnen gehören chorioidale Neovaskularisationen, Abhebungen des retinalen Pigmentepithels, geographische Atrophien des retinalen Pigmentepithels sowie disziforme Narben (Abbildung 4). Bei Manifestation von später AMD in einem Auge ist das Risiko erhöht, auch im Partnerauge eine Spätform zu entwickeln. Für einen Fünfjahreszeitraum nach Manifestation im ersten Auge wurde die Wahrscheinlichkeit mit 43% angegeben (Age-Related Eye Disease Study Research Group 2001).



**Abbildung 4** Schematische Differenzierung der Erscheinungsformen der frühen und späten altersabhängigen Makuladegeneration (modifiziert nach Pauleikhoff et al. 2004)

Drusen sind die ersten ophthalmoskopisch sichtbaren Veränderungen einer frühen AMD und können in der funduskopischen Untersuchung als runde, scharf begrenzte oder konfluierende, kleinere oder größere, gelbliche Ablagerungen imponieren. Sie sind in der Bruch'schen Membran zwischen innerer kollagener Schicht und Basallamina des

RPE lokalisiert (Pauleikhoff et al. 2004). Drusen beeinträchtigen das Sehvermögen nur in geringem Maße, müssen allerdings als Vorstufen einer späten AMD aufgefasst werden (Holz et al. 1994c; Klein et al. 2007; Pauleikhoff et al. 1990b; Sarks et al. 1980). Sie finden sich je nach Untersuchungsmethode und Definition bei bis zu 80% aller Patienten über 60 Jahre und treten in den meisten Fällen bilateral auf (Holz und Pauleikhoff 2004; Klein et al. 1992).

Fokale Hyperpigmentationen können sowohl Veränderungen in Höhe des RPE darstellen als auch auf Migration pigmentierter Zellen in die neurosensorische Netzhaut zurückzuführen sein. Auch sie sind mit einem erhöhten Risiko für die Entwicklung visusmindernder Spätformen verbunden (Bressler et al. 1990; Holz et al. 1994a; Smiddy und Fine 1984). Fokale Hypopigmentationen sind nicht notwendigerweise mit einem Verlust retinaler Pigmentepithelzellen an diesem Ort verbunden, sondern können auch auf einem reduzierten Gehalt der pigmentepithelialen Zellen an Melanin basieren (Holz und Pauleikhoff 2004).

Unter chorioidalen Neovaskularisationen versteht man Einsprossungen von Aderhautkapillaren durch die Bruch'sche Membran unter das retinale Pigmentepithel oder zusätzlich durch das RPE unter die neurosensorische Netzhaut. Pigmentepithelabhebungen stellen sich als runde oder ovaläre, scharf begrenzte, domförmige Erhebungen dar. Im Rahmen der AMD liegt ihnen meist eine CNV zugrunde. Disziforme Narben, die aus der Fibrosierung chorioidaler Neovaskularisationen resultieren, beschreiben das Endstadium der feuchten AMD.

Die geographische Atrophie des retinalen Pigmentepithels wird als trockene Spätform von den exsudativen Spätformen unterschieden. Neben dem RPE selbst sind hierbei auch die angrenzende Choriokapillarisschicht der Aderhaut und darüberliegende Photorezeptoren zugrunde gegangen (Sarks 1976; Schmitz-Valckenberg et al. 2007c).

#### **1.2.4 Therapie**

In der „Age-related Eye Disease Study“ (AREDS) wurde die Wirkung oraler antioxidativer Nahrungsergänzung (500 mg Vitamin C, 400 IE Vitamin E, 15 mg  $\beta$ -Karotin, 80 mg Zink und 2 mg Kupfer) bei 3640 Probanden zwischen 55 und 80 Jahre

über einen durchschnittlichen Beobachtungszeitraum von 6,3 Jahren untersucht. Für Patienten über 55 Jahre mit multiplen mittelgroßen Drusen, mindestens einer großen Druse oder nicht zentraler GA in einem oder beiden Augen, oder für Patienten mit später AMD in einem Auge, bei denen weder eine aktuelle noch eine vergangene Raucheranamnese vorhanden ist, kann diese Nahrungsergänzung sinnvoll eingesetzt werden, um das Risiko zu vermindern, eine späte AMD zu entwickeln (Risikoreduktion um ca. 25%). Für Personen ohne Zeichen von AMD oder mit einzelnen harten Drusen konnte kein Effekt nachgewiesen werden. Patienten mit bilateraler, später AMD wurden nicht untersucht (Age-Related Eye Disease Study Research Group 2001).

Für die trockene Spätform der AMD, die geographische Atrophie des retinalen Pigmentepithels, gibt es bislang keine gesicherte Therapie, die das kontinuierliche Fortschreiten der Erkrankung verlangsamen oder aufhalten könnte. Es befinden sich allerdings mehrere Therapieansätze in Erprobung (siehe Kapitel 4.9).

In der Pathogenese von CNV spielen Faktoren, die die Angiogenese - das Wachstum neuer Kapillaren, welche aus bestehenden Kapillaren aussprossen - beeinflussen, eine zentrale Rolle (Grisanti und Tatar 2008). Die intravitreale Injektion antiangiogen wirksamer Präparate konnte in den vergangenen Jahren zuvor eingeführte Therapieformen wie photodynamische Therapie (PDT) oder Laserkoagulation in der Wirksamkeit bei weitem übertreffen und stellt mittlerweile die primäre Therapie der exsudativen Spätform der AMD dar. Hierbei liegt der Schwerpunkt auf der Blockade von VEGF (Vascular Endothelial Growth Factor). Momentan sind Ranibizumab (Lucentis®, Genentech/Novartis) und Bevacizumab (Avastin®, Genentech/Roche) die am meisten verwendeten Präparate. Ranibizumab neutralisiert als humanisiertes, therapeutisches Antikörperfragment alle VEGF-Isoformen. Rosenfeld und Mitarbeiter konnten in einer Studie an 716 Patienten mit CNV zeigen, dass sich in 90% der Probanden mit monatlicher intravitrealer Injektion von 0,5 mg Ranibizumab über einen Zeitraum von 24 Monaten die Sehschärfe um weniger als 15 Buchstaben auf der ETDRS-Sehtafel verringerte, im Vergleich zu 52,9% in der Kontrollgruppe (Rosenfeld et al. 2006). Bevacizumab ist ein kompletter humanisierter monoklonaler Antikörper gegen alle VEGF-Isoformen, der zur Behandlung von metastasiertem Kolon- oder Rektumkarzinom in Kombination mit einer Chemotherapie zugelassen wurde. Auch wenn eine ähnliche

Wirksamkeit wie bei Ranibizumab angenommen werden kann (Spaide et al. 2006), so liegen Daten aus randomisierten Studien nicht vor und die Substanz ist für die Anwendung bei CNV nicht zugelassen. Nicht zuletzt wegen der geringen Kosten und der guten Verfügbarkeit von Bevacizumab wird es aber weltweit „off-label“ für diese Indikation verwendet.

Zusätzlich bestehen einige weitere alternative Therapieverfahren. Diese beinhalten neben weiteren pharmakologischen Ansätzen wie intravitreal oder juxtakleral applizierten Steroidderivaten - auch in Kombination mit PDT oder Anti-VEGF-Therapie - auch die transpupillare Thermotherapie und mikrochirurgische Ansätze. Sie müssen sich aber in weiteren klinischen Untersuchungen noch bewähren.

### **1.3 Rolle des retinalen Pigmentepithels**

Auf die zentrale Rolle des RPE sowohl für eine normale Funktion der Photorezeptoren als auch in den zu AMD führenden Veränderungen ist bereits hingewiesen worden. In diesem Kapitel soll sie genauer beleuchtet werden.

#### **1.3.1 Pathogenetische Faktoren**

Die altersabhängig zunehmende Lipofuszinakkumulation stellt ein allgemeines Merkmal der Zellerterung dar und wird neben den RPE-Zellen auch in anderen metabolisch aktiven Zellen einschließlich Herzmuskel- und Nervenzellen beobachtet (Sparrow und Boulton 2005; Terman und Brunk 2006; Yin 1996). Für die RPE-Zellen wird angenommen, dass Lipofuszin hauptsächlich bei der Phagozytose der Membranscheibchen aus Photorezeptor-Außensegmenten entsteht (Delori et al. 2001; Katz 2002; Kennedy et al. 1995; Sparrow 2007; Wing et al. 1978). Ein letztendlicher Beweis für dieses Konzept ist zwar bislang nicht erbracht (Boulton et al. 1989), in Ratten mit genetischem Defekt der Phagozytose von Membranscheibchen wurde aber eine signifikante Reduktion von Lipofuszin nachgewiesen (Katz et al. 1986; Katz 1989).

Lipofuszin stellt ein Substanzgemisch dar, dessen Moleküle verschiedene Fluorophore enthalten (Eldred und Katz 1988; Liu et al. 2000). Als wesentlicher Fluorophor wurde N-

Retinyliden-N-Retinyl-Äthanolamin (A2-E) von Eldred und Lasky identifiziert (Eldred und Lasky 1993). Diese Substanz besitzt toxische Eigenschaften über mehrere Mechanismen. A2-E hebt über eine Inhibition der lysosomalen ATP-abhängigen Protonenpumpe den lysosomalen pH-Wert an und führt damit zu einer Hemmung lysosomaler Enzyme (Bergmann et al. 2004; Holz et al. 1999b). Des Weiteren kann A2-E wie ein Detergenz wirken und somit für die Desintegration von lysosomalen Membranen sorgen (Schütt et al. 2002; Sparrow et al. 1999). Auch phototoxische Eigenschaften von A2-E sind beschrieben worden (Hammer et al. 2006; Schütt et al. 2000). Sparrow und Mitarbeiter zeigten an einer Zelllinie von humanen A2-E beladenen RPE-Zellen, dass Lichtexposition Zelluntergang hervorruft, u.z. proportional zur Menge an A2-E (Sparrow et al. 2000). Histopathologische Studien haben einen Zusammenhang zwischen erhöhtem Lipofuszingehalt und Degeneration von RPE-Zellen sowie benachbarter Photorezeptoren aufgezeigt (Dorey et al. 1989). Diese Befunde sprechen für eine potenzielle pathogenetische Bedeutung exzessiver Lipofuszinakkumulation im RPE (Sparrow und Boulton 2005), auch wenn A2-E nur *einen* Bestandteil des Molekülgemischs Lipofuszin darstellt. Auch bei anderen Netzhauterkrankungen, bei denen vorwiegend die Makula pathologische Veränderungen erfährt, findet sich ein höherer Lipofuszingehalt in pigmentepithelialen Zellen: so zum Beispiel bei Morbus Best und Morbus Stargardt (Eagle et al. 1980; Frangieh et al. 1982). Die Lipofuszinakkumulation kann somit als gemeinsame pathogenetische Endstrecke verschiedener Erkrankungen angesehen werden.

Für die exsudative Spätform der AMD spielt das RPE insofern eine Rolle, als von hier Faktoren ausgehen, die für eine intakte Gefäßarchitektur der Choriokapillaris entscheidend sind (Glaser et al. 1985). Es wurden sowohl Faktoren mit hemmendem - wie PEDF (Pigment Epithelial Derived Factor) - als auch mit induzierendem Einfluss - wie VEGF - auf das Gefäßwachstum beschrieben (Hattenbach et al. 2005).

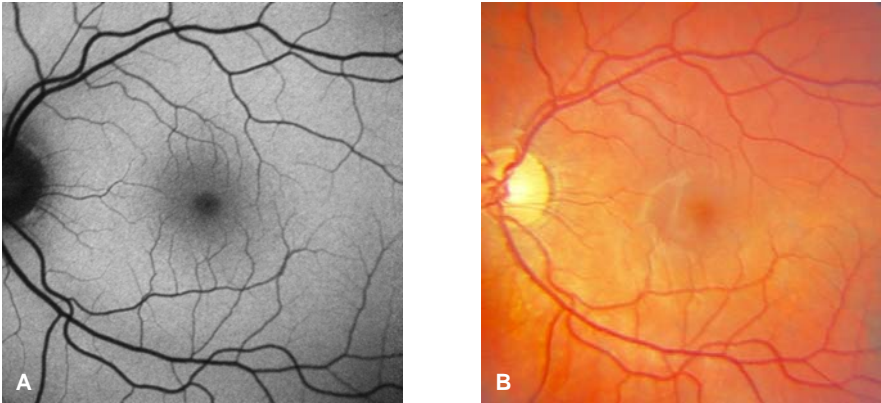
### **1.3.2 Fundusautofluoreszenz-Imaging**

Vor dem Hintergrund der elementaren Rolle des RPE im pathogenetischen Prozess der AMD ist der hohe Stellenwert eines die auf dieser Ebene ablaufenden Veränderungen

widerspiegelnden bildgebenden Verfahrens zu sehen. Informationen über die Verteilung von Lipofuszin und anderen Fluorophoren im RPE, wie z.B. Melanin, sind *in vitro* schon früh mittels fluoreszenzmikroskopischer, mikrospektrophotometrischer und ultrastruktureller Untersuchungen möglich gewesen (Dorey et al. 1989; Feeney-Burns et al. 1980; Feeney-Burns et al. 1984; Weiter et al. 1986; Wing et al. 1978). Ein von Delori und Mitarbeitern entwickeltes Fundusspektrophotometer hat erstmals die *in vivo* Analyse ermöglicht, allerdings lediglich für umschriebene Netzhautbereiche (Delori 1994; Delori et al. 1995a; Delori et al. 1995b). Hierbei zeigte sich, dass mehrere Fluorophore für die Phänomene der Autofluoreszenz verantwortlich sind. Erst durch die Anwendung der konfokalen Scanning-Laser-Ophthalmoskopie bei adäquater Erregerwellenlänge und mit entsprechenden Sperrfiltern konnte die *in vivo* Analyse auf den gesamten Fundus ausgeweitet werden, um somit auch topographische Veränderungen leichter zu erfassen (Solbach et al. 1997; von Rückmann et al. 1995; von Rückmann et al. 1997). Auf dem gleichen Prinzip beruhen die in der vorliegenden Arbeit verwendeten Heidelberg Retina Angiographen HRA Classic und HRA 2 (Bellmann et al. 1997; Holz et al. 1998; Holz 2001).

Verschiedene Aspekte sprechen dafür, dass die durch diese Technik aufgenommene Fundusautofluoreszenz hauptsächlich auf der Ebene des RPE und genauer im Lipofuszin ihren Ursprung nimmt. So entspricht die topographische Verteilung der Autofluoreszenz in Fundusautofluoreszenzaufnahmen von gesunden Probanden (Abbildung 5) derjenigen topographischen Verteilung von Lipofuszin, die sich aus histologischen Studien ableiten lässt (von Rückmann et al. 1995; Weiter et al. 1986; Wing et al. 1978). Der Vergleich von *in vivo* und *in vitro* erhaltenen Fluoreszenzspektren nach Messung mit einem Fundusspektrophotometer zeigt, dass das Lipofuszin auf RPE-Ebene das Hauptfluorophor am Fundus darstellt (Delori et al. 1995a). Die verwendete Erregerwellenlänge von 488 nm und die Verwendung des nur für Wellenlängen oberhalb von 500 nm durchlässigen Sperrfilters lassen sich gut mit den in fundusspektrophotometrischen Studien gewonnenen spektralen Eigenschaften des Lipofuszins vereinbaren (Delori et al. 1995a). Auch die Blockade der Autofluoreszenz durch retinale Gefäße sowie ihre Abwesenheit im Bereich des Sehnervenkopfes und bei geographischer Atrophie des RPE sprechen dafür.





**Abbildung 5** Fundusautofluoreszenzaufnahme einer gesunden Netzhaut (A) mit korrespondierender Fundusphotographie (B). In A wird ein diffuses Autofluoreszenzsignal des Augenhintergrundes beobachtet, das die höchste Intensität in der parafovealen Region mit einer Reduktion im Bereich der Fovea und einer Abnahme zur Peripherie hin zeigt. Das lokal erniedrigte Autofluoreszenzsignal im Bereich der Fovea wird zum einen durch die Absorption kurzwelliges Lichtes durch Melanin in den dortigen RPE-Zellen und gelbes Pigment der neurosensorischen Netzhaut (Delori et al. 2007), zum anderen durch die niedrigere Lipofuszinanreicherung in den zentralen RPE-Zellen verursacht (von Rückmann et al. 1995). Retinale Gefäße und der Sehnervenkopf weisen eine stark erniedrigte Intensität auf und erscheinen daher schwarz.

## 1.4 Geographische Atrophie des retinalen Pigmentepithels

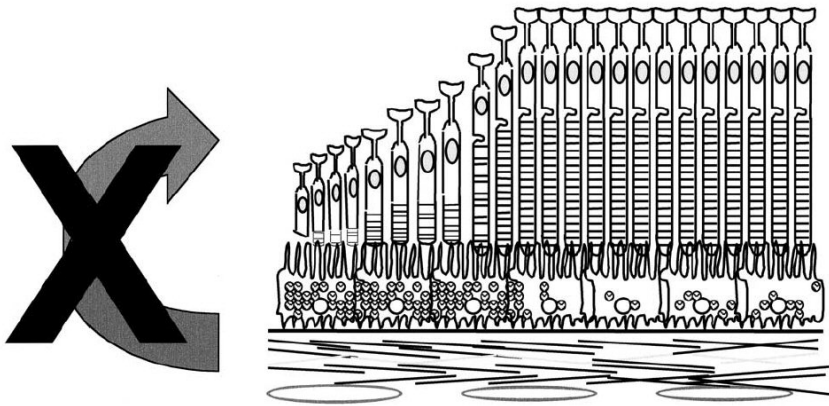
### 1.4.1 Pathogenese

Die GA des retinalen Pigmentepithels, die den gesamten Komplex aus Photorezeptoren, RPE und Choriokapillaris betrifft, ist in ihrer Pathogenese bislang unvollständig verstanden. Man nimmt an, dass primär ein Untergang der RPE-Zellen stattfindet und die Atrophie der anderen Strukturen eine Folge hiervon darstellt (Holz et al. 2004b).

Als primäre Ursache für die Induktion des pigmentepithelialen Zelltodes wird die exzessive Lipofuszinakkumulation diskutiert (Sparrow und Boulton 2005). Die Zellen können sich einmal angesammelter Lipofuszingranula offensichtlich nicht mehr entledigen. Auch besitzen die Lysosomen keine entsprechenden Enzyme um die Substrate und Verbindungen abzubauen. Damit sind die Lipofuszinbestandteile in der Zelle gefangen (Feeney-Burns et al. 1980; Feeney-Burns und Eldred 1983). Falls Lipofuszin hauptsächlich bei der Phagozytose von den Membranscheibchen der

Außensegmente entsteht und seine Bestandteile die Funktion der Pigmentepithelzellen kompromittieren (siehe Kapitel 1.3.1), dann könnte durch die defekte Wiederverwertung phagozytierter Fragmente der zur geographischen Atrophie führende pathogenetische Kreislauf geschlossen werden (Abbildung 6). Die pathogenetische Bedeutung der Lipofuszinakkumulation wird auch in Fundusautofluoreszenzaufnahmen mit einem cSLO deutlich: Holz und Mitarbeiter konnten zeigen, dass neue atrophische Areale und weitere Ausdehnungen bereits bestehender geographischer Atrophien dort auftreten, wo zuvor eine erhöhte Autofluoreszenz - und damit Lipofuszinanreicherung - vorlag (Holz et al. 2001). Auch die retinale Funktion ist in solchen Bereichen erhöhter Autofluoreszenz eingeschränkt (Schmitz-Valckenberg et al. 2004; Scholl et al. 2004). Die GA entwickelt sich häufig zunächst im Bereich nahe der Fovea, ohne aber die Fovea selbst zu betreffen. Mit der Zeit breitet sich die Atrophie langsam aus, wobei eine Aussparung der Fovea bis in späte Stadien typisch ist (Maguire und Vine 1986; Sarks et al. 1988; Schmitz-Valckenberg et al. 2008b; Sunness et al. 1999b). Kennzeichnend für die pathogenetische Bedeutung der Lipofuszinakkumulation ist die Parallelität dieser Beobachtung zu der topographischen Verteilung von Lipofuszin am Augenhintergrund mit einer umschriebenen Verringerung im Bereich der Fovea (Weiter et al. 1986; Wing et al. 1978). Es kann allerdings auch der photoprotektive Effekt der Xanthophylle am hinteren Augenpol als mögliche Erklärung für die Aussparung angesehen werden (Weiter 1988; Whitehead et al. 2006).

Die GA kann auch - wie in Abbildung 4 illustriert - sekundär als Folge anderer Erscheinungsformen der AMD auftreten, wie z.B. nach Regression von Drusen, nach Rissbildung des RPE, nach Abflachung einer Pigmentepithelabhebung, nach fokaler Hyperpigmentation oder nach Umbau von chorioidalen Neovaskularisationen (Klein, ML et al. 2008; Sarks et al. 1988).



**Abbildung 6** Schematische Darstellung zum möglichen pathogenetischen Ablauf bei geographischer Atrophie. Im RPE findet Lipofuszinakkumulation statt. Dadurch werden die pigmentepithelialen Zellen an der Wiederverwertung zuvor phagozytierter Membranscheibchen der Außensegmente gehindert (Holz et al. 2004c).

#### 1.4.2 Klinische Manifestation

Der Verlust u.a. der RPE-Zellen bei geographischer Atrophie hinterlässt ein funduskopisch umschriebenes, depigmentiertes Areal, in dessen Tiefe größere Aderhautgefäße sichtbar werden (Abbildung 7). In diesen Bereichen liegt praktisch die äußere Körnerschicht der Netzhaut der Bruch'schen Membran auf (Green et al. 1985). Der Randbereich der Atrophie lässt mitunter eine vermehrte Pigmentation infolge Zellproliferation, Hypertrophie oder Phagozytose von freigesetztem Melanin und Lipofuszin erkennen (Penfold et al. 1986; Sarks 1976; Young 1987). In einem Auge können sowohl mehrere GA-Areale parallel auftreten (multifokal), als auch nur ein einzelnes Areal vorhanden sein (unifokal). Es sind zusätzlich hufeisenförmige, ringförmige und größenvariable Konfigurationen beschrieben worden, die sich im zeitlichen Verlauf ändern können (Maguire und Vine 1986; Sarks et al. 1988). Häufig manifestiert sich die GA bilateral. Bei unilateraler Manifestation scheint das Risiko, auch im Partnerauge eine GA zu entwickeln, erhöht zu sein (Age-Related Eye Disease Study Research Group 2001). In bilateral betroffenen Patienten zeigen die Atrophieareale

hinsichtlich ihrer Morphologie und Größe häufig einen symmetrischen Charakter (Bellmann et al. 2002; Sunness 1999; Sunness et al. 1999b; Sunness et al. 2007a).

Eine graduelle Verminderung der Sehschärfe mit Skotomen im zentralen oder perizentralen Gesichtsfeld der Patienten entwickelt sich typischerweise allmählich über Monate und Jahre (Jager et al. 2008). Der von der Atrophie zunächst oft ausgesparte zentrale Bereich in der Fovea verkleinert sich immer mehr im zeitlichen Verlauf, so dass sich das Skotom ausdehnt und das Erkennen von Gesichtern oder das Lesen von Wörtern unmöglich wird. Gleichzeitig können bei gut erhaltenem zentralen Visus die Buchstaben auf der Sehtafel aber häufig noch erkannt werden (Rohrschneider et al. 1995; Sunness et al. 1997).

#### **1.4.3 Natürlicher Verlauf**

Die GA zeigt eine progrediente Zunahme ihrer Ausdehnung im zeitlichen Verlauf (Schmitz-Valckenberg et al. 2008b). Mehrere Arbeitsgruppen haben in der Vergangenheit Konfiguration und Größe sowie die Progression von Atrophiearealen untersucht. Maguire und Vine beschrieben anhand von 29 Augen in 18 Patienten die Entwicklung der GA in drei Stadien (Maguire und Vine 1986). In der ersten Phase wurden diskrete Atrophieareale im parafovealen Bereich beobachtet. In der zweiten Phase kam es zu einer beginnenden Beteiligung der Fovea, welche u.a. eine Verdünnung des fovealen RPE und eine vermehrte Umgebung der Fovea mit diskreten Atrophiearealen beinhaltete. Die letzte Phase zeichnete sich durch eine konfluente, meist runde Atrophiefläche aus, welche auch das makuläre Zentrum betraf.

Die erste quantitative Auswertung zum Wachstum geographischer Atrophie stellt die Arbeit von Schatz und McDonald dar. Sie untersuchten 50 Patienten über einen durchschnittlichen Zeitraum von 3,4 Jahren und bestimmten die Atrophiegröße durch Messen des größten horizontalen Durchmessers der Atrophiefläche (Schatz und McDonald 1989). Durchschnittlich wurde eine Vergrößerung des horizontalen Durchmessers von 139  $\mu\text{m}$  pro Jahr festgestellt. In 20 von 50 Augen zeigte sich eine multifokale Morphologie der Atrophie.

Sunness und Mitarbeiter, die zum Vermessen von Atrophieflächen eine modifizierte Methode nach der Macular Photocoagulation Study Group basierend auf Fundusbildern verwendeten, untersuchten ein Kollektiv von 212 Augen in 131 Patienten über mehrere Jahre und errechneten eine mittlere Wachstumsrate von 2,6 mm<sup>2</sup> pro Jahr (Sunness et al. 2007a). Augen mit großen Atrophieflächen bei Erstuntersuchung tendierten zu höheren Wachstumsraten, aber die Kenntnis von früheren Wachstumsraten stellte einen stärkeren Einflussfaktor für die Höhe der späteren Wachstumsrate dar. In einer früheren Auswertung haben Sunness und Mitarbeiter gezeigt, dass die Wachstumsgeschwindigkeit bis zu einer Atrophiegröße von 5 DA (Disc Area entspricht 2,54 mm<sup>2</sup>) zunimmt, sich dann in Augen mit Atrophiegrößen bis 10 DA verlangsamt, um sich dann in der Gruppe über 10 DA leicht zu verringern (Sunness et al. 1999b).

Ebenfalls basierend auf Fundusbildern identifizierten Klein und Mitarbeiter in 32 Patienten über einen Zeitraum von 5 Jahren eine durchschnittliche Zunahme der Atrophiegröße um 6,4 mm<sup>2</sup> und eine Zunahme des größten linearen Durchmessers von 1434 µm (Klein, R et al. 2008).

Bei der longitudinalen Studie von Holz und Mitarbeitern an 195 Augen von 129 Patienten wurden digitale Fundusautofluoreszenzaufnahmen für die Vermessung der Atrophieflächen zugrunde gelegt (Holz et al. 2007). Für die Progressionsrate der GA wurde ein mittlerer Wert von 1,74 mm<sup>2</sup> bestimmt, wobei sich die GA in der Gruppe mit einer Atrophiegröße kleiner als 1 DA bei Erstuntersuchung signifikant langsamer ausdehnte als in den Gruppen mit größeren Atrophieflächen.

In verschiedenen Verlaufsstudien ist unabhängig voneinander eine große Variation der Atrophiewachstumsraten zwischen unterschiedlichen Patienten berichtet worden, welche weder durch die Atrophiegröße noch durch irgendeinen getesteten demographischen Faktor (wie Rauchen, Alter oder Familienanamnese) erklärt werden konnte (Holz et al. 2007; Schatz und McDonald 1989; Sunness et al. 1999b).

Eine CNV tritt nur selten im Bereich einer GA auf. Voraussetzung für ihr Auftreten sind offensichtlich noch intakte pigmentepitheliale Zellen und eine noch intakte Choriokapillaris (Schatz und McDonald 1989). Es wird teilweise die Ansicht vertreten, dass die GA gewissermaßen vor einer CNV schützt (Sarks et al. 1988). Die GA könnte

somit als Endstation im AMD-Prozess angesehen werden, falls eine CNV nicht interveniert (Sunness et al. 2007b).

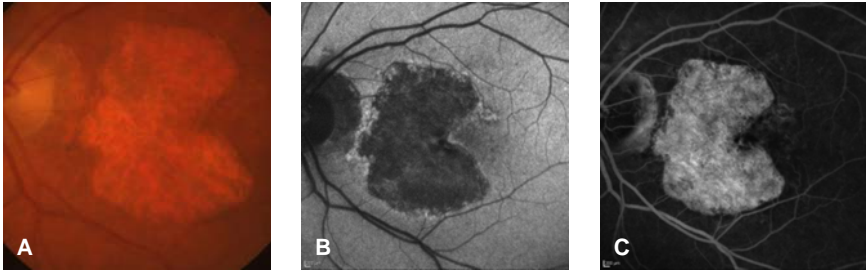
#### **1.4.4 Bildgebende Verfahren**

Die Veränderungen, die sich im Rahmen der geographischen Atrophie am Augenhintergrund ergeben, können mit verschiedenen Techniken dargestellt werden. Eine Form der Befunddokumentation stellt die Fundusphotographie dar (Eter et al. 2008). GA-Areale erscheinen hierbei als depigmentierte Bereiche. Der niedrige Kontrast erschwert allerdings die exakte Abgrenzung von GA und normaler Netzhaut (Abbildung 7).

Als präzises Untersuchungsverfahren bei GA hat sich die Fundusautofluoreszenz erwiesen. GA-Areale sind durch eine erheblich verminderte FAF gekennzeichnet, da in diesen Bereichen das RPE vollständig fehlt und somit auch kein autofluoreszentes Material mehr in dieser Ebene vorliegt (Fleckenstein und Holz 2008). Atrophieflächen erscheinen somit in der FAF schwarz (Abbildung 7) und können von der übrigen Netzhaut gut abgegrenzt werden (Deckert et al. 2005; Schmitz-Valkenberg et al. 2002). Im Randbereich dieser Areale finden sich bei funduskopisch gleichförmigem Erscheinungsbild unterschiedliche Muster erhöhter FAF. Verlaufsbeobachtungen haben gezeigt, dass bei einigen Patienten neue atrophische Areale dort entstehen und die weitere Ausdehnung von bestehenden Atrophien dort stattfindet, wo zuvor eine erhöhte Autofluoreszenz vorlag (Holz et al. 2001).

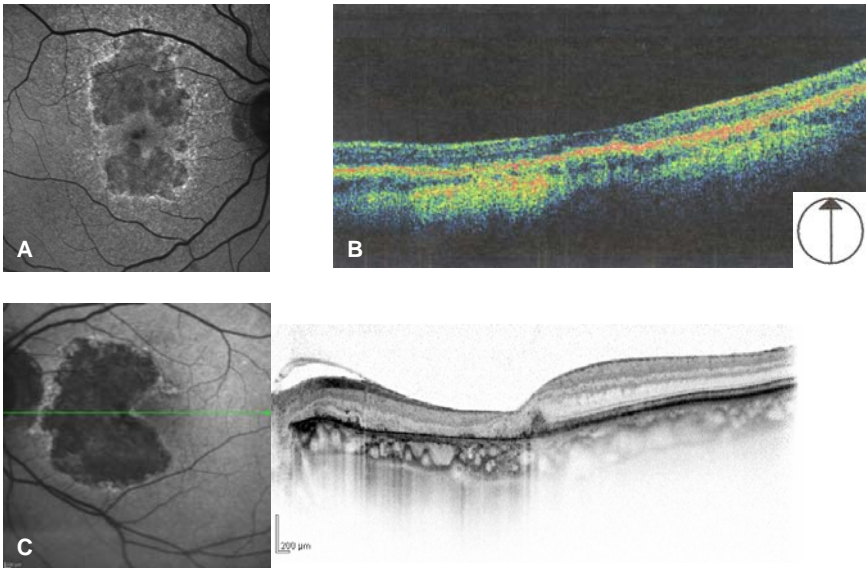
In der Fluoreszeinangiographie zeichnen sich GA-Areale als hyperfluoreszente Areale ab (Abbildung 7). Es kann schwierig sein, GA von einer stattgehabten CNV zu unterscheiden. In der Indozyaningrünangiographie erscheinen Atrophieareale aufgrund der Atrophie der Choriokapillarisschicht der Aderhaut als hypofluoreszente Bereiche. Durch eine nahezu vollständige Bindung des Farbstoffs Indozyaningrün an Serumproteine kann er kaum aus den Gefäßen austreten (Grehn 2006; Meyer-Rüsenberg und Emmerich 2008). Die funduskopisch sichtbaren großen Aderhautgefäße in der Tiefe sind daher mit der Indozyaningrünangiographie besser zu erkennen als mit

der Fluoreszeinangiographie. Die Abgrenzung von atrophischer und nicht-atrophischer Netzhaut ist aber in der Regel schwieriger als in der Fluoreszeinangiographie.



**Abbildung 7** Fundusphotographie (A), Fundusautofluoreszenz (B) und Fluoreszeinangiographie (C) bei GA in AMD

Die Optische Kohärenztomographie (OCT) stellt ein bildgebendes Verfahren dar, welches mithilfe der Interferenz von Lichtwellen in-vivo-Schnittbilder der Netzhaut liefert (Huang et al. 1991). Bei der GA zeigt sich im betroffenen Areal eine Verdünnung der neurosensorischen Netzhaut und eine deutliche Reflektivitätserhöhung im Bereich der Aderhaut (Abbildung 8). Eine Weiterentwicklung der herkömmlichen „time-domain“ OCT stellt die so genannte „spectral-domain“ OCT als hochauflösende Hochgeschwindigkeits-OCT dar. Die „spectral-domain“ OCT deckt hochvariable morphologische Veränderungen im atrophischen Bereich und in seiner Umgebung auf (Fleckenstein et al. 2008). Wie die Angiographie bietet die OCT bei der AMD insbesondere Vorteile in der Diagnose und Therapiekontrolle der exsudativen Spätform.



**Abbildung 8** Optische Kohärenztomographie (OCT) bei GA in AMD. Abbildung A zeigt die Fundusautofluoreszenzaufnahme einer die Fovea ausparenden geographischen Atrophie. Die Orientierung des zugehörigen Schnittbildes B wird durch den Pfeil in der rechten unteren Bildecke gekennzeichnet. Die Aufnahme des Schnittbildes erfolgte mittels Stratus-OCT (Carl Zeiss Meditec, Jena), einem „time-domain“ Tomograph. Die Aderhaut zeigt im Bereich der GA eine Reflektivitätserhöhung, die in dieser Falschfarb-Darstellung rot (hochreflektiv) und grün (mittelreflektiv) imponiert. Abbildung C wurde mit dem Spectralis HRA+OCT (Heidelberg Engineering, Heidelberg), welches die „spectral-domain“ Technik verwendet, aufgenommen. Der grüne Pfeil in der Fundusautofluoreszenzaufnahme (links) markiert exakt die Stelle des korrespondierenden Schnittbildes (rechts), welches im Graustufenmodus erfasst wurde. Auch hier ist im Bereich unterhalb der GA eine kontinuierliche Bande erhöhter Reflektivität zu erkennen.



## 1.5 Fragestellung

Die GA stellt eine häufige Ursache für einen erheblichen Sehverlust im Rahmen der AMD dar. Bislang bestehen weder therapeutische Möglichkeiten noch sind die pathogenetischen Zusammenhänge vollständig verstanden. In der vorliegenden Arbeit soll das Wachstum der GA als ein phänotypisches Korrelat der Krankheitsausprägung präzise bestimmt, inter- und intraindividuelle Unterschiede ermittelt sowie prädiktive Merkmale identifiziert werden. Im Einzelnen werden folgende Aspekte untersucht:

- Die Größenveränderung der Atrophiefläche in einem Auge mit der Zeit kann als Maß für die Krankheitsprogression angesehen werden. Um die Veränderungen im zeitlichen Verlauf möglichst akkurat zu erfassen, wird das bisher in der FAM-Studiengruppe eingesetzte methodische Vorgehen zur Detektion und Quantifikation von Arealen geographischer Atrophie in Fundusautofluoreszenzaufnahmen weiterentwickelt.
- Nach der Quantifikation der Atrophieareale in jedem Auge stellt sich die Frage, mit welcher Maßzahl die Größenveränderung im zeitlichen Verlauf und damit die Krankheitsprogression adäquat beschrieben werden kann. In der vorliegenden Arbeit wird die Progressionsrate in  $\text{mm}^2$  pro Jahr mittels eines zweistufigen linearen Mixed Effects-Modells errechnet.
- In dem untersuchten Patientenkollektiv liegen Verlaufsdaten teilweise zu beiden Augen eines Patienten vor. Das Maß an Symmetrie zwischen beiden Augen wird für verschiedene Parameter untersucht. Das Ergebnis könnte Auswirkungen auf die Fallzahlberechnungen interventioneller Studien haben oder zu einem besseren Verständnis des natürlichen Verlaufs der Erkrankung beitragen.
- In verschiedenen Verlaufsstudien ist unabhängig voneinander eine große Variation der Atrophiewachstumsraten zwischen unterschiedlichen Patienten berichtet worden. In der vorliegenden Arbeit wird der Einfluss von potenziellen Risikofaktoren auf die Progressionsrate untersucht. Neben Erkenntnissen für Interventionsstudien und einem besseren Verständnis des natürlichen Verlaufs der GA könnte sich hieraus eine bessere prognostische Aussagekraft ergeben.

## 2 Patienten und Methoden

### 2.1 Patienten

Alle untersuchten Patienten waren Teilnehmende der FAM-Studie (Fundus Autofluorescence in Age-related Macular Degeneration). Es handelt sich hierbei um eine multizentrische, prospektive Longitudinalstudie mit Zentren an den Universitäts-Augenkliniken in Bonn, Heidelberg, Leipzig, Aachen und Würzburg sowie dem St. Franziskus-Hospital Münster. Patientendaten und Untersuchungsbefunde wurden am Institut für Medizinische Informationsverarbeitung, Biometrie und Epidemiologie der Ludwig-Maximilians-Universität München in einer speziell für die Studie entworfenen Datenbank archiviert. Alle Fundusautofluoreszenzaufnahmen und Fundusphotographien wurden an der Universitäts-Augenklinik Bonn (GRADE - Reading Center Bonn, [www.grade-reading-center.de](http://www.grade-reading-center.de)) gesammelt und ausgewertet.

Alle hier untersuchten Patienten waren bei Einschluss in die FAM-Studie älter als 50 Jahre und wiesen eine GA bei AMD an mindestens einem Auge auf. GA wurde definiert als ein oder mehrere abgegrenzte Areale mit Verlust des RPE, bei relativer Farb- und Dickeveränderung zur umgebenden gesunden Netzhaut und bei Erkennen von den tiefergelegenen chorioidalen Gefäßen. Eine Fluoreszeinangiographie und eine OCT wurden nur bei solchen Augen durchgeführt, bei denen funduskopisch zusätzlich zu den GA-Arealen Hinweise auf eine feuchte Komponente der AMD vorlagen. Bestätigte sich hierbei der Verdacht, wurden die entsprechenden Augen von der weiteren Analyse ausgeschlossen.

Zu den Ausschlusskriterien gehörten auch stattgehabte Netzhautchirurgie, Laserkoagulation, Strahlentherapie oder photodynamische Therapie sowie andere Netzhauterkrankungen wie diabetische Retinopathie oder hereditäre Makuladegenerationen.

Bei jeder Erst- und bei jeder Folgeuntersuchung der Patienten wurden eine Bestimmung der bestkorrigierten Sehschärfe (BCVA, best-corrected visual acuity) mit ETDRS-Sehtafeln (Early Treatment Diabetic Retinopathy Study), eine Messung des intraokularen Druckes mittels Applanationstonometrie und biomikroskopische Untersuchungen des vorderen und hinteren Augenabschnittes durchgeführt. Nach

Dilatation der Pupille mit 0,1% Tropicamide-Lösung erfolgte eine Fundusautofluoreszenzuntersuchung der Studienaugen mit dem Heidelberg Retina Angiograph sowie eine konventionelle Fundusaufnahme. Bei allen Erst- und Folgeuntersuchungen wurde des Weiteren zusammen mit dem Patienten ein standardisierter Fragebogen ausgefüllt. Der Fragebogen bei Erstuntersuchung beinhaltete auch Fragen zur augenärztlichen Vorgeschichte, Familienanamnese, Medikamenteneinnahme und zu Risikofaktoren. Die FAM-Studie wurde von den Ethikkommissionen der Universitäten Heidelberg und Bonn genehmigt und folgte der Deklaration von Helsinki. Vor Einschluss in die Studie wurde jeder Patient aufgeklärt und sein schriftliches Einverständnis eingeholt.

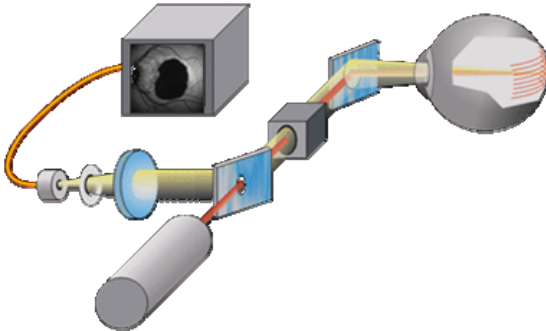
## **2.2 Optisches Prinzip der konfokalen Scanning-Laser-Ophthalmoskopie**

Die konfokale Scanning-Laser-Ophthalmoskopie (cSLO) wurde entwickelt und erstmalig beschrieben durch Webb und Mitarbeiter (Webb und Hughes 1981; Webb et al. 1987). Hierbei wird der Augenhintergrund Punkt für Punkt mit monochromatischem Laserlicht abgetastet und die Intensität des reflektierten bzw. emittierten Lichtes mithilfe eines lichtempfindlichen Detektors an jedem Punkt gemessen. Das konfokale System ermöglicht die Unterdrückung des außerhalb der eingestellten Fokalebene reflektierten bzw. emittierten Lichtes. Mit zunehmender Entfernung von der Fokalebene wird dieses Streufluoreszenzlicht verstärkt unterdrückt, so dass ein kontrastreiches Bild entsteht.

Zunächst läuft das Laserlicht durch einen Modulator, über den die Beleuchtungsintensität gesteuert werden kann. Mithilfe von zwei Spiegeln (x-y-Ablenkung) wird das Licht auf den Fundus gelenkt (Abbildung 9). Hierbei handelt es sich um einen Polygonspiegel für die schnelle horizontale Ablenkung und einen oszillierenden Planspiegel für die langsamere vertikale Ablenkung. Das Drehzentrum für die Ablenk- und Abtastbewegung liegt in der Pupille (Jean et al. 1990; Plesch et al. 1986; Webb et al. 1987).

Das reflektierte bzw. emittierte Licht passiert erneut die beiden Spiegel und erreicht durch eine konfokale Blende den lichtempfindlichen Detektor. Auf diese Weise kann die

reflektierte Lichtmenge einzelnen Netzhautpunkten zugeordnet werden und es entsteht ein Analogsignal auf einem Monitor. Das Bild kann abgespeichert und digital verarbeitet werden.



**Abbildung 9** Optisches Prinzip der konfokalen Scanning-Laser-Ophthalmoskopie

## 2.3 Topographische Detektion der Fundusautofluoreszenz

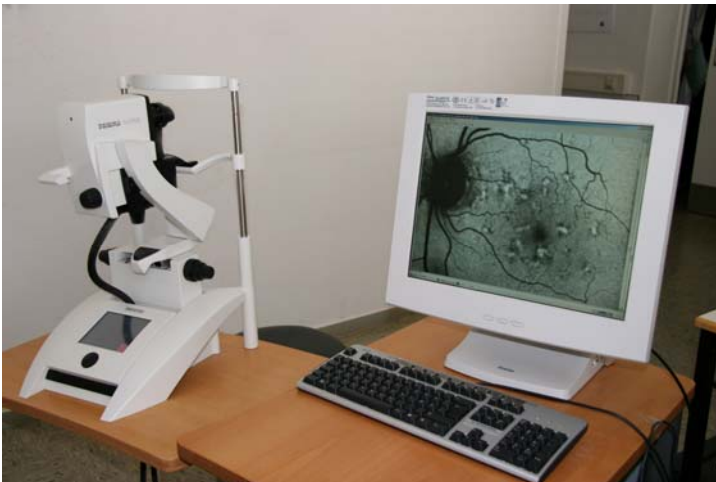
Eine altersabhängige Akkumulation von Lipofuszin im RPE ist von einigen Autoren unter Verwendung verschiedener Methoden beschrieben worden (Delori et al. 1995a; Dorey et al. 1989; Feeney-Burns et al. 1980; Weiter et al. 1986; Wing et al. 1978). Mit der Entwicklung der Scanning-Laser-Ophthalmoskopie ist es möglich geworden, die topographische Verteilung der RPE-abhängigen Autofluoreszenz *in vivo* zu erfassen (Bellmann et al. 1997; Holz et al. 1998; Solbach et al. 1997; von Rückmann et al. 1995).

### 2.3.1 Heidelberg Retina Angiograph

Der Heidelberg Retina Angiograph (HRA; Heidelberg Engineering, Heidelberg) ist ein konfokales Scanning-Laser-Ophthalmoskop, das ursprünglich für die digitale Indozyaningrün- und Fluoreszeinangiographie entwickelt wurde (Holz et al. 1998). Unter Verwendung von adäquater Wellenlänge und Sperrfilter ist auch die Aufnahme der Fundusautofluoreszenz möglich.

Im Laufe der FAM-Studie hat sich bei Heidelberg Engineering eine Weiterentwicklung des HRA Classic zum HRA 2 ergeben, so dass beide Geräte für die Bildakquisition verwendet wurden. Der HRA 2 besteht aus folgenden Hauptkomponenten: Laser-Scanning-Kamera, Kamerahalterung mit Kopfstütze, Touch-Panel, Netzteil mit Lasermodul, einem Computer, einem Isolationstransformator und Bedienungssoftware (Abbildung 10).

Zur Erfassung der Fundusautofluoreszenz wird das Erregerlicht des Argonlasers (HRA Classic) bzw. Festkörperlaser (HRA 2) mit einer Wellenlänge von 488 nm auf den Fundus projiziert und die Emission nach Ausblendung des kurzwelligeren Lichtes mittels eines Sperrfilters in einem Wellenlängenbereich zwischen 500 und 700 nm erfasst (Bellmann et al. 1997; Bindewald et al. 2005b). Dieser Sperrfilter unterdrückt das blaue Anregungslicht bei  $\lambda = 488 \text{ nm}$  mit einem Faktor von ca.  $10^{-6}$ . Somit wird sichergestellt, dass keine Artefakte aufgrund der Reflexion des 488-nm-Anregungslichtes die Aufnahme der Autofluoreszenz beeinflussen. Die Blockade ist so gut, dass sogar Reflexe des Objektivs unterdrückt werden können (Reflexionskoeffizient der Objektivlinsen ca. 1%).



**Abbildung 10** Der Heidelberg Retina Angiograph 2 mit angeschlossenem Computer

Bei einer Fundusautofluoreszenzaufnahme liegt die maximale Lichtbelastung des HRA am Patientenauge bei ca.  $0,2 \text{ mW/cm}^2$  (Holz et al. 1998) und damit weit unterhalb international angegebener Richtwerte (American National Standards Institute 2000).

Der HRA Classic erlaubt Aufnahmen mit einem Bildausschnitt von  $10^\circ \times 10^\circ$ ,  $20^\circ \times 20^\circ$  oder  $30^\circ \times 30^\circ$ , wobei die Auflösung zwischen  $256 \times 256$  oder  $512 \times 512$  Pixel gewählt werden kann. Beim HRA 2 kann die Größe des Bildausschnittes auf  $15^\circ \times 15^\circ$ ,  $20^\circ \times 20^\circ$  oder  $30^\circ \times 30^\circ$  eingestellt werden. Die Bilder werden je nach Einstellung mit einer Auflösung von  $768 \times 768$  oder  $1536 \times 1536$  Pixel digitalisiert. Mit der vorgeschalteten Optik ist die Korrektur von Refraktionsanomalien beim HRA Classic zwischen  $-12$  und  $+12$ , beim HRA 2 zwischen  $-24$  und  $+30$  Dioptrien möglich. Aufnahmen können sowohl einzeln als auch im Serienmodus akquiriert werden. Aufgenommene Bilder werden sofort digitalisiert und bereits während der Aufnahme auf dem Computerbildschirm angezeigt.

### **2.3.2 Heidelberg Eye Explorer**

Der Heidelberg Eye Explorer (HEE) ist die Software des Computers, der direkt an den HRA angeschlossen ist. Sie ermöglicht die Weiterverarbeitung und Archivierung der aufgenommenen Bilder. Neben der Veränderung von Helligkeit und Kontrast können mithilfe dieses Programms durch manuelles Markieren mit dem Zeiger der Computermaus Strecken, Flächen und mittlere Fluoreszenzintensitäten ausgemessen werden. Weiterhin ist das Exportieren und Ausdrucken der Bilder möglich.

Eine weitere wichtige Funktion des HEE besteht in der Erstellung eines Durchschnittsbildes aus mehreren Einzelaufnahmen (Funktion „Compute Mean“). Dies ermöglicht eine Verstärkung des Bildkontrastes und führt zu einem günstigeren Signal-Rausch-Verhältnis des Bildes.

Es besteht zusätzlich die Möglichkeit, Bilder von verschiedenen Aufnahmezeitpunkten zusammen in einer so genannten Lightbox zu archivieren. So können ausgewählte Bilder zu einem späteren Zeitpunkt leicht abgerufen werden.

### 2.3.3 Durchführung des Fundusautofluoreszenz-Imaging

Im Rahmen der FAM-Studiengruppe wurde ein Standard Operation Procedure (SOP) zur Erfassung der Fundusautofluoreszenzaufnahmen mit dem HRA entwickelt.

Sobald sich der Patient in die richtige Position gebracht hatte, d.h. seinen Kopf und sein Kinn fest gegen Kopfstütze bzw. Kinnhalter drückte und geradeaus schaute, wurde zunächst der Fundus als  $30^\circ \times 30^\circ$  Ausschnitt im Infrarotreflexionsmodus (Anregungslicht  $\lambda = 830 \text{ nm}$  (Bellmann et al. 2002; Schmitz-Valckenberg et al. 2007a) ohne Verwendung eines Sperrfilters) mithilfe der vorgeschalteten Optik erstmalig fokussiert. Die Kamera wurde dann in der Horizontal- und Vertikalachse so ausgerichtet, dass auf dem Netzhautbild sowohl Makula als auch Sehnervenkopf zu sehen waren. Anschließend wurde auf den Rotfreireflexionsmodus (Anregungslicht  $\lambda = 488 \text{ nm}$ ) umgeschaltet und eine Anpassung der Fokussierung vorgenommen (Schmitz-Valckenberg et al. 2007b). Nach Wechsel in den Autofluoreszenzmodus, d.h. nach Vorschalten eines für Wellenlängen zwischen 500 und 700 nm durchlässigen Sperrfilters vor den lichtempfindlichen Detektor, wurde die Sensitivität des Detektors manuell justiert, so dass retinale Strukturen wie Gefäße und Sehnervenkopf gut zu erkennen waren. Dabei ist darauf zu achten, dass das Bild nicht zu stark ausgeleuchtet wird, was zu einer Übersteuerung führen würde. Anschließend wurden im Serienmodus mindestens 15 Autofluoreszenzaufnahmen angefertigt.

Im Vergleich zu der Fluoreszenz durch den Angiographiefarbstoff Fluoreszein ist die Fundusautofluoreszenz durch Lipofuszin deutlich weniger intensiv ausgeprägt (Schmitz-Valckenberg et al. 2007a). Daher wurde aus mehreren (in der Regel 9) Einzelaufnahmen mithilfe der Funktion „Compute Mean“ des HEE automatisch ein gemittelttes Bild berechnet. Die verwendeten Einzelaufnahmen wurden vorher manuell ausgewählt und automatisch vom HEE aligniert. Zusätzlich wurde falls erforderlich eine Normalisierung der Grauwerte in dem gemittelten Bild vorgenommen, um die topographische Verteilung der verschiedenen Fundusautofluoreszenzintensitäten besser sichtbar zu machen. Das gemittelte Bild ist die Fundusautofluoreszenzaufnahme, die für die weitere Auswertung verwendet wurde.

## **2.4 Auswertung der Fundusautofluoreszenzaufnahmen**

Der Atrophie-Studienarm in der FAM-Datenbank wurde auf solche Patienten hin durchsucht, welche bis Juni 2006 mindestens zwei Untersuchungstermine durchlaufen hatten. Die zugehörigen Fundusautofluoreszenzaufnahmen wurden entsprechend der folgenden Schritte ausgewertet.

### **2.4.1 Export der Bilddateien**

In einem ersten Schritt wurden alle Fundusautofluoreszenzaufnahmen, die mögliche Kandidaten für die weitere Auswertung darstellten, aus dem HEE exportiert. Jede Aufnahme wurde mittels des Befehls «Image - Export as BMP» als Bitmapdatei abgespeichert. Die Zuordnung erfolgte durch den Dateinamen, der wie folgt festgelegt wurde: „[Zentrum]-[Patientenidentifikationsnummer] [Anfangsbuchstabe des Nachnamens], [Anfangsbuchstabe des Vornamens], [Bezeichnung des Auges] [Aufnahmedatum(YYYY\_MM\_DD)].bmp“, z.B.: „B-001 S, G, LA 2004\_03\_02.bmp“.

Zu jedem exportierten Bild wurde der Skalierungsfaktor, der das Verhältnis mm/Pixel angibt, in eine Übersichtsdatei zum gesamten Messverfahren („Bearbeitungsliste“) übertragen. Diese Datei enthält eine Auflistung aller untersuchten Augen mit entsprechenden Angaben zu den einzelnen Arbeitsschritten der Auswertung.

### **2.4.2 Bewertung der Qualität**

Da nicht alle Aufnahmen aus der Datenbank für die Quantifikation der Atrophieareale geeignet waren, wurde zunächst die Qualität jedes Bildes mit einer der folgenden Kategorien bewertet:

1 = auswertbar

2 = nicht auswertbar, weil Atrophie über Bild hinausgeht

3 = nicht auswertbar, weil Hintergrundrauschen zu hoch

4 = keine GA (z.B. unilateral)

5 = CNV (z.B. unilateral oder Entwicklung über Zeitraum)



6 = hochverdächtig für CNV

9 = nicht für Alignierung geeignet (nachträgliche Einstufung, s. u.)

### 2.4.3 Alignierung

Trotz SOP muss bei der Auswertung von zwei oder mehreren Fundusautofluoreszenzaufnahmen eines Patienten im Verlauf berücksichtigt werden, dass die Bilder nicht deckungsgleich sind. Dies ist auf Unterschiede in der Fixation des Patienten, Ausrichten der Kamera (Kamerawinkel), Distanz Kamera – Hornhaut und durch Verwendung unterschiedlicher Geräte (HRA Classic: Auflösung 256 x 256 oder 512 x 512 Pixel; HRA 2: Auflösung 768 x 768 oder 1536 x 1536 Pixel) zurückzuführen. Hieraus können unterschiedliche Bildausschnitte, Vergrößerungsartefakte und Verzerrungen resultieren.

Zur Korrektur und Minimierung dieser Unterschiede wurden alle auswertbaren (Qualität=1) Folgeaufnahmen mit dem Programm Picture Window Pro 4.0.1.2 (Digital Light & Colour, Massachusetts, USA) jeweils auf die Erstaufnahme - bzw. auf das früheste Bild des Verlaufs, welches qualitativ als auswertbar eingestuft worden war - aligniert.

Dies geschah mit der Funktion «Transformation - Composite - Register - 4-point alignment (perspective warp)». Damit wurde die Folgeaufnahme den Vorgaben der Erstaufnahme entsprechend verschoben, rotiert, skaliert und gezerrt (Abbildung 11).

Grundvoraussetzung für die Genauigkeit der Anpassung ist die exakte Positionierung der vier Kontrollpunkte. Es ist dabei auf Folgendes zu achten:

- Die 4 Punkte sollten möglichst gleichmäßig um das Atrophieareal herum verteilt sein, sodass am besten in jedem Bildquadranten ein Punkt gesetzt wird.
- Die Punkte sollten möglichst peripher in den Bildecken liegen.
- Die Punkte sollten an Gefäßkreuzungen gesetzt werden, da diese im zeitlichen Verlauf konstant bleiben (in Ausnahmefällen konnten auch charakteristische Biegungen und Zacken im Gefäßverlauf gewählt werden).

Um die Genauigkeit zu verbessern, wurde in Picture Window Pro der Bildausschnitt, in dem man einen Kontrollpunkt gesetzt hatte, sowohl in der Erst- als auch in den Folgeaufnahmen stark vergrößert (2- bis 10-fach je nach Auflösung) und gegebenenfalls die Punktposition korrigiert.

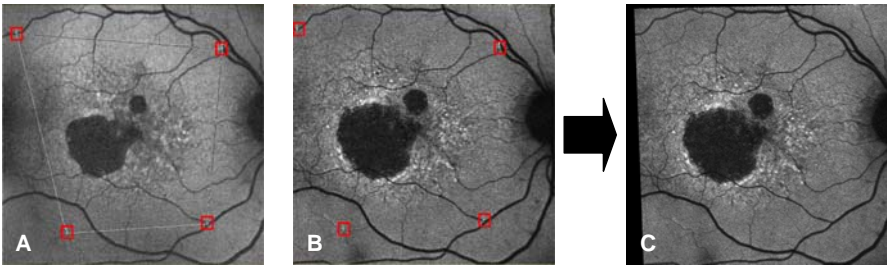
Falls der Bildausschnitt der Erstaufnahme so klein bzw. ungünstig gelegen war, dass auf den Folgeaufnahmen nach der Alignierung Teile der mit der Zeit vergrößerten Atrophiezone über den Bildrand hinausgingen, wurde eine der Folgeaufnahmen als Grundlage verwendet und alle übrigen, inklusive der Erstaufnahme, auf diese aligniert.

Es folgten zwei Schritte, mit denen der Erfolg der Alignierung kontrolliert wurde:

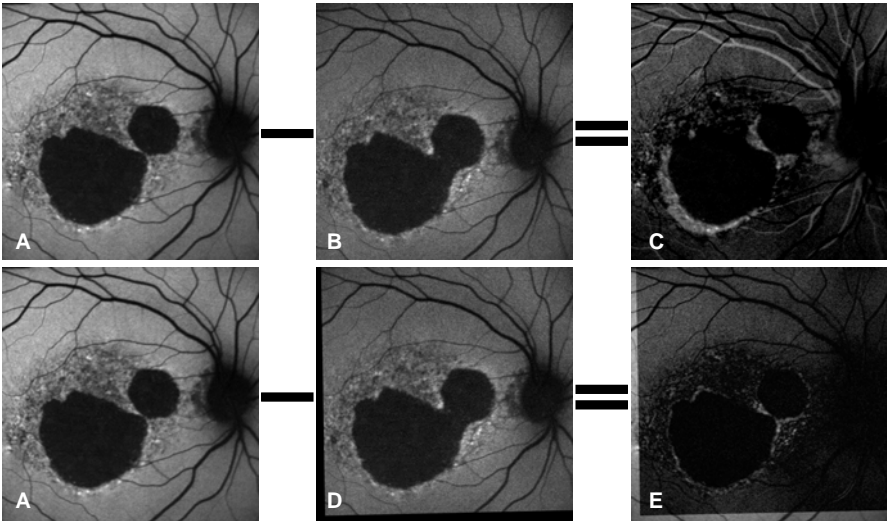
- (1) Jedes alignierte Bild wurde von dem Bild, welches als Grundlage diente, subtrahiert. Dies geschah mit der Funktion «Transformation - Special Effects - Difference - absolute Difference». Auf dem resultierenden Bild zeigten helle Bereiche einen Unterschied zwischen den beiden Bildern an. Helle Bereiche direkt angrenzend an die Atrophie waren zu erwarten, da sie den normalen Wachstumsprozess widerspiegeln. Hell erscheinende Gefäße hingegen deuteten auf Ungenauigkeiten beim Alignieren hin (Abbildung 12).
- (2) Alle überlagerten Bilder eines Verlaufs wurden mit Bildbetrachtungssoftware direkt hintereinander in chronologischer Reihenfolge angeschaut. Dabei fallen dem Betrachter auch subtile, eventuell bestehende Ungenauigkeiten auf.

Fielen bei (1) oder (2) Ungenauigkeiten auf, so wurde zunächst versucht, diese durch Wiederholung der Alignierung zu beseitigen, eventuell auch mit Veränderung der Position der Kontrollpunkte. Führte dies nicht zu einer Verbesserung, wurden ausnahmsweise noch zusätzliche Punkte (nicht mehr als 7 insgesamt) gesetzt.

Trotz extremer Sorgfalt und trotz zusätzlicher Punkte konnte es letzten Endes aber vorkommen, dass ein Bild - trotz ansonsten guter Qualität - nicht für die Alignierung geeignet war. Dann wurde es von der weiteren Auswertung ausgeschlossen und seine Qualität nachträglich mit „nicht für Alignierung geeignet“ (Qualität=9) anstatt mit „auswertbar“ (Qualität=1) bewertet. Dies war z.B. der Fall, wenn nicht genügend übereinstimmende Gefäßkreuzungen in den zu überlagernden Bildern gefunden wurden oder wenn diese zu ungleichmäßig über die Quadranten verteilt waren.



**Abbildung 11** Alignierung mittels „4-point-alignment“. Die Folgeaufnahme B ist ca. 18 Monate nach Aufnahme A aufgenommen worden. In beiden Aufnahmen werden 4 markante Landmarken (wie Gefäßkreuzungen) übereinstimmend für die Positionierung der Kontrollpunkte ausgewählt (rot umrandet). Aufnahme B wird sodann verschoben, rotiert, skaliert und gezerzt, so dass sich C ergibt.

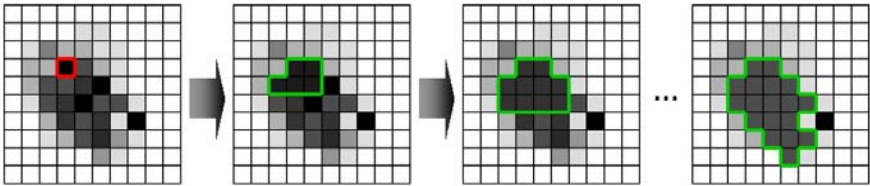


**Abbildung 12** Kontrolle der Alignierung mittels Subtraktionsmethode. Die Folgeaufnahme B bzw. D ist ca. 6 Monate nach Aufnahme A aufgenommen worden. Ohne vorherige Alignierung ergibt sich nach der Subtraktion Bild C, auf dem der nicht übereinstimmende Verlauf der Gefäße auf eine unterschiedliche Kameraposition zwischen A und B hinweist. Wenn hingegen die erfolgreich alignierte Aufnahme (D) von A subtrahiert wird, zeigen helle Bereiche angrenzend an die Atrophie die Größenzunahme an (E).

#### 2.4.4 Detektion und Quantifikation von Atrophieflächen

Die Größe der GA-Areale in jedem Auge wurde definiert als Summe aller Areale geographischer Atrophie in einem Auge.

Die Vermessung der Atrophieareale erfolgte nach der Methode nach Deckert mittels des Computerprogramms „Vermessung geographischer Atrophien“ (Deckert et al. 2005). Sie basiert auf dem Algorithmus des Flächenwachstums (Deckert 2004) (Abbildung 13). Zur Messung jeder einzelnen Atrophiefläche wählt der Untersucher mit dem Mauszeiger einen Startpunkt innerhalb dieser Atrophie (ROI, Region of Interest) aus. Das Programm berechnet die Menge der in der Umgebung dieses Ursprungspunktes liegenden Grauwerte, die innerhalb eines bestimmten Streubereichs um den Ursprungsgrauwert liegen und markiert dann graphisch das entsprechende Areal. Mittels graphischen Schiebers legt der Untersucher die Grauwerttoleranz fest (Abbildung 14).



**Abbildung 13** Flächenwachstum mit Mittelwertbildung. Die einzelnen Gitter sollen eine stark vergrößerte Pixel-Matrix darstellen, wie sie bei digitalen Fundusautofluoreszenzaufnahmen entsteht. Nachdem der Anwender den Startpunkt gesetzt hat (rot umrandetes Pixel), werden alle unmittelbar angrenzenden Pixel, deren Grauwert innerhalb eines bestimmten Toleranzbereichs zum Grauwert des Startpixels liegt, zu der Ergebnismenge (grün umrandete Pixel) hinzugefügt. Danach wird aus dieser Ergebnismenge ein mittlerer Grauwert berechnet. Im nächsten Schritt werden wieder alle an die neue Kontur der Ergebnismenge direkt angrenzenden mit Grauwert innerhalb des Toleranzbereichs der Ergebnismenge zugeführt. Dieser Schritt wird solange wiederholt, bis kein Grauwert eines unmittelbar an die Ergebnismenge angrenzenden Pixels mehr in den Toleranzbereich fällt (Deckert 2004).



**Abbildung 14** Graphische Oberfläche des Computerprogramms „Vermessung geographischer Atrophien“. In jeder Atrophiefläche wird jeweils mit dem Mauszeiger ein Startpunkt festgelegt, um dann mittels graphischen Schiebers die Grauwerttoleranz so einzustellen, dass die gesamte Fläche markiert ist. Die Größe in mm<sup>2</sup> wird dann vom Programm berechnet und angegeben. Das weiß umrandete Areal wurde bereits vermessen, die Vermessung des grün umrandeten Areals ist gerade aktiv.

Es wurden alle alignierten Aufnahmen sowie alle Aufnahmen, auf die aligniert wurde, mit diesem Vermessungsprogramm separat geöffnet und vermessen. Um eine möglichst große Genauigkeit erzielen zu können, sind folgende Punkte zu beachten:

- Bevor man mit dem Vermessen eines Verlaufs eines Auges beginnt, sollte man sich zunächst alle dazugehörigen Bilder anschauen, um zu entscheiden, welche Areale bei der Vermessung berücksichtigt werden. Nicht berücksichtigt wurden:
  - Areale verminderter Autofluoreszenzintensität, die in einem frühen Bild zu sehen sind, in einem späteren Bild aber nicht mehr; es könnte sich hierbei um Artefakte handeln, die z.B. durch Glaskörpertrübungen hervorgerufen werden. Insbesondere im fovealen Bereich kann die genaue Umschreibung der GA

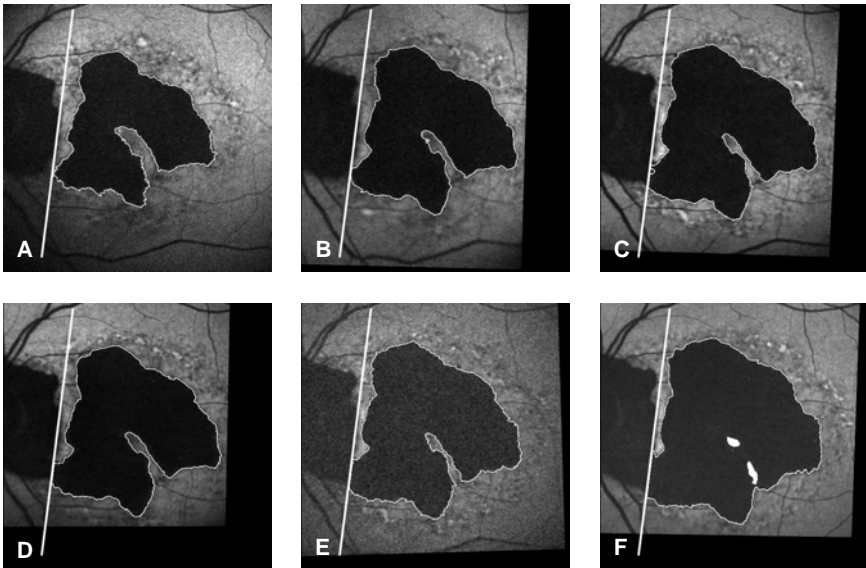
schwierig sein, da foveales Pigment einen ähnlichen Grauwert aufweist wie die Atrophieflächen.

- Besonders kleine Atrophien ( $< 0,05 \text{ mm}^2$ )
- Peripapilläre Atrophien (grundsätzlich, s. u.)
- Falls eine peripapilläre Atrophie vorhanden, aber die Grenze zur übrigen Atrophiefläche nicht in jedem Bild des Verlaufs eindeutig erkennbar war, wurde mittels einer weißen Linie diese Grenze in jedem Bild des Verlaufs identisch gesetzt (Abbildung 15). Im frühesten auswertbaren Bild des Verlaufs wurde eine weiße Gerade so gezogen, dass alle Bereiche der peripapillären Atrophie ausschließlich, und andererseits so wenig zentrale Atrophie wie möglich, nasal dieser Linie lagen.

Die Atrophie temporal dieser Linie wurde vermessen. Dies schloss auch die Areale der peripapillären Atrophie ein, welche im Verlauf nach temporal über diese Linie hinaus wuchsen.

Falls schon im frühesten auswertbaren Bild des Verlaufs peripapilläre und zentrale Atrophie verschmolzen waren, wurde die Linie dort gezogen, wo die Grenze zwischen peripapillärer und zentraler Atrophie vermutet wurde, im Zweifelsfall aber weiter zur zentralen Atrophie hin.

- Bei der Veränderung der Toleranz für die Grauwerte verändert sich die Größe der detektierten Fläche. Durch entsprechend ungünstige Verteilung der Grauwerte kann es vorkommen, dass mehrere Toleranzeinstellungen (und damit verschiedene Atrophiegrößen) für den Untersucher vom optischen Aspekt der Atrophie markierung her vertretbar erscheinen. In solchen Fällen galt es, die Toleranz so weit zu erhöhen, bis die Kontur der Atrophie gerade nicht auf Bildbereiche übergang, die eindeutig *nicht* zum Atrophieareal gehörten. Somit wurde stets der maximal vertretbare Wert ermittelt.
- In einigen Bildern verbessert die Verwendung der Funktion «Schatten entfernen» auch die automatische Detektion der Atrophieflächen.



**Abbildung 15** Longitudinale Fundusautofluoreszenzaufnahmen eines 78jährigen Patienten mit peripapillärer Atrophie über einen Zeitraum von ca. 52 Monaten (A - E). Im frühesten Bild des Verlaufs (A) wurde eine weiße Linie gezogen, um die peripapilläre Atrophie von der zentralen Atrophie abzugrenzen. In allen weiteren, alignierten Folgeaufnahmen (B - E) wurde diese Linie identisch gesetzt. Nur die Atrophie temporal der Linie wurde jeweils vermessen.

Bevor mit dem Vermessen begonnen wurde, wurde für jedes Bild ein Skalierungsfaktor eingegeben. Dabei wurde immer der Skalierungsfaktor derjenigen Aufnahme gewählt, welche beim Alignieren als Grundlage diente.

Die Ergebnisse wurden automatisch in einer Excel-Tabelle inklusive Atrophieanzahl, Atrophieeinzelgröße und Atrophiegesamtgröße festgehalten. Die Atrophiegesamtgröße in mm<sup>2</sup> wurde manuell in die Übersichtsdatei zum gesamten Messverfahren („Bearbeitungsliste“) übertragen.

#### **2.4.5 Klassifikation von Autofluoreszenzmustern im Randbereich der geographischen Atrophie**

In den Fundusautofluoreszenzaufnahmen finden sich Netzhautbereiche sowohl mit erhöhtem als auch mit erniedrigtem Autofluoreszenzsignal. Normale

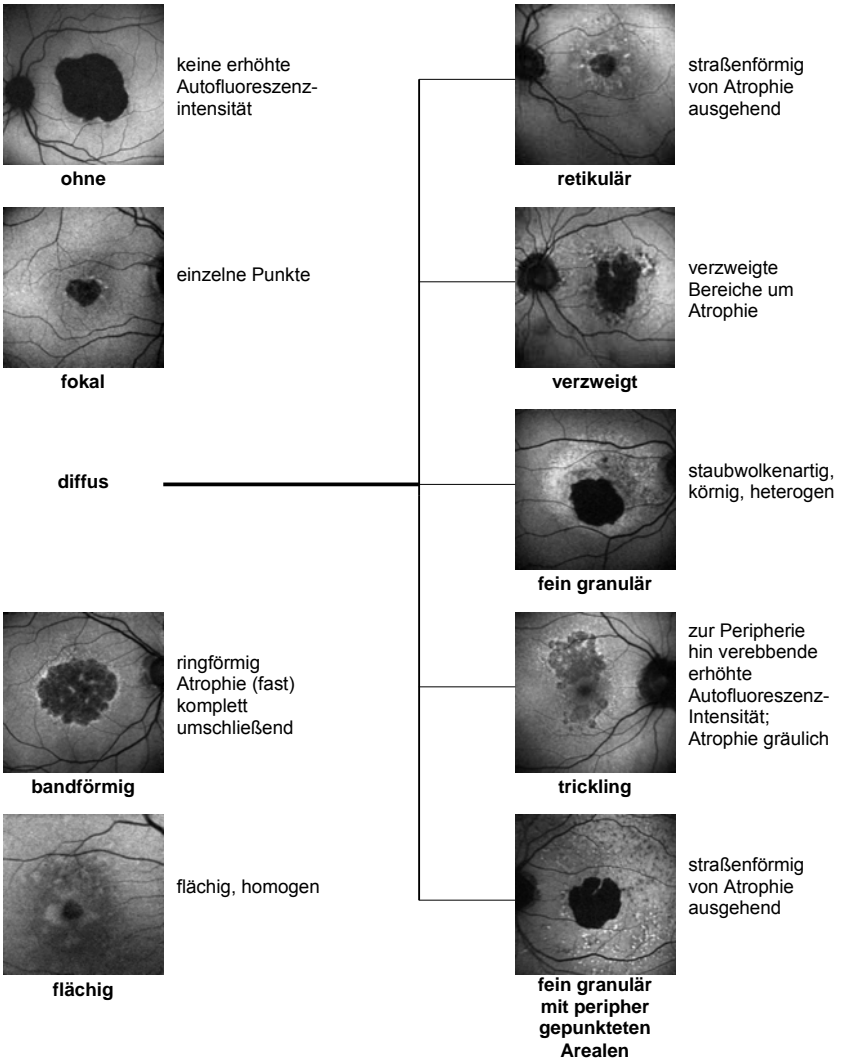
Fundusautofluoreszenz wurde als die Autofluoreszenzintensität außerhalb dieser Bereiche definiert. Bei gesunden Probanden zeichnet sich diese durch eine regelmäßige Verteilung mit einer typischen niedrigeren Intensität im Bereich der Makula aus, die zum einen durch die Absorption kurzwelliges Lichtes durch Melanin in den dortigen RPE Zellen und gelbes Pigment der neurosensorischen Netzhaut (Delori et al. 2007), zum anderen durch die niedrigere Lipofuszinanreicherung in den zentralen RPE-Zellen bedingt ist (von Rückmann et al. 1995; Weiter et al. 1986; Wing et al. 1978). Bei Patienten mit GA weisen Atrophieflecken eine stark erniedrigte Intensität der Autofluoreszenz auf. Im Randbereich der Atrophie wird in vielen Augen eine erhöhte Autofluoreszenz beobachtet, wobei verschiedene Muster beschrieben wurden (Holz et al. 1999a). Für die verschiedenen Ausprägungsarten dieser erhöhten Autofluoreszenz im Randbereich bei fortgeschrittener, atrophischer AMD wurde durch die FAM-Studiengruppe ein Klassifikationssystem eingeführt (Bindewald et al. 2005a). Hierbei wird ein stufenweiser Ansatz der Bildauswertung verfolgt (Holz et al. 2007).

Augen ohne erhöhte Autofluoreszenzintensität im Randbereich wurden als „ohne“ eingestuft. Die Augen mit erhöhter Autofluoreszenz wurden in zwei Gruppen eingeteilt, je nach der Verteilung der erhöhten Intensität. Lag diese lediglich im direkt an die geographische Atrophie angrenzenden Bereich vor, wurde weiter unterteilt in „fokal“, „bandförmig“ und „flächig“. Die Augen mit erhöhter Intensität sowohl im direkt angrenzenden Bereich als auch in weiterer Entfernung von der geographischen Atrophie wurden als „diffus“ kategorisiert. Diese Mustergruppe wurde je nach Erscheinungsbild der Fundusautofluoreszenz in die Subgruppen „retikulär“, „verzweigt“, „fein granulär“, „fein granulär mit peripher gepunkteten Arealen“ und „trickling“ aufgeteilt (Abbildung 16).

Zusätzlich wurden die Kategorien „trotz guter Qualität nicht möglich“, „Qualität zu schlecht“ und „diffus / nicht möglich“ eingeführt.

Alle in der vorliegenden Arbeit berücksichtigten Fundusautofluoreszenzaufnahmen mit GA und ohne CNV (Qualitätskategorien „auswertbar“, „nicht auswertbar, weil Atrophie über Bild hinausgeht“, „nicht auswertbar, weil Hintergrundrauschen zu hoch“ oder „nicht für Alignierung geeignet“) wurden entsprechend dieses Klassifikationssystems eingestuft und das Ergebnis durch entsprechende Kennziffern in der oben erwähnten Übersichtsdatei festgehalten.





**Abbildung 16** Klassifikation von Autofluoreszenzmustern im Randbereich der GA

## 2.5 Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung erfolgte durch das Institut für Medizinische Informationsverarbeitung, Biometrie und Epidemiologie der Ludwig-Maximilians-Universität München.

### 2.5.1 Progressionsraten

Grundlage für die Berechnung der Progressionsrate stellen die Ausarbeitungen von Dreyhaupt und Mitarbeitern dar (Dreyhaupt et al. 2005; Dreyhaupt et al. 2007). Zwischen den Daten aller untersuchten Patienten in der Studienpopulation besteht eine komplexe Abhängigkeitsstruktur. Zum einen wurden von einem Patienten entweder beide Augen oder nur eines erfasst. Zum anderen wurde jedes Auge zu mehreren - und unterschiedlich vielen - Untersuchungsterminen ausgewertet. Um diesen Abhängigkeiten Rechnung zu tragen, wurde ein zweistufiges lineares Mixed Effects-Modell zur Schätzung der Progressionsrate angewendet, welches eine Erweiterung zu klassischen Regressionsmodellen darstellt. Hierbei wurden verschiedene Ebenen berücksichtigt. Auf der ersten Ebene flossen „fixed effects“ in das Modell ein, welche im Zusammenhang mit der gesamten Studienpopulation stehen. Auf der zweiten Ebene wurde berücksichtigt, dass die Progressionsrate jedes einzelnen untersuchten Patienten von der mittleren Progressionsrate in der Studienpopulation abweicht. Ebenso können sich die Progressionsraten der beiden Augen eines Patienten unterscheiden (dritte Ebene). Die Effekte auf Ebene zwei und drei werden als „random effects“ bezeichnet.

Das Modell quantifiziert auf Grundlage der Atrophiegrößen folgende Parameter:

- mittlere Progressionsrate der gesamten Studienpopulation in  $\text{mm}^2/\text{Jahr}$
- patientenspezifische Variabilität um die mittlere Progressionsrate (interindividuelle Variabilität)
- augenspezifische Variabilität um die patientenspezifische Progressionsrate (intraindividuelle Variabilität)
- Fehlervarianz

## 2.5.2 Symmetrie

Anhand der Menge an Patienten, bei denen bilaterale Vermessungsdaten vorlagen, wurde der Grad der Übereinstimmung zwischen linkem und rechtem Auge für verschiedene Parameter untersucht. Bei der Auswertung wurden die Parameter Atrophiegröße, Progressionsrate, Sehschärfe und Fundusautofluoreszenzmuster berücksichtigt.

Für die ersten drei genannten Parameter wurden die folgenden statistischen Methoden angewandt: das Maß an Übereinstimmung zwischen linkem und rechtem Auge wurde jeweils mithilfe des „concordance correlation coefficient“ (CCC) ausgedrückt (Lin 1989; Lin 2008). Hierbei werden Maße für Genauigkeit und Präzision miteinander kombiniert, um zu erfassen, wie weit die vorhandenen Daten von der Linie der perfekten Korrelation abweichen. Außerdem kam auch die graphische Methode nach Bland und Altman zur Beschreibung der Übereinstimmung, der so genannte Bland-Altman-Plot, zum Einsatz (Bland und Altman 1986). Hierbei wird die Differenz der jeweiligen Messergebnisse zwischen linkem und rechtem Auge gegen den Durchschnittswert der beiden Augen in einem Koordinatensystem aufgetragen. Eine Differenz von Null zeigt perfekte Übereinstimmung an. Die so genannten „Grenzen der Übereinstimmung“ wurden definiert als die mittlere Differenz  $\pm$  2 Standardabweichungen der Differenzen. Je enger diese Grenzen sind, desto höher ist der Grad an Übereinstimmung.

Die Atrophiegröße wurde definiert als die Größe der GA in  $\text{mm}^2$  an dem frühesten Untersuchungstermin, zu dem Messwerte für beide Augen verfügbar waren.

Jeweils für linkes und rechtes Auge jedes Patienten wurde die Progressionsrate in  $\text{mm}^2/\text{Jahr}$  anhand aller verfügbaren Messwerte auf Grundlage des in Kapitel 2.5.1 beschriebenen zweistufigen linearen Mixed Effects-Modell geschätzt.

Die Berechnungen zur Symmetrie der Sehschärfe in logMAR (logarithm of the minimum angle of resolution) erfolgten auf Grundlage der Werte am frühesten Untersuchungstermin, zu dem Daten für beide Augen vorlagen.

Bezüglich der Symmetrie der Fundusautofluoreszenzmuster wurde der Anteil an Patienten bestimmt, bei denen in beiden Augen identische Muster vorlagen. Das Fundusautofluoreszenzmuster eines Auges wurde definiert als das Muster, welches an

dem frühesten Untersuchungstermin vorlag, zu dem für beide Augen die Zuordnung eines konkreten Mustertyps (Gruppen „ohne“, „fokal“, „diffus / retikulär“, „diffus / verzweigt“, „diffus / fein granulär“, „diffus / fein granulär mit peripher gepunkteten Arealen“, „diffus / trickling“, „bandförmig“ oder „flächig“) möglich war. In einem zweiten Schritt wurde zusätzlich die Kategorie „diffus / nicht möglich“ berücksichtigt und wurden alle Untergruppen von „diffus“ zusammengefasst.

### **2.5.3 Risikofaktoren**

Auf Grundlage der vorliegenden Daten wurde versucht, Risikofaktoren für eine beschleunigte Krankheitsprogression zu identifizieren. Als potenzielle Risikofaktoren wurden hier bestimmte in den Fundusautofluoreszenzaufnahmen erkennbare Merkmale angesehen.

In die Berechnungen wurden nicht nur die Patienten mit bilateraler Manifestation der GA einbezogen, sondern auch diese, zu denen longitudinale Atrophiemesswerte nur eines Auges vorlagen.

Auf Grundlage der Atrophiegrößen in allen vermessenen Augen zu den unterschiedlichen Untersuchungszeitpunkten wurde mittels des zweistufigen linearen Mixed Effects-Modells und eines bedingten F-Tests untersucht, inwieweit sich das Atrophiewachstum in den jeweils betrachteten Untergruppen unterscheidet, woraus dann für jede Untergruppe die populationsspezifische mittlere Progressionsrate geschätzt wurde. Das Signifikanzniveau wurde auf 5% festgelegt.

#### **2.5.3.1 Uni- oder bilaterale Manifestation**

Alle Patienten, bei denen longitudinale Atrophiemesswerte mindestens für ein Auge vorlagen, wurden auf Grundlage ihres Diagnosestatus im Partnerauge zum Zeitpunkt der Erstuntersuchung drei verschiedenen Diagnosegruppen zugeordnet, die folgendermaßen definiert wurden:

Gruppe „bilateral“: Patienten mit bilateraler Manifestation geographischer Atrophie, unabhängig davon, ob beide Augen oder nur eines vermessen werden konnte

Gruppe „frühe AMD“: Patienten mit unilateraler Atrophie und Diagnose frühe AMD (Drusen, Hyperpigmentationen, Hypopigmentationen oder  $GA < 0,05 \text{ mm}^2$ ) im Partnerauge

Gruppe „CNV“: Patienten mit unilateraler Atrophie und Diagnose CNV im Partnerauge

Zunächst wurde untersucht, inwieweit sich das Wachstum in den drei Diagnosegruppen unterscheidet. In einem zweiten Schritt wurden die Gruppen „frühe AMD“ und „CNV“ als Gruppe der unilateralen Manifestation von GA zusammengefasst und mit der Gruppe „bilateral“ verglichen.

#### 2.5.3.2 Atrophiegröße

Bezüglich der Atrophiegröße zum Zeitpunkt der frühesten Vermessung eines Verlaufs wurden sechs Untergruppen gebildet, für die jeweils die populationsspezifische mittlere Progressionsrate geschätzt wurde.

#### 2.5.3.3 Anzahl der Atrophieareale

Für die Einteilung in Untergruppen wurde die Anzahl an Atrophiearealen zugrunde gelegt, die zum Zeitpunkt der frühesten verfügbaren Messung der Atrophiegröße bestand.

Alle vermessenen Augen wurden zunächst den beiden Kategorien „unifokal“ (genau ein Atrophieareal) und „multifokal“ (mehr als ein Atrophieareal) zugeteilt.

Die Gruppe multifokal wurde weiter unterteilt in die Untergruppen „2 - 4 Atrophieareale“ und „mehr als 4 Atrophieareale“.

#### 2.5.3.4 Fundusautofluoreszenzmuster

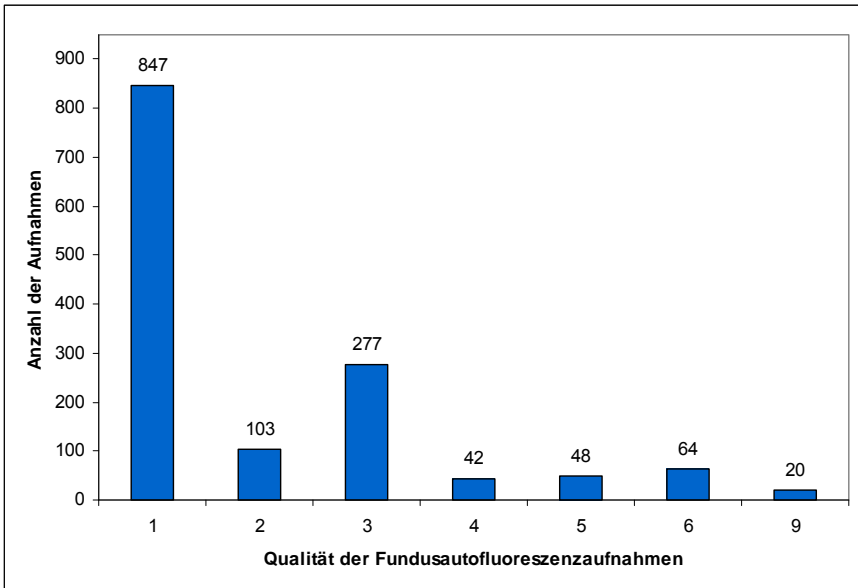
Das Fundusautofluoreszenzmuster wurde hier definiert als das Muster des Auges, zu welchem im Verlauf das früheste Vermessungsergebnis vorlag.

Es wurden sowohl populationsspezifische mittlere Progressionsraten in den Mustergruppen „ohne“, „fokal“, „bandförmig“, „flächig“ und „diffus“ als auch in den Subgruppen von „diffus“ - ohne Berücksichtigung der Gruppe „diffus / nicht möglich“ - geschätzt.

### 3 Ergebnisse

#### 3.1 Qualität der Fundusautofluoreszenzaufnahmen

Insgesamt wurden 1401 Fundusautofluoreszenzaufnahmen aus dem HEE exportiert und ihre Qualität entsprechend der eingeführten Kategorien bewertet (Abbildung 17).



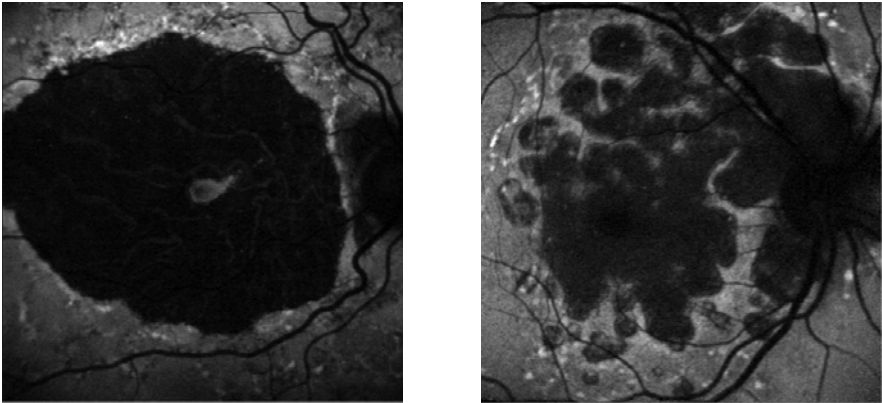
**Abbildung 17** Absolute Häufigkeiten der einzelnen Qualitäts-Kategorien. Die insgesamt 1401 bewerteten Aufnahmen wurden in sieben verschiedene Kategorien unterteilt:

- 1 = auswertbar
- 2 = nicht auswertbar, weil Atrophie über Bild hinausgeht
- 3 = nicht auswertbar, weil Hintergrundrauschen zu hoch
- 4 = keine GA
- 5 = CNV
- 6 = hochverdächtig für CNV
- 9 = nicht für Alignierung geeignet

847 (60,5%) Aufnahmen zeigten eine genügend hohe Qualität, um die weitere Auswertung hinsichtlich der Vermessung der Areale geographischer Atrophie zu ermöglichen.

In einigen Augen, insbesondere zu weit fortgeschrittenen Untersuchungszeitpunkten im Verlauf, waren entweder die einzelnen Atrophieareale derartig weit verstreut oder die

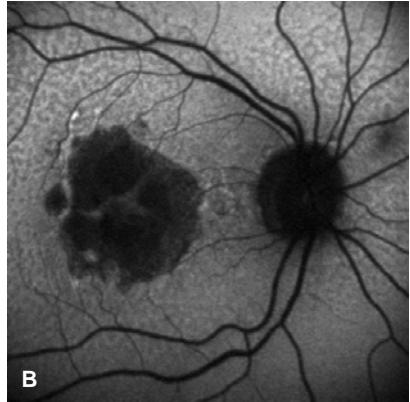
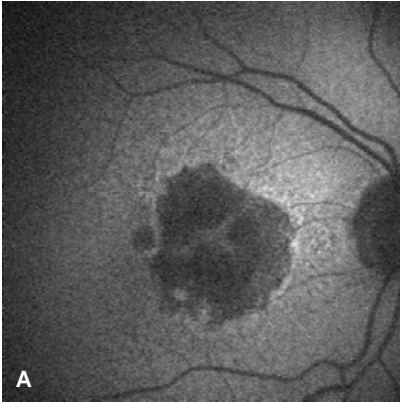
Atrophiefläche derartig groß, dass die Einstellung des Netzhautbildes auf die *gesamte* vorhandene Atrophiefläche schwierig bis unmöglich war (Abbildung 18).



**Abbildung 18** Beispiele für Qualitätskategorie „nicht auswertbar, weil Atrophie über Bild hinausgeht“. Die Atrophiefläche dieser beiden Augen verschiedener Patienten wird in dem Bildausschnitt nicht komplett abgebildet. Da eine Vermessung falsch niedrige Werte ergäbe, werden solche Aufnahmen von der Vermessung ausgeschlossen.

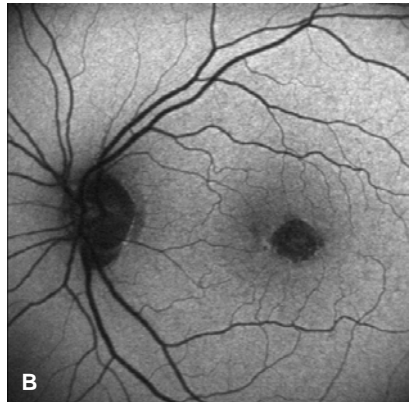
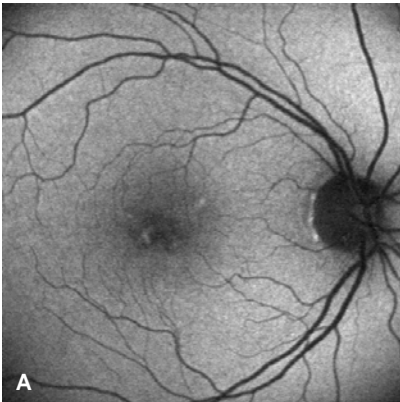
Auffallend groß war die Anzahl der wegen zu hohen Hintergrundrauschens oder unzureichender Ausleuchtung des Augenhintergrundes nicht für die Vermessung geeigneter Autofluoreszenzbilder (19,8%). Eventuell vorhandene Medientrübungen im Bereich der Hornhaut, der Vorderkammer, der Linse oder des Glaskörpers können dafür verantwortlich sein, weil sie zu einer veränderten Absorption des Laserlichtes führen. Bei den untersuchten Patienten waren es insbesondere die Linsentrübungen, die im fortgeschrittenen Alter wie bei der AMD eine große Rolle spielen. Nach Kataraktoperation kann dementsprechend aber auch wieder eine Verbesserung der Aufnahmequalität erreicht werden (Abbildung 19). Auch Augenbewegungen während der Aufnahme, falsche Bedienung des Gerätes oder eine zu geringe Dilatation der Pupille können eine schlechte Bildqualität bedingen.





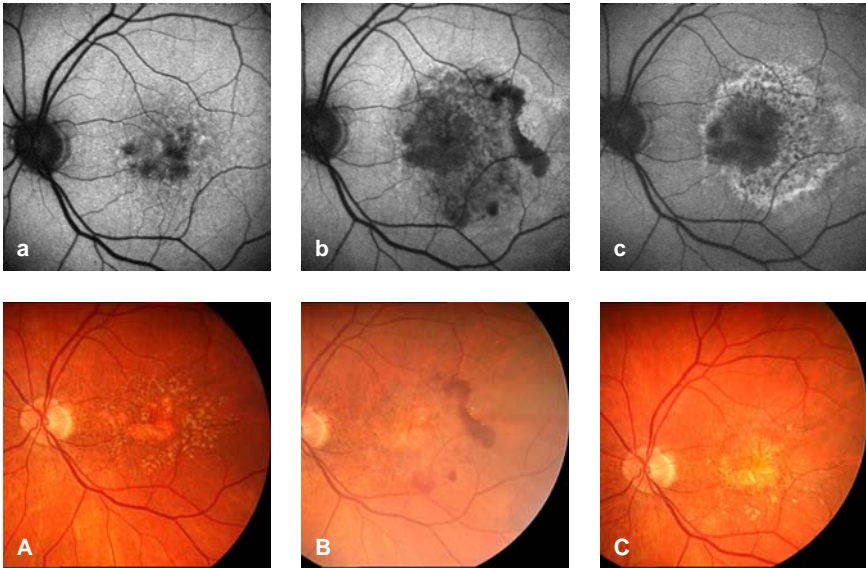
**Abbildung 19** Beispiel für schlechte Aufnahmequalität durch Linsentrübung. Aufnahme A vom 19.06.2001 zeigt hohes Hintergrundrauschen. Nach Kataraktoperation vom 13.09.2001 wird am 28.11.2001 (B) eine deutlich bessere Qualität erzielt.

42 Aufnahmen konnten nicht vermessen werden, da keine GA vorlag. Dies war z.B. der Fall, wenn das Partnerauge eines Patienten mit unilateraler GA, welches keine AMD oder eine frühe Form aufwies, ebenfalls in die Studie aufgenommen worden war (Abbildung 20).



**Abbildung 20** Beispiel für Kategorie „keine GA“. Rechtes (A) und linkes (B) Auge einer Patientin zum gleichen Untersuchungszeitpunkt. A wurde mit Kategorie „keine GA“, B mit Kategorie „auswertbar“ bewertet.

In Insgesamt 112 (8,0%) Aufnahmen lag eine CNV vor oder es bestand dringender Verdacht für diese aufgrund der Darstellung in der Fundusautofluoreszenzaufnahme. Entweder handelte es sich hierbei um das Partnerauge einer unilateralen Manifestation von GA oder um eine Neuentwicklung einer CNV während des Verlaufs der Studie (Abbildung 21).



**Abbildung 21** Entwicklung einer chorioidalen Neovaskularisation (CNV) im Verlauf. a-c Fundusautofluoreszenzaufnahmen, A-C Fundusphotographien. Fundusautofluoreszenz (FAF) und Fundusphotographie bei Erstuntersuchung (a und A) zeigen eine geographische Atrophie ohne Hinweis auf eine feuchte Komponente. 18 Monate (a) bzw. 24 Monate (c) später zeigt sich ein Ring erhöhter FAF, der eine mögliche Erscheinung von CNV in FAF-Aufnahmen darstellt (Dandekar et al. 2005; McBain et al. 2007). Zusätzlich deutet in b das Areal mit verminderter FAF temporal der Läsion auf eine Blutung hin, welche sich in der Fundusphotographie (B) bestätigt.

Die Aufnahmen, die für die Vermessung zwar ausreichende Qualität zeigten, aber aufgrund eines nicht akzeptablen Ergebnisses bei dem zusätzlich eingeführten Auswertungsschritt der Alignierung von der weiteren Analyse ausgeschlossen werden mussten, stellten mit 2,3% nur einen sehr geringen Anteil dar.

### 3.2 Progressionsraten

Longitudinale Messwerte der Atrophiegröße waren für 234 Augen von 156 Patienten mit uni- oder bilateraler GA verfügbar. Das Ergebnis der Modellierung (zweistufiges lineares Mixed Effects-Modell) ergab eine mittlere Progressionsrate von 1,551 mm<sup>2</sup>/Jahr; 95% KI [1,371-1,731] mit einer interindividuellen Variabilität von 0,976; 95% KI [0,823-1,157] und einer intraindividuellen Variabilität von 0,528; 95% KI [0,414-0,674]. Die geschätzte Fehlervarianz lag bei 0,212 mm<sup>2</sup>/Jahr; 95% KI [0,182-0,246].

Von den 156 Patienten waren 94 weiblich und 62 männlich. Das mediane Alter bei Einschluss in die Studie betrug 73 Jahre (Interquartilabstand 67-78). Die Patienten wurden über einen mittleren Beobachtungszeitraum von 2,39 Jahren (Interquartilabstand 1,36-3,97) [Median 3,0 Jahre (Interquartilabstand 1,8-5,0)] untersucht. 73,7% der Patienten wurden über einen Zeitraum von mehr als zwei Jahren untersucht (Tabelle 1). Bei 50% der Patienten lag der Beobachtungszeitraum zwischen 1,5 und 3,9 Jahren.

| <b>Beobachtungsdauer<br/>in Jahren</b> | <b>Anzahl der Patienten</b> |
|--|-----------------------------|
| 0 - 1                                  | 13                          |
| > 1 - 2                                | 28                          |
| > 2 - 3                                | 34                          |
| > 3 - 4                                | 25                          |
| > 4                                    | 56                          |

**Tabelle 1** Aufteilung der untersuchten Patienten nach Beobachtungsdauer in Jahren

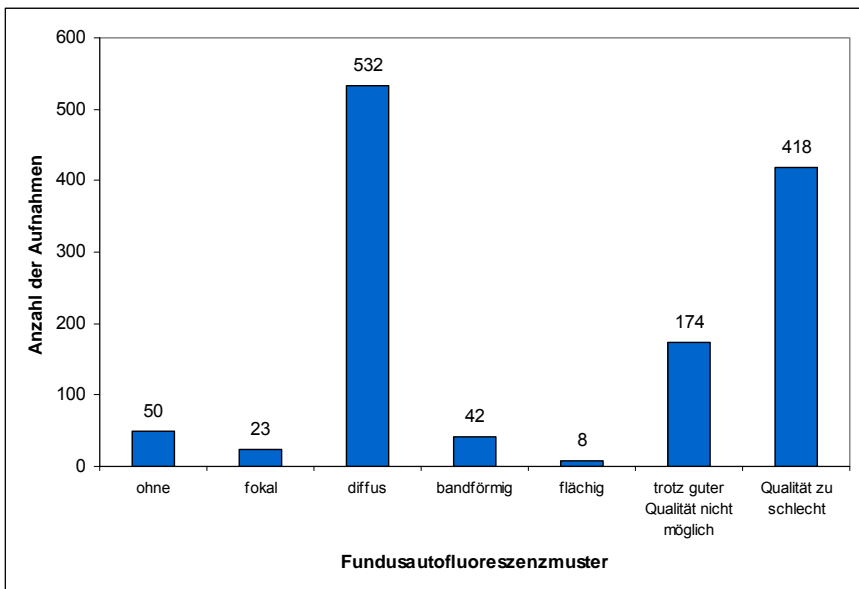
### 3.3 Fundusautofluoreszenzmuster

Die Bestimmung des Musters erhöhter Autofluoreszenz im Randbereich der GA wurde in den Augen vorgenommen, die tatsächlich von GA betroffen waren. Dies entsprach einer Anzahl an Autofluoreszenzaufnahmen von 1247. Aufnahmen, in denen keine GA

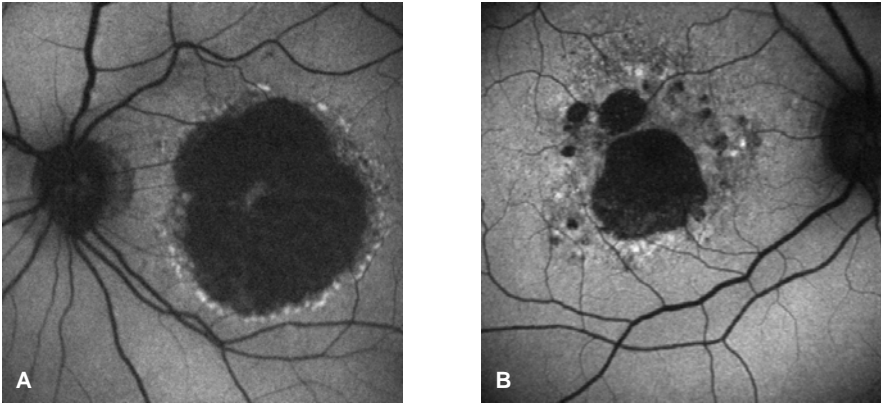
vorlag oder sich ein Hinweis auf eine exsudative Komponente zeigte (Qualitätskategorien „keine GA“, „CNV“ oder „hochverdächtig für CNV“) wurden nicht berücksichtigt.

Insgesamt 592 (47,5%) Aufnahmen konnte kein Muster zugeordnet werden, da hierfür entweder die Qualität zu schlecht war oder trotz guter Qualität kein vorherrschendes Muster ausgemacht werden konnte (Abbildung 22). Letzteres war z.B. dann der Fall, wenn in der gleichen Aufnahme Merkmale verschiedener Mustertypen zu finden waren (Abbildung 23). Hauptsächlich trugen die Aufnahmen mit zu hohem Hintergrundrauschen (Qualitätskategorie 3) zu dem hohen Anteil der wegen zu schlechter Qualität nicht bestimmbarer Fundusautofluoreszenzmuster bei.

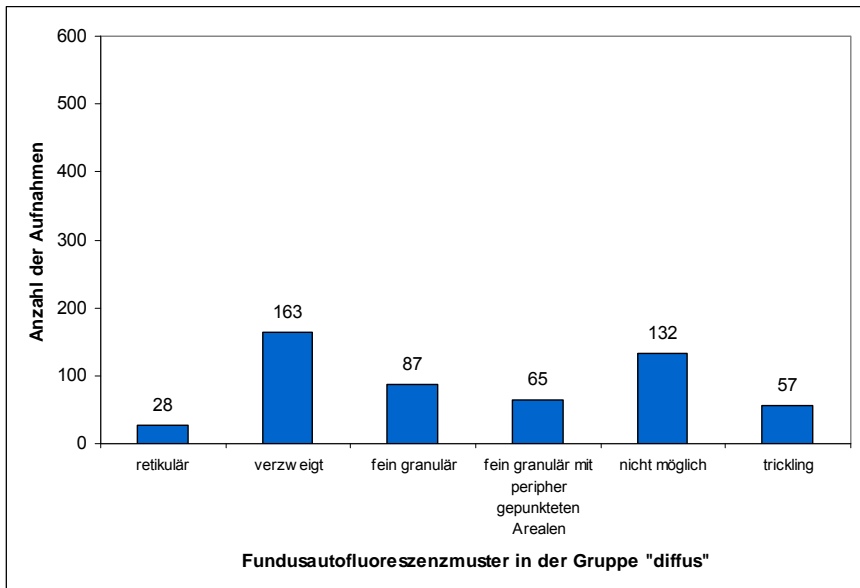
532 (42,7%) Aufnahmen zeigten den diffusen Mustertyp. Aufgrund fehlender spezifischer Autofluoreszenzeigenschaften konnte in 132 Aufnahmen der Gruppe „diffus“ keine weitere Unterteilung erfolgen (Abbildung 24).



**Abbildung 22** Absolute Häufigkeiten der einzelnen Mustergruppen. Insgesamt wurden 1247 Aufnahmen auf das Fundusautofluoreszenzmuster hin analysiert.

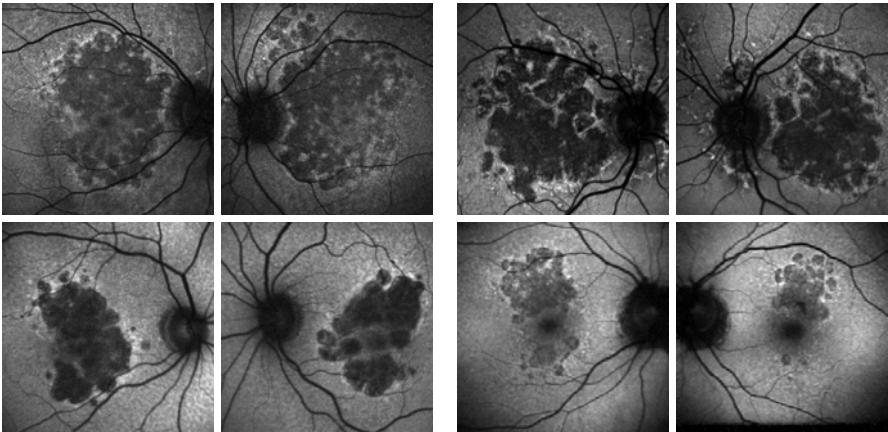


**Abbildung 23** Beispiele für die Musterkategorien „trotz guter Qualität nicht möglich“ (A) und „diffus / nicht möglich“ (B). In A ist eine sichere Unterscheidung zwischen „fokal“ und „bandförmig“ nicht möglich. In B kann zwar das Muster auf die Gruppe „diffus“ eingegrenzt werden, es finden sich aber sowohl Merkmale der Gruppe „diffus / fein granulär“ (v.a. oberhalb der Atrophie) als auch der Gruppe „diffus / verzweigt“ (v.a. unterhalb der Atrophie).



**Abbildung 24** Absolute Häufigkeiten der Untergruppen der Mustergruppe „diffus“

In 57 Aufnahmen wurde der Mustertyp „diffus / trickling“ identifiziert. Hierbei war die Intensität der Autofluoreszenz im direkt an die GA angrenzenden Bereich deutlich erhöht, um dann zur Peripherie hin allmählich zu verebben (Abbildung 25). Zusätzlich fiel auf, dass die Atrophiezonen sich hier vorwiegend nicht tief schwarz, sondern eher grau darstellten. Häufig machte die Konfiguration der Atrophie den Eindruck vieler verschmolzener Areale mit eingeschlossenen Inseln gesunder Netzhaut. Auch in Bezug auf die Progressionsrate unterschied sich diese Mustergruppe von den anderen diffusen Mustertypen (Kapitel 3.5.4).



**Abbildung 25** 4 Augenpaare als Beispiele für den Mustertyp „diffus / trickling“. Es fällt auf, dass die geographische Atrophie hier im Unterschied zu anderen Mustertypen teilweise eher grau als tief schwarz imponiert.

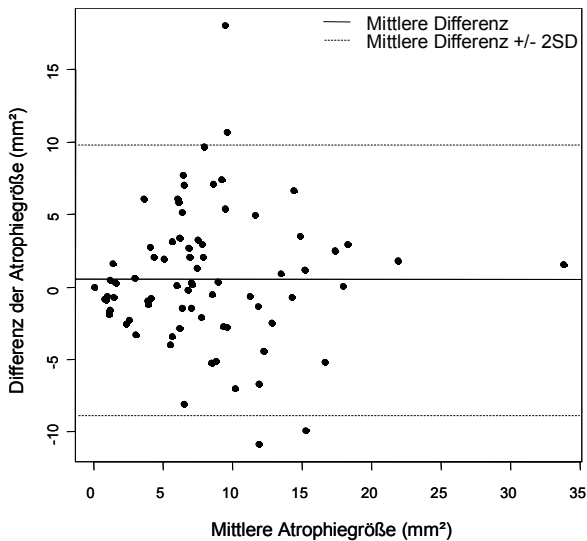
### 3.4 Symmetrie

Zu insgesamt 78 Patienten (47 weiblich, 31 männlich) waren bilaterale Vermessungsdaten verfügbar. Anhand dieser wurde das Maß an Übereinstimmung für die Parameter Atrophiegröße, Progressionsrate, Sehschärfe und Fundusautofluoreszenzmuster untersucht.

### 3.4.1 Symmetrie der Atrophiegröße

Bei Betrachtung der Atrophiegröße ergab sich ein CCC von 0,706; 95% KI [0,575-0,801], was für ein hohes Maß an Übereinstimmung zwischen linkem und rechtem Auge spricht.

Der Bland-Altman-Plot für die Atrophiegröße (Abbildung 26) hingegen deckte ein nicht unwesentliches Maß an mangelnder Übereinstimmung auf. Die Grenzen der Übereinstimmung erreichten nahezu 10 mm<sup>2</sup> sowohl in positive als auch in negative Richtung.



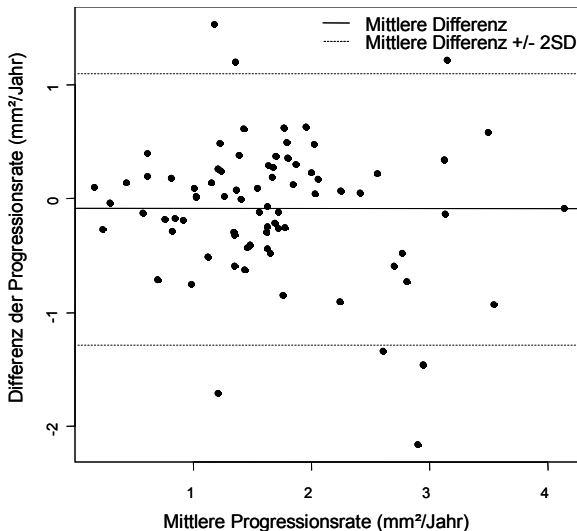
**Abbildung 26** Bland-Altman-Plot für die Atrophiegröße. Die Differenz zwischen linkem und rechtem Auge ist gegen die durchschnittliche Atrophiegröße jedes Patienten aufgetragen. Die durchgezogene Linie zeigt die mittlere Differenz an, die gestrichelten Linien beschreiben die Grenzen der Übereinstimmung.

### 3.4.2 Symmetrie der Progressionsrate

Das Ergebnis der Berechnung des CCC für die Progressionsrate betrug 0,756; 95% KI [0,644-0,837], was ein hohes Maß an Übereinstimmung zwischen linkem und rechtem Auge anzeigt.

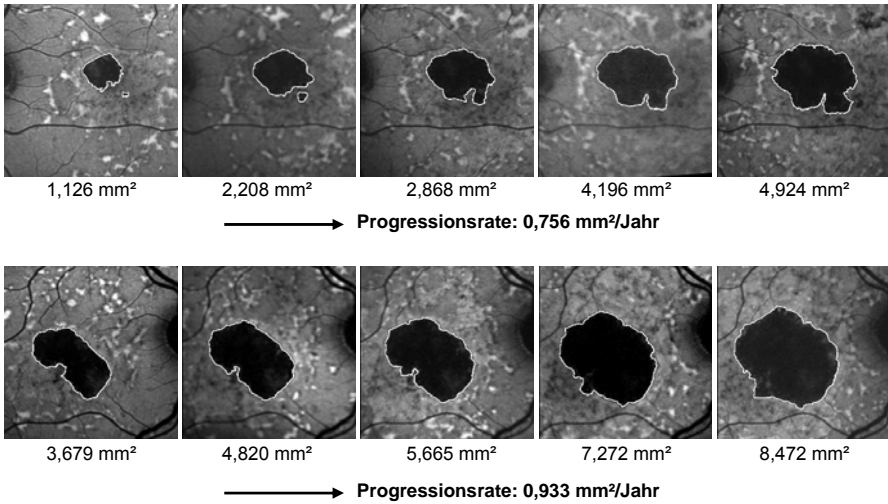
Der Bland-Altman-Plot (Abbildung 27) unterstützte das Resultat aus der Berechnung des CCC und deutete ebenfalls auf ein hohes Maß an intraindividuellem Symmetrie der Progressionsrate zwischen linkem und rechtem Auge hin. Besonders deutlich wurde dies aufgrund der engen Grenzen der Übereinstimmung, die von  $-1,271 \text{ mm}^2/\text{Jahr}$  bis  $1,102 \text{ mm}^2/\text{Jahr}$  reichten. Die Punktwolke war nah um die Linie der mittleren Differenz von  $-0,084 \text{ mm}^2/\text{Jahr}$  verteilt. Nichtsdestotrotz unterschieden sich die Progressionsraten zwischen linkem und rechtem bei wenigen Patienten aber auch erheblich.

Abbildung 28 zeigt ein Beispiel für die Zunahme der Atrophiegröße bei bilateral ähnlicher Progressionsrate.



**Abbildung 27** Bland-Altman-Plot für die Progressionsrate. Die Differenz zwischen linkem und rechtem Auge ist gegen die durchschnittliche Progressionsrate jedes Patienten aufgetragen. Die durchgezogene Linie zeigt die mittlere Differenz an, die gestrichelten Linien beschreiben die Grenzen der Übereinstimmung.



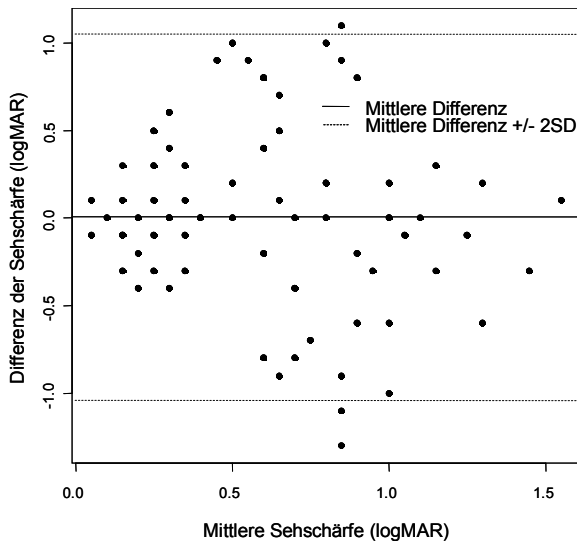


**Abbildung 28** Beispiel eines Verlaufs mit bilateral ähnlichlicher Progressionsrate. Linkes (obere Reihe) und rechtes (untere Reihe) Auge eines Patienten mit GA über einen Zeitraum von fünf Jahren.

### 3.4.3 Symmetrie der Sehschärfe

Für die Sehschärfe lag der CCC bei 0,310; 95% KI [0,097-0,495]. Hier ist demnach von einer geringen Übereinstimmung zwischen linkem und rechtem Auge auszugehen.

Aus dem Bland-Altman-Plot (Abbildung 29) war zu entnehmen, dass die Spannweite der Differenzen der Sehschärfen von linkem und rechtem Auge ähnlich groß war wie die Spannweite der mittleren Sehschärfen der Patienten. Die Grenzen der Übereinstimmung lagen bei mehr als einer logMAR Einheit und die Punktwolke war stark um die Linie der mittleren Differenz gestreut. Der Bland-Altman-Plot deckte somit eine beträchtliche intraindividuelle Variation der Sehschärfe auf.



**Abbildung 29** Bland-Altman-Plot für die Sehschärfe in logMAR. Die Differenz zwischen linkem und rechtem Auge ist gegen die durchschnittliche Sehschärfe jedes Patienten aufgetragen. Die durchgezogene Linie zeigt die mittlere Differenz an, die gestrichelten Linien beschreiben die Grenzen der Übereinstimmung.

### 3.4.4 Symmetrie der Fundusautofluoreszenzmuster

Die Zuordnung eines konkreten Mustertyps in linkem und rechtem Auge zum gleichen Untersuchungszeitpunkt war bei 39 der 78 Patienten möglich. Identische Fundusautofluoreszenzmuster in beiden Augen zeigten sich bei 33 (84,6%) der 39 Patienten (Tabelle 2).

|                    |    | Muster rechtes Auge |   |    |    |    |    |    |   |   |
|--------------------|----|---------------------|---|----|----|----|----|----|---|---|
|                    |    | 1                   | 2 | 31 | 32 | 33 | 34 | 36 | 4 | 5 |
| Muster linkes Auge | 1  | 1                   |   |    |    |    |    |    | 1 |   |
|                    | 2  |                     | 1 |    |    |    |    |    |   |   |
|                    | 31 |                     |   | 2  | 1  |    |    |    |   |   |
|                    | 32 |                     |   |    | 10 | 2  |    |    |   |   |
|                    | 33 |                     |   |    | 1  | 5  |    |    |   |   |
|                    | 34 |                     |   |    |    |    | 6  |    |   |   |
|                    | 36 |                     |   |    |    |    |    | 5  |   |   |
|                    | 4  |                     |   | 1  |    |    |    |    |   | 3 |
|                    | 5  |                     |   |    |    |    |    |    |   |   |

**Tabelle 2** Vergleich der Fundusautofluoreszenzmuster in linken und rechten Augen bei 39 Patienten. Angegeben ist die Anzahl an Patienten. Mustergruppen sind wie folgt beziffert:

1 = ohne

2 = fokal

31 = diffus / retikulär

32 = diffus / verzweigt

33 = diffus / fein granulär

34 = diffus / fein granulär mit peripher gepunkteten Arealen

36 = diffus / trickling

4 = bandförmig

5 = flächig

Bei Zusammenfassung aller diffusen Autofluoreszenzmuster in eine Kategorie (3x) und unter zusätzlicher Berücksichtigung der Mustergruppe „diffus / nicht möglich“ war die Zuordnung des Mustertyps in linkem und rechtem Auge zum gleichen Untersuchungszeitpunkt bei 52 der 78 Patienten möglich und ergaben sich identische Autofluoreszenzmuster bei 47 (90,4%) der 52 Patienten (Tabelle 3).

|                    | Muster rechtes Auge |   |   |    |   |   |
|--------------------|---------------------|---|---|----|---|---|
|                    |                     | 1 | 2 | 3x | 4 | 5 |
| Muster linkes Auge | 1                   | 1 |   | 1  | 1 |   |
|                    | 2                   |   | 1 | 2  |   |   |
|                    | 3x                  |   |   | 42 |   |   |
|                    | 4                   |   |   | 1  | 3 |   |
|                    | 5                   |   |   |    |   |   |
|                    |                     |   |   |    |   |   |

**Tabelle 3** Vergleich der Fundusautofluoreszenzmuster in linken und rechten Augen bei 52 Patienten. Angegeben ist die Anzahl an Patienten. Mustergruppen sind wie folgt beziffert:

1 = ohne

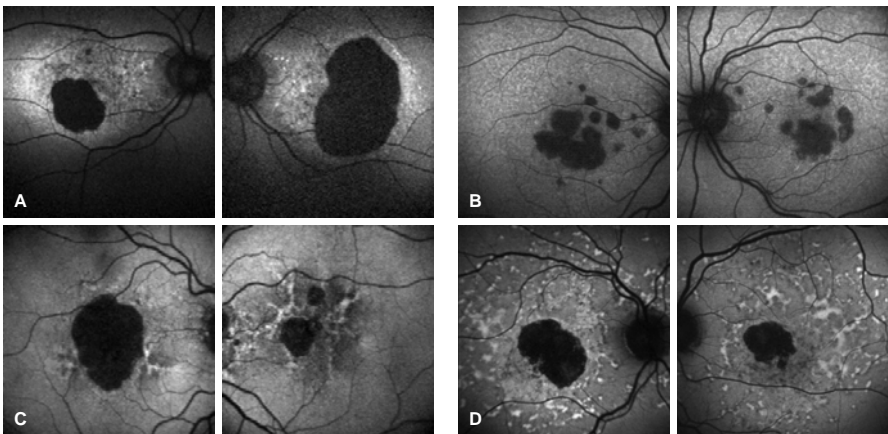
2 = fokal

3x = diffus mit beliebiger Untergruppe

4 = bandförmig

5 = flächig

Die Fundusautofluoreszenzmuster zeigten ein hohes Maß an intraindividuellem Symmetrie, während sie sich interindividuell deutlich unterschieden. Beispiele, die den symmetrischen Charakter der Muster demonstrieren, sind in Abbildung 30 illustriert.



**Abbildung 30** Beispiele für identische Fundusautofluoreszenzmuster in beiden Augen zum gleichen Untersuchungszeitpunkt. Augenpaar A: diffus / fein granulär; Augenpaar B: ohne; Augenpaar C: diffus / retikulär; Augenpaar D: diffus / fein granulär mit peripher gepunkteten Arealen

## 3.5 Risikofaktoren

### 3.5.1 Uni- oder bilaterale Manifestation

Bei dieser Auswertung wurden insgesamt 121 Patienten mit bilateraler Manifestation geographischer Atrophie gezählt. Hier wurden auch solche bilateral betroffenen Patienten eingeschlossen, zu denen nur unilateral Daten zur Vermessung der Atrophiegröße verfügbar waren. Die Zahlen der Patienten mit der Diagnose frühe AMD oder CNV im Partnerauge waren demgegenüber deutlich kleiner (Tabelle 4).

Die niedrigste populationsspezifische mittlere Progressionsrate ergab sich für die Patienten, bei denen im Partnerauge lediglich Drusen, Hyper- oder Hypopigmentationen oder eine Atrophiefläche kleiner als 0,05 mm<sup>2</sup> vorlagen. Die schnellste Progressionsrate wurde bei den Patienten mit bilateraler Manifestation beobachtet (Tabelle 4). Aufgrund der niedrigen Zahl an Beobachtungen für die Gruppen „frühe AMD“ und „CNV“ sind hier die Konfidenzintervalle deutlich breiter als in der Gruppe „bilateral“ (Abbildung 31).

| Gruppe    | Anzahl Patienten | Populationsspezifische mittlere Progressionsrate  |
|-----------|------------------|---|
| bilateral | 121              | 1,717 mm <sup>2</sup> /Jahr; 95% KI [1,522-1,912] |
| frühe AMD | 14               | 0,736 mm <sup>2</sup> /Jahr; 95% KI [0,114-1,358] |
| CNV       | 23               | 1,239 mm <sup>2</sup> /Jahr; 95% KI [0,772-1,705] |

**Tabelle 4** Verteilung der Patienten entsprechend der Diagnose des Partnerauges zum Zeitpunkt der Erstuntersuchung mit Angabe der jeweiligen populationsspezifischen mittleren Progressionsrate

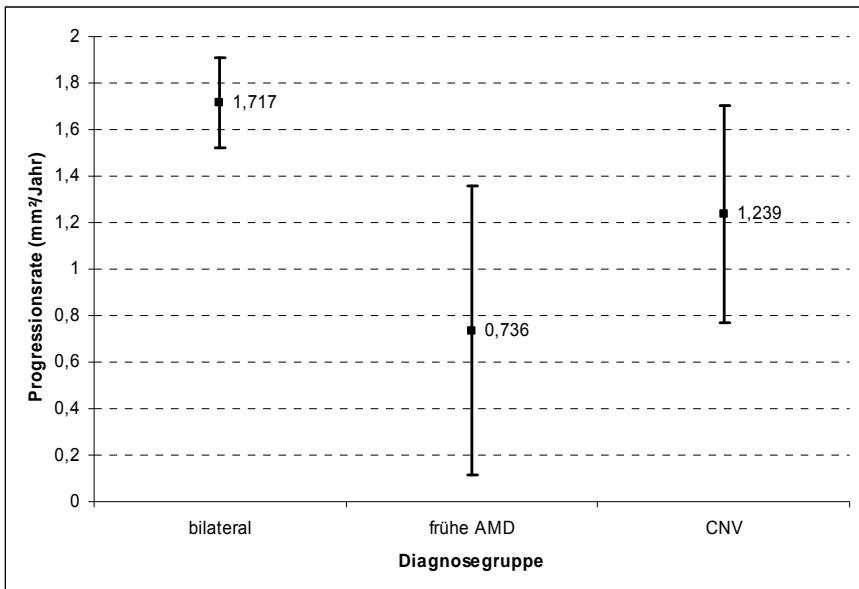
Die Progressionsrate in der Gruppe „frühe AMD“ war signifikant niedriger als in der Gruppe „bilateral“ ( $p=0,0033$ , bedingter F-Test). In der Gruppe „frühe AMD“ lag eine Reduktion der mittleren Progressionsrate um 0,981 mm<sup>2</sup>/Jahr gegenüber der Progressionsrate in der Gruppe „bilateral“ vor (Tabelle 5). In der Gruppe „CNV“ war die Progressionsrate zwar ebenfalls niedriger im Vergleich zu der bei bilateraler Manifestation (Tabelle 5). Hier ergab sich aber kein signifikanter Unterschied auf dem 5% Signifikanzniveau ( $p=0,0642$ , bedingter F-Test).

Bei Zusammenfassung der beiden unilateralen Gruppen (frühe AMD + CNV) ließ sich bei den bilateralen Patienten eine signifikant schnellere Krankheitsprogression feststellen als bei unilateraler Manifestation ( $p=0,0019$ , bedingter F-Test).

| Verglichene Diagnosegruppen   | Differenz der mittleren Progressionsraten             |
|-------------------------------|---|
| frühe AMD vs. bilateral       | -0,981 mm <sup>2</sup> /Jahr; 95% KI [-1,634; -0,328] |
| CNV vs. bilateral             | -0,478 mm <sup>2</sup> /Jahr; 95% KI [-0,985; 0,028]  |
| bilateral vs. frühe AMD + CNV | +0,698 mm <sup>2</sup> /Jahr; 95% KI [0,258; 1,139]   |

**Tabelle 5** Differenz der mittleren Progressionsraten zwischen verschiedenen Diagnosegruppen

Insgesamt konnte gezeigt werden, dass der Diagnosestatus des Partnerauges einen signifikanten Einfluss auf die Krankheitsprogression besaß ( $p=0,0042$ , bedingter F-Test).



**Abbildung 31** Populationsspezifische mittlere Progressionsraten mit 95%-Konfidenzintervallen aufgetragen gegen die einzelnen Diagnosegruppen

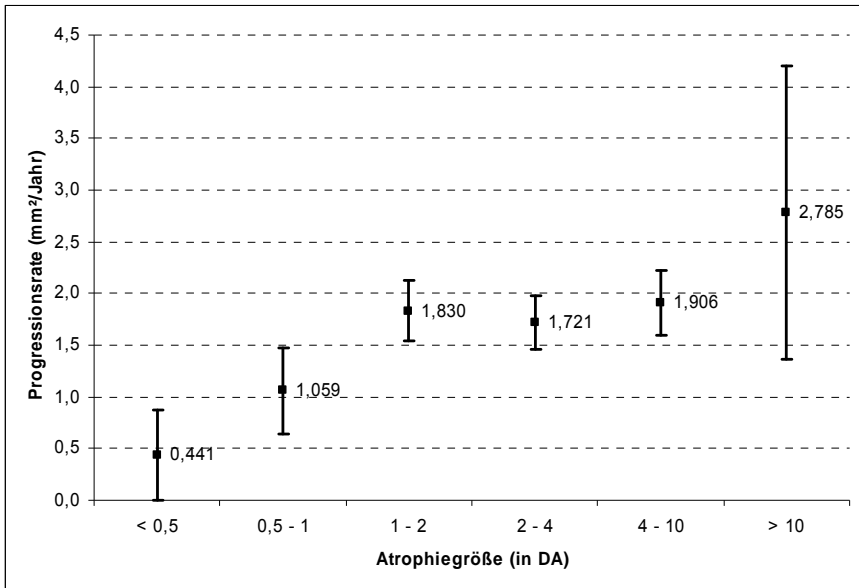
### 3.5.2 Atrophiegröße

Abgesehen von der Abnahme der mittleren Progressionsrate in der Gruppe „2 - 4 DA“ gegenüber der Gruppe „1 - 2 DA“ war tendenziell mit zunehmender Atrophiegröße zum Zeitpunkt der frühesten Vermessung eine größere Progressionsrate zu beobachten (Tabelle 6).

Insgesamt lag ein rechnerisch signifikanter Einfluss der Atrophiegröße auf die Progressionsrate vor ( $p < 0,0001$ , bedingter F-Test). Ein lineares Wachstum der Fläche geographischer Atrophie konnte aber dennoch nicht ausgeschlossen werden, da sich die benachbarten 95%-Konfidenzintervalle teilweise erheblich überschneiden. Eine Ausnahme bildeten die Konfidenzintervalle der Gruppen „0,5 - 1 DA“ und „1 - 2 DA“, bei denen keine Überschneidung festgestellt wurde. Das Konfidenzintervall in der Gruppe „> 10 DA“ war wegen der geringen Zahl an Beobachtungen sehr breit (Abbildung 32).

| <b>Atrophie<br/>(in DA)</b> | <b>Atrophie<br/>(in mm<sup>2</sup>)</b> | <b>Anzahl<br/>Augen</b> | <b>Populationsspezifische mittlere<br/>Progressionsrate</b> |
|-----------------------------|---|-------------------------|---|
| < 0,5                       | < 1,27                                  | 25 (10,50%)             | 0,441 mm <sup>2</sup> /Jahr; 95% KI [0,006-0,876]           |
| 0,5 - 1                     | 1,27 - 2,54                             | 26 (10,92%)             | 1,059 mm <sup>2</sup> /Jahr; 95% KI [0,646-1,473]           |
| 1 - 2                       | 2,55 - 5,08                             | 52 (21,85%)             | 1,830 mm <sup>2</sup> /Jahr; 95% KI [1,538-2,122]           |
| 2 - 4                       | 5,09 - 10,16                            | 76 (31,93%)             | 1,721 mm <sup>2</sup> /Jahr; 95% KI [1,463-1,980]           |
| 4 - 10                      | 10,17 - 25,4                            | 56 (23,53%)             | 1,906 mm <sup>2</sup> /Jahr; 95% KI [1,591-2,220]           |
| > 10                        | > 25,4                                  | 3 (1,26%)               | 2,785 mm <sup>2</sup> /Jahr; 95% KI [1,363-4,206]           |

**Tabelle 6** Verteilung der vermessenen Augen entsprechend der Atrophiegröße zum Zeitpunkt der frühesten Vermessung mit Angabe der jeweiligen populationsspezifischen mittleren Progressionsrate

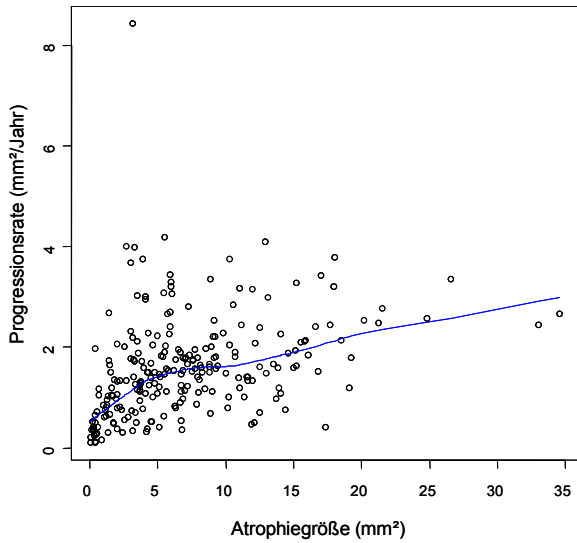


**Abbildung 32** Populationsspezifische mittlere Progressionsraten mit 95%-Konfidenzintervallen aufgetragen gegen die einzelnen Untergruppen der Atrophiegröße in DA

Das Streudiagramm in Abbildung 33 zeigt eine leichte positive Korrelation zwischen Atrophiegröße und Progression. Zwischen Augen mit ähnlicher Atrophiegröße fallen aber teilweise große Unterschiede in der Progressionsrate auf.

In Augen mit einer Atrophiegröße kleiner als 1 DA wurde eine um 0,926 mm²/Jahr niedrigere mittlere Progressionsrate geschätzt als in Augen mit einer Atrophiegröße größer oder gleich 1 DA (95% KI [1,278-0,573]). Die Progressionsrate hing davon ab, ob die Atrophiegröße kleiner als 1 DA war oder nicht ( $p < 0,0001$ , bedingter F-Test).

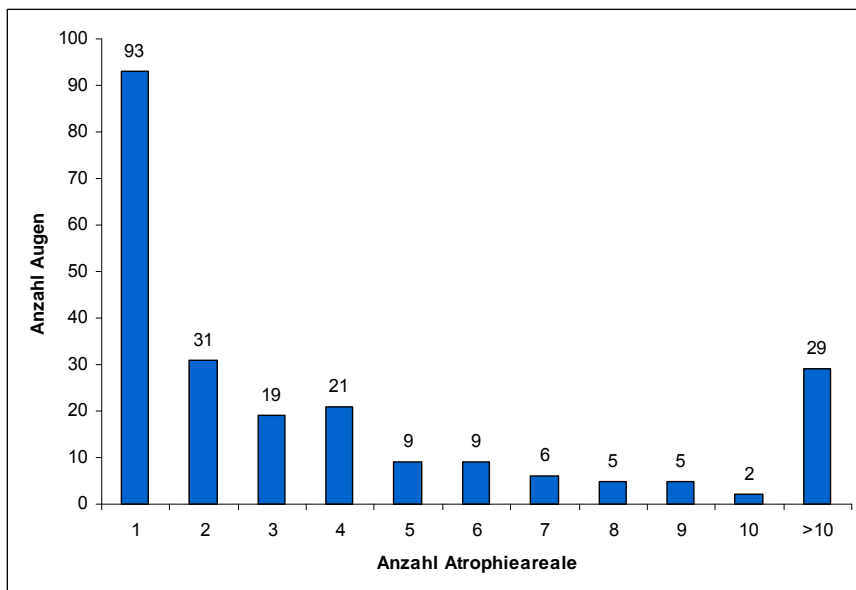




**Abbildung 33** Streudiagramm, welches die Progressionsrate der vermessenen Augen als Funktion der Atrophiegröße zum Zeitpunkt der frühesten Vermessung darstellt. Blau: Lowess-Kurve

### 3.5.3 Anzahl der Atrophieareale

Multifokalität (59,39%) trat bei den untersuchten Augen häufiger auf als Unifokalität (40,61%). Die Verteilung aufgeschlüsselt nach der genauen Anzahl an Atrophiearealen zeigt Abbildung 34.



**Abbildung 34** Verteilung der untersuchten Augen nach der Anzahl an Atrophiearealen

Bei Augen mit multifokaler Atrophie war die mittlere Progressionsrate um 0,129 mm<sup>2</sup>/Jahr größer als bei Augen mit unifokaler Atrophie (95% KI [0,014-0,245]). Die Gesamtatrophiefläche bei multifokaler Ausprägung wuchs somit schneller als bei unifokaler Manifestation (p=0,0284, bedingter F-Test).

In Augen mit 2 - 4 Atrophiearealen war die mittlere Progressionsrate um 0,119 mm<sup>2</sup>/Jahr größer als bei Augen mit unifokaler Atrophie (95% KI [0,002-0,238]). Bei mehr als 4 Arealen war sie um 0,178 mm<sup>2</sup>/Jahr größer als bei Augen mit unifokaler Atrophie (95% KI [0,024-0,333]). Die Progressionsrate hing signifikant von der Anzahl der Atrophieareale ab (p=0,0198, bedingter F-Test).

### 3.5.4 Fundusautofluoreszenzmuster

Die Verteilung der Mustergruppen zum Zeitpunkt der frühesten Vermessung ergab sich wie in Tabelle 7 dargestellt. Für die Mustergruppe „flächig“ waren nur zwei Beobachtungen vorhanden, so dass diese beiden Augen von der Auswertung ausgeschlossen wurden.

| Autofluoreszenzmuster                            | Anzahl Augen |
|--|--------------|
| ohne   | 10           |
| fokal  | 10           |
| diffus   | 127          |
| (retikulär)                                      | (11)         |
| (verzweigt)                                      | (38)         |
| (fein granulär)                                  | (18)         |
| (fein granulär mit peripher gepunkteten Arealen) | (12)         |
| (nicht möglich)                                  | (35)         |
| (trickling)                                      | (13)         |
| bandförmig                                       | 9            |
| flächig  | 2            |
| trotz guter Qualität nicht möglich               | 39           |
| Qualität zu schlecht                             | 41           |

**Tabelle 7** Absolute Häufigkeiten der verschiedenen Mustertypen bei Berücksichtigung der Aufnahmen zum Zeitpunkt der frühesten Vermessung

In den Mustergruppen „bandförmig“ und „diffus“ ergaben sich größere Progressionsraten als in den Gruppen „ohne“ und „fokal“ (Tabelle 8). Die Konfidenzintervalle der Gruppen „bandförmig“ und „diffus“ überschneiden sich nur wenig mit denen der Gruppen „ohne“ und „fokal“.

| <b>Autofluoreszenzmuster</b> | <b>Populationspezifische mittlere Progressionsrate</b> |
|------------------------------|--|
| ohne                         | 0,807 mm <sup>2</sup> /Jahr; 95% KI [0,104-1,510]      |
| fokal                        | 0,971 mm <sup>2</sup> /Jahr; 95% KI [0,400-1,542]      |
| bandförmig                   | 1,885 mm <sup>2</sup> /Jahr; 95% KI [1,225-2,546]      |
| diffus                       | 1,637 mm <sup>2</sup> /Jahr; 95% KI [1,450-1,832]      |

**Tabelle 8** Aufstellung der populationspezifischen mittleren Progressionsraten zu den einzelnen Mustergruppen

Der Interaktionseffekt zwischen dem Fundusautofluoreszenzmuster zum Zeitpunkt der frühesten Vermessung und der Progressionsrate war signifikant von Null verschieden, d. h. die Wachstumsgeschwindigkeit geographischer Atrophie wurde vom Mustertyp beeinflusst ( $p=0,01$ , bedingter F-Test).

Der Tabelle 9 ist zu entnehmen, dass der Mustertyp „diffus / trickling“ mit 2,967 mm<sup>2</sup>/Jahr eine deutlich höhere Progressionsrate aufwies als die anderen Vertreter der diffusen Mustergruppe. Der Interaktionseffekt zwischen dem Autofluoreszenzmuster in der Mustergruppe „diffus“ und der Progressionsrate war signifikant von Null verschieden ( $p<0,0001$ , bedingter F-Test).

| <b>Autofluoreszenzmuster in der Mustergruppe „diffus“</b> | <b>Populationspezifische mittlere Progressionsrate</b> |
|---|--|
| retikulär   | 1,003 mm <sup>2</sup> /Jahr; 95% KI [0,519-1,486]      |
| verzweigt   | 1,460 mm <sup>2</sup> /Jahr; 95% KI [1,162-1,759]      |
| fein granulär   | 1,962 mm <sup>2</sup> /Jahr; 95% KI [1,495-2,429]      |
| fein granulär mit peripher gepunkteten Arealen            | 1,471 mm <sup>2</sup> /Jahr; 95% KI [0,823-2,119]      |
| trickling   | 2,967 mm <sup>2</sup> /Jahr; 95% KI [2,271-3,663]      |

**Tabelle 9** Aufstellung der populationspezifischen mittleren Progressionsraten zu den einzelnen Untergruppen der Mustergruppe „diffus“

## 4 Diskussion

### 4.1 Erfassung der Fundusautofluoreszenz

Die konfokale Scanning-Laser-Ophthalmoskopie erlaubt die topographische Erfassung der Fundusautofluoreszenz *in vivo*. Mithilfe der Fundusautofluoreszenz können metabolische Veränderungen auf der Ebene des RPE dargestellt werden, welche mit konventionellen Untersuchungsmethoden nicht erfasst werden (Bindewald et al. 2005b; Holz et al. 1999a).

Die autofluoreszenten Eigenschaften der kristallinen Linse stellen grundsätzlich einen Störfaktor der Fundusautofluoreszenz dar (Spaide 2007). Konfokale Scanning-Laser-Ophthalmoskope umgehen größtenteils dieses Problem mittels konfokalen Strahlengangs, welcher die Detektion von Signalen aus einer bestimmten Ebene - hier der Fundusebene - zulässt, während störendes Licht aus darüber oder darunter gelegenen Schichten abgeschirmt wird (Bindewald et al. 2005b). Durch die Minimierung von Streulichteffekten wird der Bildkontrast gesteigert (Schmitz-Valckenberg et al. 2007a). Da aber die Intensität des Fundusautofluoreszenzsignals im Vergleich zu der bei Fluoreszenzangiographie sehr niedrig ist, besteht bei Einzelbildern der Fundusautofluoreszenz ein *per se* geringer Bildkontrast. Um den Bildkontrast zu erhöhen und das Hintergrundrauschen zu reduzieren, wurde in der FAM-Studie jeweils ein gemittelt Bild aus mehreren Einzelbildern berechnet. Dieses Vorgehen wird in mehreren Arbeiten berichtet (Bellmann et al. 1997; Bindewald et al. 2005b; Jorzik et al. 2005; von Rückmann et al. 1995) und erlaubt das Erkennen von mehr Details in Fundusautofluoreszenzaufnahmen (Schmitz-Valckenberg et al. 2008a).

Die so genannte „ART-Software“ (Automatic Real-Time) als Bestandteil der kontinuierlichen Weiterentwicklung der konfokalen Scanning-Laser-Ophthalmoskopie verspricht in zukünftigen Studien eine weitere Verbesserung der Bildqualität durch Kompensation von Augenbewegungen (Schmitz-Valckenberg et al. 2007b). Hierbei werden *während* der Bildakquisition von bis zu 100 Einzelaufnahmen diese entsprechend automatisch detektierter Landmarken am Fundus in Echtzeit aligniert und gemittelt. Aufnahmen, bei denen keine Landmarken detektiert werden können (z.B. infolge kurzzeitigen Lidschlusses), werden zeitgleich verworfen.

Bisher sind verschiedene cSLO-Systeme zur Erfassung der Fundusautofluoreszenz verwendet worden: Heidelberg Retina Angiograph (Heidelberg Engineering, Heidelberg), Rodenstock cSLO (Rodenstock, Weco, Düsseldorf) und Zeiss Prototyp SM 30 4024 (Zeiss, Oberkochen). Beim Vergleich der verschiedenen cSLO-Systeme haben Bellmann und Mitarbeiter festgestellt, dass alle drei Systeme klinisch verwertbare Fundusautofluoreszenzbilder liefern, hinsichtlich Bildkontrast und Grauwertverteilung allerdings signifikante Unterschiede bestehen (Bellmann et al. 2003). Diese Unterschiede müssen bei der Auswertung von Fundusautofluoreszenzbildern berücksichtigt werden, welche mit unterschiedlichen Systemen erfasst wurden.

Neben der konfokalen Scanning-Laser-Ophthalmoskopie stellt die Verwendung einer Funduskamera in Kombination mit geeigneten Filtern für Erregungs- und Emissionslicht eine alternative Aufnahme modalität der Fundusautofluoreszenz dar. Eine kommerziell erhältliche Modifikation der Funduskamera ist die von Spaide (Spaide 2003). Um die Linsenfluoreszenz zu umgehen, verwendet Spaide Filter mit höheren Wellenlängen (Erregungsbandbreite: 500 - 610 nm; Emissionsbandbreite: 675 - 715 nm). Im direkten Vergleich einer auf diese Weise modifizierten Funduskamera mit dem HRA 2 an einem von GA bei AMD betroffenen Patientenkollektiv konnten Schmitz-Valckenberg und Mitarbeiter zeigen, dass eine Quantifikation der Atrophiefläche auf Grundlage beider Geräte ähnlich zuverlässig geschehen kann (Schmitz-Valckenberg et al. 2008a). Andererseits können mit der Funduskamera Muster erhöhter Autofluoreszenz und somit entscheidende prognostische phänotypische Merkmale schlechter erfasst werden, was sich vermutlich auf die fehlende Konfokalität und die Erfassung von Einzelbildern anstatt gemittelter Bilder wie beim HRA 2 zurückführen lässt (Schmitz-Valckenberg et al. 2008a). Neben dem Lipofuszin gibt es am Fundus andere Fluorophore, die nicht alle im RPE angesiedelt sind und unterschiedliche spektrale Eigenschaften aufweisen (Schweitzer et al. 2007). Die Verwendung höherer Wellenlängen bei der modifizierten Funduskamera lässt einen im Vergleich zum cSLO zu einem gewissen Grad unterschiedlichen Autofluoreszenzursprung vermuten, einerseits weil langwelligeres Licht besser in tiefe Gewebeschichten vordringt, andererseits durch das Ansprechen von Fluorophoren mit anderen Fluoreszenzspektren (Spaide 2007).

Kürzlich wurde das so genannte Spectralis HRA+OCT (Heidelberg Engineering, Heidelberg) neu entwickelt, welches simultan vertikale Schnittbilder mit „spectral-domain“ Optischer Kohärenztomographie (SD-OCT, 870 nm, 40.000 A-Scans/Sekunde) und topographische Fundusautofluoreszenzaufnahmen mit cSLO (Erregungswellenlänge: 488 nm; Emissionsbandbreite: > 500 nm) erfassen kann. Damit besteht die Möglichkeit, die Darstellung korrespondierender Netzhautabschnitte in beiden Verfahren direkt miteinander zu vergleichen. Erste Studien zur Anwendung dieses Gerätes lassen einen großen Beitrag zum besseren Verständnis pathogenetischer Zusammenhänge erhoffen (Coscas et al. 2008; Fleckenstein et al. 2008; Wolf-Schnurrbusch et al. 2008).

## **4.2 Qualität der Fundusautofluoreszenzaufnahmen**

Die Bewertung der Qualität jeder einzelnen Fundusautofluoreszenzaufnahme vor der Vermessung soll sicherstellen, dass nur verlässliche Messwerte in die Auswertung eingehen. In dem in dieser Arbeit verfolgten Ansatz wurde nur eine Gruppe (Qualität=1) für die Vermessung zugelassen. Die Untergliederung der nicht vermessungsfähigen Bilder gibt Auskunft über die Ursachen für deren Ausschluss.

In der vorliegenden Arbeit liegt der Anteil an Aufnahmen, die wegen zu hohen Hintergrundrauschens von der Vermessung ausgeschlossen werden mussten bei ca. 20%. Auch in anderen Untersuchungen sind Medientrübungen, Augenbewegungen während der Bildakquisition oder hohe Aberrationsfehler, insbesondere Astigmatismen, immer wieder für teilweise schlechte Bildqualität verantwortlich (Bindewald et al. 2005a; Bindewald et al. 2005b; Holz et al. 2007; von Rückmann et al. 1995). Gerade in dem beobachteten Alterskollektiv (medianes Alter bei Einschluss in die Studie: 73 Jahre, s. Kapitel 3.2) treten mehr oder weniger stark ausgeprägte Linsentrübungen bei fast allen Patienten auf. Eine bei manchen Patienten beobachtete unzureichende Dilatation der Pupille trotz großzügiger Anwendung von Tropicamide-Lösung führt zusätzlich zu einer schlechten Ausleuchtung des Augenhintergrundes und somit zu einer Verringerung der Autofluoreszenzintensität.

In zukünftigen Studien könnte theoretisch die Bildqualität verbessert werden, indem den beobachteten Patienten frühzeitig eine Kataraktoperation angeboten würde. Einige

Studien weisen darauf hin, dass durch einen solchen Eingriff die Progression der AMD vorangetrieben werden könnte (Cugati et al. 2006; Klein et al. 2004), andere können hier keinen klaren Effekt nachweisen (Chew et al. 2009). Über möglicherweise existierende pathophysiologische Zusammenhänge besteht aber bisher wenig Klarheit (Sutter et al. 2007). Bei bereits fortgeschrittener Makuladegeneration sind erhebliche Verbesserungen der Sehschärfe durch eine Kataraktoperation kaum zu erwarten. Allerdings verspüren die Patienten mit Linsenersatz häufig eine subjektive Verbesserung.

Als Limitation der vorgenommenen Einteilung nach Bildqualität muss die teilweise subjektive Entscheidungsfindung angesehen werden. So erfolgt die Unterscheidung zwischen auswertbaren Aufnahmen und solchen, die ein zu hohes Hintergrundrauschen aufweisen, auf Grundlage der Einschätzung durch den Untersucher. Eine fest definierte Entscheidungsgrenze wäre aber nicht zielführend, da das für die Vermessung gerade noch annehmbare Ausmaß an Hintergrundrauschen auch von der Konfiguration der GA abhängt. Eine unifokale, rundlich geformte Atrophie ohne eingeschlossene Inseln von gesunder Netzhaut, umgeben von bandförmig erhöhter Autofluoreszenz, kann z.B. auch bei höherem Hintergrundrauschen durchaus vermessen werden, während Aufnahmen von anderen Atrophien, wie sie z.B. gehäuft beim Autofluoreszenzmuster „diffus / trickling“ auftreten, geringeren Spielraum für die Qualität bieten.

Aufnahmen, in denen der Bildausschnitt zu klein ist, um die gesamte Atrophie zu erfassen, wurden nicht vermessen, da dies zu einer Unterschätzung der Atrophiefläche geführt hätte. Nach dem gleichen Prinzip gehen Sunness und Mitarbeiter vor (Sunness et al. 2007a). Eine andere Vorgehensweise aus der gleichen Arbeitsgruppe beinhaltet die Anwendung einer in allen Aufnahmen eines Verlaufs einheitlichen Demarkationslinie, basierend auf der Aufnahme mit dem am wenigsten nach peripher reichenden Bildausschnitt (Sunness et al. 1999a).

### **4.3 Alignierung**

Um genaue Aussagen über die Wachstumsgeschwindigkeit der GA treffen zu können, ist eine gute Vergleichbarkeit der Aufnahmen von unterschiedlichen



Untersuchungszeitpunkten unabdingbar. Trotz einer standardisierten Durchführung des Fundusautofluoreszenz-Imaging existieren einige Störfaktoren, die einen Vergleich von Aufnahmen unterschiedlicher Untersuchungszeitpunkte erschweren. So können z.B. Unterschiede in der Orientierung der Kamera leichte Verzerrungen bedingen und Messwerte der Atrophiefläche verfälschen. Die in Kapitel 2.4.3 beschriebene Alignierung stellt eine Methode dar, um derartige Bildunterschiede zu minimieren.

Es muss aber berücksichtigt werden, dass der Erfolg der Alignierung von der Positionierung der Kontrollpunkte abhängig ist, welche manuell erfolgt und somit fehleranfällig ist. Falls mehr als vier Punkte verwendet werden müssen, können sich auch unerwartete Verzerrungen ergeben, die ihrerseits einer akkuraten Quantifikation der Atrophieprogression im Wege stehen. Auch wenn die unterschiedlichen Winkel der Kameraposition durch die Alignierung kompensiert werden können, so ist dennoch ein Einfluss auf die Atrophiemesswerte nicht sicher auszuschließen (Schmitz-Valckenberg et al. 2007b).

Die Schwierigkeit der Evaluation von Methoden, die das Atrophiewachstum ermitteln sollen, liegt darin begründet, dass der wahre Wert der Wachstumsgeschwindigkeit unbekannt ist. Es fehlen bisher Normalwerte, an denen sich die Aussagekraft neuer Methoden messen ließe. Für deren Etablierung wären nach Meinung von Hopkins und Mitarbeitern deutlich größere Datenbanken mit longitudinaler Datenerfassung notwendig (Hopkins et al. 2006). Und auch dann bliebe der komplizierende Faktor bestehen, dass das RPE ein - sogar innerhalb des gleichen Patienten - hochvariables Gewebe darstellt (Burke und Hjelmeland 2005).

In der vorliegenden Arbeit wurde von einer erfolgreichen Durchführung der Alignierung ausgegangen, falls die zweistufige Kontrolle keine Ungenauigkeiten ermittelte. Diese Kontrolle, bestehend aus Subtraktion und serieller Bildbetrachtung, soll einer falschen Interpretation des GA-Wachstums vorbeugen. Die Anzahl der Aufnahmen, die auch nach Wiederholung der Alignierung eine unzureichende Deckungsgleichheit aufwiesen und somit nach der Kontrolle aussortiert wurden, reduzierten den Umfang der erhobenen Vermessungsdaten lediglich um 2,3%. Der Verlust an auswertbarem Datenmaterial durch die Einführung des zusätzlichen Arbeitsschrittes der Alignierung war somit gering.

Die Funktion der Alignierung von Einzelaufnahmen *desselben* Bildakquisitionsprozesses als Grundlage für die Berechnung eines gemittelten Bildes ist bereits im HEE integriert. Die Alignierung der *Folge*aufnahmen durch manuelle Auswahl von Landmarken stellt nicht nur einen zusätzlichen, sondern auch - insbesondere wenn eine mehrmalige Wiederholung erforderlich ist - einen äußerst zeitaufwendigen Arbeitsschritt dar. Es wäre daher wünschenswert, dass im HEE die Alignierungsfunktion auch für Aufnahmen unterschiedlicher Untersuchungszeitpunkte realisiert würde. Vor dem Hintergrund, dass der HEE einen ausgereiften Algorithmus für die Detektion von Augenbewegungen anhand automatisch erkannter Landmarken für die Alignierung verwendet (Jorzik et al. 2005), könnte man hierbei eventuell eine noch höhere Genauigkeit und somit bessere Vergleichbarkeit erzielen.

Eine wie in der vorliegenden Arbeit beschriebene Alignierung von Aufnahmen zu verschiedenen Untersuchungszeitpunkten ist nach meinem derzeitigen Kenntnisstand bisher in keiner anderen Studie, die die Wachstumsgeschwindigkeit der GA bei AMD beschreibt, angewendet worden. Die Alignierung während derselben Aufnahmesitzung hingegen ist nicht neu (Bindewald et al. 2005a; Jorzik et al. 2005; von Rückmann et al. 1995).

#### **4.4 Detektion und Quantifikation von Atrophieflächen**

Die Vermessungsmethode nach Deckert ist in Hinsicht auf ihre Objektivität und die Übereinstimmung von Ergebnissen zwischen verschiedenen Untersuchern mit früheren Methoden zur Quantifikation von GA bei AMD vergleichbar (Deckert et al. 2005). Der Untersucher legt mittels graphischen Schiebers die Grauwerttoleranz fest und kann so das Ausmaß der automatisch detektierten Atrophiefläche zu einem gewissen Grad beeinflussen. Durch die einheitliche Vorgabe, den Toleranzschwellenwert so zu wählen, dass stets der maximal vertretbare Wert der Atrophieflächen bestimmt wird, ist eine Überschätzung der Atrophiegröße nicht auszuschließen. Da der Toleranzschwellenwert für jedes einzelne Atrophieareal erneut festgelegt wird, kann sich dieser Effekt bei multifokaler Ausprägung der GA verstärken. Der Wert für die Progressionsrate hingegen wird dadurch weniger beeinflusst, da in jeder Aufnahme gleichartig verfahren wird.

In einigen Fällen kann es schwierig sein, GA von einer erniedrigten Autofluoreszenzintensität anderer Ursache zu unterscheiden (Blut, intraretinale Flüssigkeit, Glaskörpertrübungen, Drusen). Um Fehleinschätzungen zu reduzieren, kann die Betrachtung des korrespondierenden Fundusbildes und Infrarotreflexionsbildes (von Rückmann et al. 1997) sowie der verschiedenen FAF-Aufnahmen eines Verlaufs sinnvoll sein. Aufgrund der Absorption kurzwelliges Lichts durch foveales Pigment und der geringen Lipofuszinanreicherung im zentralen RPE ist die Autofluoreszenzintensität im Bereich der Fovea verringert. Eine Abgrenzung von Fovea und GA kann daher je nach Konfiguration der GA ebenfalls schwierig sein. Der erhobene ETDRS-Visus kann einen Hinweis auf das Vorliegen einer fovealen Beteiligung geben.

Eventuell bestehende peripapilläre Atrophieareale gehen in der vorliegenden Arbeit nicht in die Gesamtatrophiefläche ein. Wie bei der Auswertung von Sunness und Mitarbeitern wird in allen Bildern eines Verlaufs bei Vorliegen peripapillärer Atrophie eine einheitliche Linie definiert (Sunness et al. 1999a). Während diese bei Sunness und Mitarbeitern die nasale Grenze des für die Vermessung berücksichtigten Teils der peripapillären Atrophie markiert, dient sie hier als Grenze zwischen peripapillärer und zentraler Atrophie. Beide Vorgehensweisen erlauben eine gute Vergleichbarkeit von Atrophiegrößen verschiedener Untersuchungstermine und erscheinen daher gleichwertig in Bezug auf die Bestimmung der Atrophiewachstumsrate.

In der Vergangenheit sind verschiedene andere Verfahren zur Quantifikation der Atrophiegröße beschrieben worden. Ein frühes Verfahren zur Erfassung der Atrophiegröße beruht auf der Bestimmung des größten horizontalen Durchmessers des Atrophieareals (Schatz und McDonald 1989). Bei multifokaler Atrophie wird der größte horizontale Durchmesser des größten Atrophieareals verwendet. Die Gesamtatrophiegröße kann auf diese Weise nicht adäquat bestimmt werden, da noch nicht einmal alle vorhandenen Atrophieareale berücksichtigt werden.

Sunness und Mitarbeiter stützen sich in ihren Auswertungen auf farbige Fundusbilder (Sunness et al. 1999a). Die Diapositive werden auf ein weißes Blatt Papier projiziert, welches auf der Oberfläche eines Mikrofilm-Lesegerätes befestigt wird. Retinale Gefäße, Sehnervenkopf und Atrophieareale werden mit einem Bleistift auf dem Blatt umfahren. In einem zweiten Schritt werden die eingezeichneten Linien der

Atrophieflächen erneut mit Hilfe eines digitalen Stiftes, der an einen Computer angeschlossen ist, umfahren. Der Computer errechnet automatisch die auf dem Papier umfahrenen Flächen in  $\text{mm}^2$ . Diese Methode - ursprünglich beschrieben für Mikrofilm-basierte Aufnahmen - kann einfach auf neue, digitale Fundusbilder übertragen werden (Sunness et al. 2007a). Die Atrophieareale werden manuell mit einem Stift umfahren, wodurch Ungenauigkeiten auftreten könnten. Durch das zweimalige Umfahren können sich solche Ungenauigkeiten theoretisch aufheben, aber auch verstärken.

Schmitz-Valckenberg beschreibt ein Verfahren, bei dem Atrophieareale in Fundusautofluoreszenzaufnahmen mithilfe von Bildverarbeitungssoftware als so genannte „blobs“ (*binary large objects*) im festgelegten Grauwertintervall erkannt werden (Schmitz-Valckenberg 2002). Die Umrechnung der detektierten Pixel in die Atrophiegröße in  $\text{mm}^2$  erfolgt nach Kalibrierung entsprechend der gemessenen Länge des Bildes und der Pixelzahl.

Das in den Arbeiten von Holz und Dreyhaupt mit Mitarbeitern verwendete Verfahren basiert ebenfalls auf digitalen Fundusautofluoreszenzaufnahmen (Dreyhaupt et al. 2005; Holz et al. 2007). Hierbei erfolgt die Vermessung mit dem HEE (siehe Kapitel 2.3.2), der ein manuelles Umfahren der Atrophieflächen mit dem Mauszeiger am Bildschirm ermöglicht. Das manuelle Umfahren kann auch hier für Ungenauigkeiten verantwortlich sein. Außerdem ist hierbei die Computermaus als Schnittstelle zwischen Untersucher und HEE als potenzielle Fehlerquelle anzusehen.

Hwang und Mitarbeiter bestimmen die Atrophiegröße mittels Anwendung verschiedener Funktionen von Bildverarbeitungssoftware (Hwang et al. 2006). Dies beinhaltet die Nivellierung von Grauwerten mittels eines 12-Zonen quadratischen polynomischen mathematischen Modells, die Erkennung einer GA-Kernfläche mithilfe eines Schwellenwertverfahrens sowie die Anwendung verschiedener Filter und Subtraktionsverfahren.

Die Atrophievermessung von Klein und Mitarbeitern beruht wiederum auf farbigen Fundusbildern, die zunächst mittels eines Scanners digitalisiert werden (Klein, R et al. 2008). Anschließend werden unter Verwendung von Bildverarbeitungssoftware die Areale geographischer Atrophie durch den Untersucher umfahren. Zusätzlich erfolgt die Bestimmung der größten linearen Dimension anhand des größten Atrophieareals.

Bei der Vielfalt der verschiedenen Ansätze ist es schwierig, eine objektive Aussage darüber zu treffen, welche Methode die genauesten Ergebnisse liefert. Auf drei Aspekte sei jedoch an dieser Stelle hingewiesen: die Abgrenzung von Atrophiefläche und gesunder Netzhaut erscheint in Fundusbildern schwieriger als in Fundusautofluoreszenzaufnahmen, in denen sich die Atrophie schwarz und kontrastreicher darstellt. Aufgrund von Ungenauigkeiten, die bei manuellem Umfahren der Atrophieflächen auftreten können, sollten grundsätzlich Methoden bevorzugt werden, die auf der Erkennung von Grauwerten beruhen. Die Fundusautofluoreszenzsignale entspringen hauptsächlich aus der Ebene des RPE (siehe Kapitel 1.3.2). In Fundusautofluoreszenzaufnahmen werden somit Eigenschaften der Zellschicht abgebildet, der in der Pathogenese der GA eine zentrale Rolle zugeschrieben wird.

#### **4.5 Progressionsrate**

Die Progressionsrate der Atrophiefläche in  $\text{mm}^2$  pro Jahr stellt einen Parameter dar, der sich auf Grundlage der einzelnen Vermessungsergebnisse zu den verschiedenen Untersuchungszeitpunkten abschätzen lässt. Um methodisch bedingte Unterschiede in den longitudinalen Atrophiemesswerten zu vermeiden, wurden in der vorliegenden Arbeit alle Aufnahmen eines Verlaufs aligniert. Theoretische Überlegungen lassen den Schluss zu, dass nach der Alignierung Größenveränderungen der Atrophieflächen als Ausdruck der natürlichen Krankheitsprogression gewertet werden können und weniger auf Unterschiede in den Aufnahmemodalitäten zu verschiedenen Untersuchungszeitpunkten zurückzuführen sind. Die beschriebenen methodischen Limitationen müssen aber beachtet werden.

Um den Verlauf einer Netzhauterkrankung zu beschreiben, kommt grundsätzlich auch die Betrachtung der Sehschärfe in Frage. Das Sehvermögen ist für die betroffenen Patienten eine entscheidende Einflussgröße in Hinblick auf ihre Lebensqualität (Chia et al. 2004; Finger et al. 2008; Pauleikhoff et al. 2009). Zur Erfassung der Krankheitsprogression der geographischen Atrophie ist die Sehschärfe aber wenig geeignet. Besonders in frühen Phasen des Krankheitsprozesses würde der Verlauf der Sehschärfe die tatsächliche Krankheitsprogression einerseits unterschätzen, da eine

foveale Beteiligung häufig erst spät eintritt (Maguire und Vine 1986; Schatz und McDonald 1989). Andererseits verändert sich die Sehschärfe bei bestehender fovealer Beteiligung wenig, obwohl die Atrophiegröße weiter zunimmt. Sunness und Mitarbeiter konnten zeigen, dass in Patienten mit GA bei bestehender fovealer Beteiligung die Leserate in Wörtern pro Minute deutlich mit der Atrophiegröße invers zusammenhängt, aber sehr wenig mit der Sehschärfe korreliert (Sunness et al. 1996). Die Zunahme der Atrophiegröße mit der Zeit erscheint vor diesem Hintergrund als geeignetes Maß zur Erfassung der Krankheitsprogression.

Zwischen den Daten der untersuchten Patienten besteht eine komplexe Abhängigkeitsstruktur. Die Patienten unterscheiden sich hinsichtlich der Anzahl an Einzelbeobachtungen und hinsichtlich des Beobachtungszeitraums. Darüber hinaus stammen bei bilateraler Beobachtung zwei Verläufe vom selben Patienten. Das vorgestellte lineare gemischte Modell zur Schätzung der mittleren Progressionsrate trägt diesen Faktoren Rechnung, indem die Variabilität sowohl zwischen verschiedenen Patienten des Kollektivs als auch zwischen den beiden Augen eines Patienten berücksichtigt wird. Die geschätzte Fehlervarianz in der vorliegenden Arbeit ( $0,212 \text{ mm}^2/\text{Jahr}$ ; 95% KI [0,182-0,246]) ist niedriger als in einer früheren Auswertung im Laufe der FAM-Studie ( $0,761 \text{ mm}^2/\text{Jahr}$ , 95% KI [0.645; 0.898]) (Dreyhaupt et al. 2005). Es ist nicht auszuschließen, dass diese Reduktion auf die Weiterentwicklung des methodischen Vorgehens zurückzuführen ist.

In den hier untersuchten Verläufen konnten die Ergebnisse anderer Studien insofern bestätigt werden, als eine kontinuierliche Zunahme der Atrophiegröße mit der Zeit beobachtet wurde. Sunness und Mitarbeiter berichten in ihrer Untersuchung an 212 Augen von 131 Patienten bei einer medianen Beobachtungsdauer von 4,3 Jahren eine mittlere Progressionsrate von  $2,6 \text{ mm}^2$  pro Jahr (Sunness et al. 2007a). Eine frühere Auswertung im Rahmen der FAM-Studie von 195 Augen von 129 Patienten über eine mediane Beobachtungsdauer von 1,8 Jahren ergab eine mittlere Progressionsrate von  $1,74 \text{ mm}^2$  pro Jahr (Holz et al. 2007). Klein und Mitarbeiter beobachteten 53 Augen von 32 Patienten über einen Zeitraum von 5 Jahren und schätzten die durchschnittliche Progressionsrate auf  $1,3 \text{ mm}^2$  pro Jahr (Klein, R et al. 2008). Das Ergebnis der Schätzung in der vorliegenden Arbeit von  $1,55 \text{ mm}^2$  pro Jahr liegt in einem ähnlichen

Bereich. Hier wurden 234 Augen von 156 Patienten über einen medianen Beobachtungszeitraum von 3 Jahren analysiert (Tabelle 10).

Der Vergleich zwischen den Zahlenwerten für die Wachstumsgeschwindigkeit der GA in verschiedenen Studien ist vor dem Hintergrund von Unterschieden im methodischen Vorgehen und in den beobachteten Patientenkollektiven aber nur bedingt möglich.

Während im Rahmen der FAM-Studie (sowohl bei Holz und Mitarbeitern als auch in der vorliegenden Arbeit) Fundusautofluoreszenzaufnahmen für die Bestimmung der Atrophiegröße verwendet werden, beruhen die von Sunness und Klein mit Mitarbeitern beschriebenen Verfahren auf farbigen Fundusbildern. Um eine objektive Aussage treffen zu können, welches Verfahren die genaueren Ergebnisse liefert, wäre ein direkter Vergleich beider Ansätze in derselben Verlaufsbeobachtung notwendig.

In den oben aufgeführten Verlaufsbeobachtungen wird in allen, außer in der von Sunness und Mitarbeitern, ein gemischtes Modell wie in der vorliegenden Arbeit zur Schätzung der Progressionsrate verwendet. Sunness und Mitarbeiter bestimmen die Progressionsrate einerseits mithilfe linearer Regressionsanalyse beruhend auf der Methode der kleinsten Quadrate, andererseits als 2-Jahres-Wachstumsraten als Quotient aus der Differenz der Atrophieflächen und dem Zeitintervall zwischen den beiden zugehörigen Untersuchungsterminen. Allen in diesen Studien verwendeten statistischen Methoden zur Bestimmung der Progressionsrate ist hingegen die Annahme eines *linearen* Wachstums gemeinsam. Da das tatsächliche Wachstumsverhalten geographischer Atrophie unbekannt bleibt, ist die Falschheit dieser Annahme nicht sicher auszuschließen. Studien mit größeren Stichprobenumfängen sind nötig, um diese Frage sicher zu klären.

Auch Unterschiede in den beobachteten Patientenkollektiven sind eine mögliche Quelle für die verschiedenen berichteten Progressionsraten (Tabelle 10). Bei Klein und Mitarbeitern scheint die mittlere Atrophiegröße bei Erstuntersuchung kleiner und die Anzahl an Patienten mit unilateraler GA und Drusen im Partnerauge größer zu sein als in den anderen Studien. Definitive Werte für die 53 *longitudinal* untersuchten Augen sind nicht angegeben. Letztlich muss zwar der Einfluss der Atrophiegröße und des Diagnosestatus des Partnerauges auf die Wachstumsgeschwindigkeit der GA in größeren Studien weiter untersucht werden. Bisherige Ergebnisse weisen aber darauf

hin, dass kleine Atrophiegrößen und die Diagnose früher AMD im Partnerauge mit langsamerem Wachstum assoziiert sind (siehe Kapitel 4.8). Dies könnte die niedrige Schätzung der Progressionsrate bei Klein und Mitarbeitern zumindest teilweise erklären.

|  | <b>Sunness et al. 2007a</b> | <b>Holz et al. 2007</b> | <b>Klein, R et al. 2008</b>                      | <b>vorliegende Arbeit</b> |
|--|-----------------------------|-------------------------|--|---------------------------|
| beobachtete Augen  | 212                         | 195                     | 53   | 234                       |
| beobachtete Patienten  | 131                         | 129                     | 32   | 156                       |
| mediane Beobachtungsdauer (Jahre)                              | 4,3                         | 1,8                     | [5]  | 3                         |
| Anzahl an Einzelbeobachtungen                                  | 908                         | k.A.                    | k.A.   | 847                       |
| mittlere Atrophiegröße bei Erstuntersuchung (mm <sup>2</sup> ) | 7,9                         | [Median: 7,04]          | [bezogen auf 95 beobachtete Patienten: 4,62]     | 7,14                      |
| medianes Alter bei Erstuntersuchung                            | 78                          | 73,8                    | [bezogen auf 95 Patienten: mittleres Alter 80,8] | 73                        |
| Anzahl Patienten mit bilateraler GA                            | 83                          | 87                      | [bezogen auf 95 Patienten: 22]                   | 121                       |
| Anzahl Patienten mit unilateraler GA und CNV in Partnerauge    | 35                          | [unilateral gesamt: 42] | [bezogen auf 95 Patienten: 26]                   | 23                        |
| Anzahl Patienten mit unilateraler GA und Drusen in Partnerauge | 10                          | [unilateral gesamt: 42] | [bezogen auf 95 Patienten: 47]                   | 14                        |
| mittlere Progressionsrate (mm <sup>2</sup> /Jahr)              | 2,6                         | 1,74                    | [6,4 mm <sup>2</sup> über 5 Jahre]               | 1,55                      |

**Tabelle 10** Übersicht über die Charakteristika der Patientenkollektive in verschiedenen Verlaufsbeobachtungen zu geographischer Atrophie bei AMD. k.A.: keine Angabe

## 4.6 Fundusautofluoreszenzmuster

Interessanterweise wurden bereits in den ersten Studien, welche die Fundusautofluoreszenz bei Patienten mit GA untersuchten, verschiedene Muster der Autofluoreszenz berichtet (Holz et al. 1999a; Spital et al. 1998; von Rückmann et al. 1995). Im Rahmen der FAM-Studie ist ein umfassendes Klassifikationssystem für die Muster erhöhter Autofluoreszenz in der Übergangszone von GA zu gesunder Netzhaut erarbeitet worden (Bindewald et al. 2005c; Holz et al. 2007). Das gleiche Klassifikationssystem wurde in der vorliegenden Arbeit verwendet.



Die unterschiedlichen phänotypischen Ausprägungen im Sinne der Fundusautofluoreszenzmuster sind durch kein anderes bildgebendes Verfahren außer der Fundusautofluoreszenz zu erkennen. Im Vergleich zu konventionellen Fundusphotographien liefern Autofluoreszenzaufnahmen daher zusätzliche Erkenntnisse. Diese in vivo Beobachtungen unterstützen die Beobachtung histopathologischer Studien, die eine Ansammlung von Lipofuszin und Melanilipofuszin im RPE im Bereich der Übergangzone von atrophischer zu gesunder Netzhaut nachweisen (Green und Engel 1993; Sarks 1976). Die Frage, wie es zur Lipofuszinakkumulation im Randbereich der GA kommt, ist bislang nicht eindeutig beantwortet und wird kontrovers diskutiert. Smith und Mitarbeiter vertreten die These, dass Lipofuszin *sekundär* zum Krankheitsprozess in der Übergangzone neu entsteht oder dorthin verschoben wird (Smith et al. 2006). Holz und Mitarbeiter weisen darauf hin, dass eine erhöhte Autofluoreszenz der Entstehung neuer Atrophieflächen vorausgehen kann (Holz et al. 2001), was eher für ein *primäres* Vorhandensein von akkumuliertem Lipofuszin spricht. Auf Grundlage der Theorie von Smith und Mitarbeitern dürfte die Menge an erhöhter Autofluoreszenz im Randbereich keinen prognostischen Parameter für die Entstehung neuer Atrophie darstellen. Und in der Tat berichten Hwang und Mitarbeiter, dass erhöhte Autofluoreszenz kein starker Risikofaktor für die Entwicklung neuer oder die Ausweitung bestehender GA ist (Hwang et al. 2006). Diese Schlussfolgerung muss aber vor dem Hintergrund der niedrigen Zahl an Beobachtungen (8 Augen) und der als problematisch zu betrachtenden Messung erhöhter Autofluoreszenz vorsichtig bewertet werden. Zudem zeigt die erhöhte Autofluoreszenz in einer vorläufigen weiteren Auswertung, die eine andere Stichprobe (10 Augen) mit der gleichen Methodik untersucht, einen prädiktiven Wert für die Atrophieprogression (Smith et al. 2007).

Mehrere andere Studien konnten einen positiven Zusammenhang sowohl von verschiedenen Mustertypen als auch von der Menge erhöhter Autofluoreszenz im Randbereich zur Atrophieprogression feststellen (Holz et al. 2001; Holz et al. 2007; Schmitz-Valckenberg et al. 2006). Die vorliegende Arbeit kann diese Ergebnisse bekräftigen. Auch hier wird gezeigt, dass das Fundusautofluoreszenzmuster zum Zeitpunkt der frühesten Vermessung geographischer Atrophie die Wachstumsgeschwindigkeit beeinflusst ( $p=0,01$ , bedingter F-Test). Es fällt zusätzlich

auf, dass Mustertypen mit einer in aller Regel niedrigeren Menge an erhöhter Autofluoreszenz („ohne“ und „fokal“), anders als solche mit deutlich mehr erhöhter Autofluoreszenz („diffus“ und „bandförmig“), mit einer geringeren Progressionsrate einhergehen (siehe Tabelle 8).

Es ist ebenfalls denkbar, dass nicht primär die Menge erhöhter Autofluoreszenz für den Einfluss des Mustertyps auf die Progression verantwortlich ist, sondern dieser Effekt vielmehr auf einer durch die Musterklassifikation widergespiegelten Heterogenität auf zellulärer, molekularer und genetischer Ebene beruht. Hinweisend für das Vorliegen einer solchen Heterogenität ist auch die hohe intraindividuelle Symmetrie des Mustertyps bei gleichzeitig bestehenden interindividuellen Unterschieden. Von den Patienten, denen sowohl für das linke als auch für das rechte Auge ein konkretes Muster zugeordnet werden konnte, zeigten 84,9% bilateral den gleichen Mustertyp. Nach Zusammenfassung aller Untergruppen der Mustergruppe „diffus“ lag der Anteil sogar bei 90,4%. Eine frühere Auswertung im Rahmen der FAM-Studie untersuchte Patienten, die das Muster „diffus / fein granulär mit peripher gepunkteten Arealen“ aufwiesen, auf Mutationen im *ABCA4* Gen (früher *ABCR*) (Fleckenstein et al. 2007). In allen Patienten mit diesem Muster wurde mindestens ein mutiertes Allel im *ABCA4* Gen nachgewiesen. Einerseits ist dies ein Hinweis für eine genetische Grundlage der Musterausprägungen, andererseits kann nicht ausgeschlossen werden, dass dieser Mustertyp nicht eine Spätform atrophischer AMD, sondern eine Spätform Stargardt'scher Makuladystrophie abbildet.

Hopkins und Mitarbeiter gehen auch auf die Nachteile des vorgeschlagenen Klassifikationssystems ein (Hopkins et al. 2006). Aufgrund der Vielfältigkeit an beschriebenen Mustergruppen sei die Zahl der Beobachtungen in den einzelnen Gruppen teilweise niedrig. Es bleibt weiterhin zu untersuchen, inwieweit jedem der hier identifizierten Muster ein eigener Genotyp oder eine spezifische molekulare oder zelluläre Grundlage zugeordnet werden kann. In jedem Falle bietet das Klassifikationssystem aber ein gutes Instrument, um verschiedene Phänotypen zu identifizieren.

## 4.7 Symmetrie

Die pathophysiologischen Zusammenhänge der geographischen Atrophie bei AMD sind ebenso wie der natürliche Verlauf dieses Krankheitsbildes bisher unvollständig verstanden. In der klinischen Betreuung von bilateral betroffenen Patienten fällt auf, dass Form und Größe der GA in beiden Augen oft ähnlich erscheinen. Der symmetrische Charakter auch anderer Manifestationsformen der AMD wurde in einigen Arbeiten beschrieben (Barondes et al. 1990; Bellmann et al. 2002; Chuang und Bird 1988; Klein, R et al. 2008; Lavin et al. 1991; Sunness et al. 2007a; Wang et al. 1998).

In der vorliegenden Arbeit sprechen bezüglich der Progressionsrate sowohl der CCC von 0,756 als auch die engen Grenzen der Übereinstimmung im Bland-Altman-Plot für eine hohe Übereinstimmung zwischen beiden Augen eines Patienten. Sunness und Mitarbeiter stellen für 62 untersuchte bilaterale Patienten einen Korrelationskoeffizienten für die 2-Jahres-Wachstumsrate von 0,76 fest. Klein und Mitarbeiter beobachten 12 Patienten mit bilateralen Daten und konstatieren einen Korrelationskoeffizienten von 0,85 bezogen auf die 5-Jahres-Wachstumsrate. An dieser Stelle muss aber darauf hingewiesen werden, dass der Korrelationskoeffizient kein geeignetes Maß darstellt, um eine Aussage über die Übereinstimmung zwischen zwei phänotypischen Merkmalen in einem paarigen Organ zu treffen. Bland und Altman stellen unmissverständlich dar, dass Korrelation lediglich die Stärke des Zusammenhangs zweier Variablen misst, nicht aber ihre Übereinstimmung (Bland und Altman 1986). Im Gegensatz zu Klein und Mitarbeitern stellen Sunness und Mitarbeiter ihre bilateralen Daten zusätzlich in einem Streudiagramm dar. Trotz des bedenkenswerten Ansatzes, den Korrelationskoeffizienten als Maß für die Übereinstimmung anzusehen, macht dieses Diagramm die Existenz einer tatsächlich bestehenden hohen Übereinstimmung wahrscheinlich, da die Punkte dicht um die 45° Linie streuen.

Wie in der vorliegenden Arbeit (interindividuelle Variabilität von 0,976; 95% KI [0,823-1,157]) wird auch in anderen Studien bei Betrachtung verschiedener Patienten eine große Variation der Progressionsrate festgestellt (Holz et al. 2007; Sunness et al. 1999b). Im Zusammenhang mit der hohen intraindividuellen Symmetrie lässt sich hieraus folgern, dass spezifische systemische (inklusive genetischer) Faktoren eher für den unterschiedlich schnellen Krankheitsprogress in verschiedenen Patienten

verantwortlich sind als unspezifische altersabhängige Veränderungen. Sowohl in dieser Arbeit (siehe Kapitel 3.4.4 und 4.6) als auch in der Studie von Bellmann und Mitarbeitern kann gezeigt werden, dass sich für die Fundusautofluoreszenzmuster die gleiche Konstellation von hoher intraindividuelle Symmetrie bei interindividuell großer Vielfalt ergibt. Die Annahme, dass das Fundusautofluoreszenzmuster Einfluss auf die Wachstumsgeschwindigkeit nimmt (siehe Kapitel 4.6 und 4.8), ist mit dem Vorliegen der gleichen Konstellation für Progressionsrate und Muster beim Vergleich verschiedener Patienten und beider Augen eines Patienten gut vereinbar.

Anders als der CCC ist der Bland-Altman-Plot geeignet, um feine Unterschiede bzgl. der Übereinstimmung zweier Variablen aufzudecken. Für die Atrophiegröße zeigt der Bland-Altman-Plot relativ weite Grenzen der Übereinstimmung und teilweise Differenzen zwischen beiden Augen von über  $10 \text{ mm}^2$ . Trotz des hohen CCC von 0,706 muss hier demnach von einem gewissen Defizit an Übereinstimmung ausgegangen werden. Die hohen Korrelationskoeffizienten für die Atrophiegröße von Sunness (0,81) und Klein (0,87) mit Mitarbeitern sind vor dem Hintergrund der oben beschriebenen methodischen Unstimmigkeiten vorsichtig zu bewerten.

Für die Sehschärfe zeigt sich in der vorliegenden Arbeit nicht nur eine mangelnde Übereinstimmung, sondern sogar eine beträchtliche intraindividuelle Variation. Die Ursache hierfür kann beispielsweise in unterschiedlich ausgeprägter fovealer Beteiligung der Atrophie oder anderer vorliegender Pathologie wie Linsentrübung liegen.

Insgesamt lässt sich schlussfolgern, dass die Ergebnisse für Atrophiegröße und Sehschärfe auf unterschiedliche Krankheitsstadien zwischen beiden Augen hinweisen. Bei gleichzeitig hoher Symmetrie der Progressionsraten von linkem und rechtem Auge ist dies als Hinweis für ein *lineares* Wachstum der Atrophieflächen zu deuten. Sobald sich die geographische Atrophie in einem Auge manifestiert, scheinen also spezifische Pathomechanismen in Gang gesetzt zu werden, die den weiteren Verlauf bestimmen.

Für die Evaluation neuer Therapieansätze, die die Krankheitsprogression verlangsamen sollen, laufen bereits Interventionsstudien, denen die Erfassung des Wachstums von Atrophieflächen zugrunde liegt. Ein Ansatz ist die topische, unilaterale Behandlung bilateral betroffener Patienten bei Verwendung des Partnerauges als Kontrolle. Das symmetrische Verhalten der Progressionsrate könnte den für die Identifikation eines

signifikanten Effektes erforderlichen Stichprobenumfang reduzieren (Sunness et al. 2007b).

#### 4.8 Risikofaktoren

In der Vergangenheit ist der Einfluss verschiedener potenzieller Risikofaktoren sowohl für Prävalenz und Inzidenz als auch für die Progression von AMD untersucht worden (siehe Kapitel 1.2.2). Gesicherte Risikofaktoren für die Prävalenz und Inzidenz bestehen neben hohem Alter auch für eine aktuelle oder zurückliegende Raucheranamnese. Es ist unbestritten, dass genetische Faktoren eine große Rolle für die Entstehung altersabhängiger Makuladegeneration spielen. Ob sie auch die Wachstumsgeschwindigkeit von Arealen geographischer Atrophie beeinflussen, ist Gegenstand aktueller Forschung.

Die Untersuchungen in der vorliegenden Arbeit zeigen, dass der Diagnosestatus des Partnerauges einen signifikanten Einfluss auf die Progressionsrate besitzt ( $p=0,0042$ , bedingter F-Test). Falls lediglich frühe Ausprägungen der AMD im Partnerauge vorhanden sind, ist mit einem langsamerem Wachstum der GA im betroffenen Auge zu rechnen als bei Vorliegen der trockenen oder feuchten Spätform. Es ist allerdings zu beachten, dass in den Gruppen „frühe AMD“ ( $n = 14$  (9%)) und „CNV“ ( $n = 23$  (16%)) deutlich weniger Patienten beobachtet worden sind als in der Gruppe „bilateral“ ( $n = 121$  (77%)). Klein und Mitarbeiter erfassten insgesamt 95 Patienten mit GA, wobei die Hälfte ( $n = 47$ ) entweder keine oder lediglich frühe Zeichen für AMD im Partnerauge aufwiesen (Klein, R et al. 2008). 26 Patienten hatten Zeichen von CNV und 22 von GA im Partnerauge. Die durchschnittliche Zunahme an Atrophiefläche über einen Beobachtungszeitraum von 5 Jahren war bei bilateral betroffenen Patienten mit  $9,8 \text{ mm}^2$  signifikant größer als bei unilateraler Manifestation ( $3,6 \text{ mm}^2$ ) (Klein, R et al. 2008). Auch Sunness und Mitarbeiter konnten zeigen, dass Atrophieflächen in der bilateralen Gruppe signifikant schneller wachsen als in der Gruppe mit früher AMD (Sunness et al. 2007a). Hierbei ist die Anzahl an Beobachtungen in den einzelnen Gruppen mit der in der vorliegenden Arbeit vergleichbar (63% bilateral, 27% CNV, 8% frühe AMD). Die bisherigen Ergebnisse zum Einfluss der Diagnose des Partnerauges auf die Progression sprechen für eine stadienbedingte Krankheitsaktivität und eine pathogenetische

Kopplung beider Augen. In Kombination lassen die Ergebnisse zu Symmetrie und Progression den Schluss zu, dass bilaterale Atrophien sowohl schneller als unilaterale als auch beidseits ähnlich schnell wachsen. In weiteren Verlaufsbeobachtungen wäre es wünschenswert zu untersuchen, ob sich nach einem Wechsel des Status des Partnerauges im zeitlichen Verlauf eine Veränderung der Wachstumsrate ergibt. Bspw. wäre eine Beschleunigung der Progressionsrate im einen Auge ab dem Zeitpunkt, zu dem auch das andere Auge von früher AMD in GA übergegangen ist, hinsichtlich der obigen Ergebnisse denkbar, würde aber gegen ein lineares Wachstum sprechen.

Trotz der kongruenten Ergebnisse in verschiedenen Studien sollte bedacht werden, dass nicht unbedingt primär der Diagnosestatus des Partnerauges die Progressionsrate bedingen muss, sondern hierfür auch Interaktionseffekte mit der Atrophiegröße verantwortlich sein können. Sunness und Mitarbeiter berichten z.B. von einer niedrigeren Atrophiegröße bei Erstuntersuchung in der Gruppe mit früher AMD im Partnerauge als in den anderen Gruppen. Und ein Einfluss der Atrophiegröße auf die Progressionsrate ist weder auf Grundlage der Daten von Sunness und Mitarbeitern noch der von Holz und Mitarbeitern noch der von Klein und Mitarbeitern noch in der vorliegenden Untersuchung sicher auszuschließen (Holz et al. 2007; Klein, R et al. 2008; Sunness et al. 1999b; Sunness et al. 2007a). Insgesamt muss diese Abhängigkeit allerdings aus mehreren Gründen als eher gering angesehen werden: das Streudiagramm in Abbildung 33 zeigt ähnlich wie die Streudiagramme in den Arbeiten von Sunness und Klein mit Mitarbeitern, dass bei gleicher Atrophiegröße erhebliche Unterschiede in der Progressionsrate bestehen können (Klein, R et al. 2008; Sunness et al. 2007a). Durch eine Abhängigkeit von der Atrophiegröße allein sind diese nicht zu erklären. Außerdem verglichen Sunness und Mitarbeiter in 90 Patienten die erste 2-Jahres-Wachstumsrate mit der folgenden. Bei Abhängigkeit von der Atrophiegröße hätte man eine größere Folge-2-Jahres-Wachstumsrate erwartet. Dies war aber nicht der Fall. Sie stellten folglich heraus, dass die Kenntnis vorheriger Wachstumsraten eines Auges den bedeutendsten Einflussfaktor auf die zukünftige Wachstumsrate des gleichen Auges darstellt (Sunness et al. 2007a). Weiterhin wurde in der vorliegenden Arbeit ein signifikanter Unterschied in der Progressionsrate ohne Überschneidung der Konfidenzintervalle lediglich zwischen Augen mit einer Atrophiegröße kleiner als 1 DA und solchen mit einer Atrophiegröße größer oder gleich 1 DA festgestellt. Dies ist mit

den Ergebnissen von Holz und Mitarbeitern vereinbar (Holz et al. 2007). Holz und Mitarbeiter konnten des Weiteren einen Trend zu kleineren Atrophiegrößen in den Mustergruppen „ohne“ und „fokal“ als bei „bandförmig“ und „diffus“ beobachten. Vor dem Hintergrund der langsameren Wachstumsgeschwindigkeit von  $0,807 \text{ mm}^2/\text{Jahr}$  bzw.  $0,971 \text{ mm}^2/\text{Jahr}$  in den beiden erstgenannten Gruppen (Kapitel 3.5.4) liefert der Einfluss des Musters auf die Progressionsrate eine mögliche Erklärung für niedrigere Progressionsraten bei kleinen Atrophiegrößen, falls die Atrophiegröße selbst tatsächlich keinen Einfluss nimmt.

Eine deutlich größere Progressionsrate als bei allen anderen Mustertypen wurde in Augen des Typs „diffus / trickling“ festgestellt ( $2,967 \text{ mm}^2/\text{Jahr}$ ). Dieses neue Autofluoreszenzmuster wurde erstmalig von Holz und Mitarbeitern beschrieben (Holz et al. 2007). Zuvor waren solche Aufnahmen den Kategorien „diffus / verzweigt“ oder „diffus / fein granulär“ zugeordnet worden. Insbesondere dieser Mustertyp legt nahe, dass das Fundusautofluoreszenzmuster zum Zeitpunkt der frühesten Vermessung einen größeren Einfluss auf die Progressionsrate besitzt als die Atrophiegröße oder die Anzahl der Atrophieareale und somit interindividuelle Unterschiede in der Progressionsrate besser erklären kann.

In der vorliegenden Arbeit vergrößert sich in Augen mit multifokaler GA die Atrophiefläche um  $0,129 \text{ mm}^2/\text{Jahr}$  schneller als bei unifokaler Manifestation. Im Vergleich zu den Einflussgrößen Diagnose des Partnerauges und Fundusautofluoreszenzmuster ist diese Abweichung aber als sehr gering einzuschätzen. Klein und Mitarbeiter beschreiben eine Differenz der Wachstumsraten der beiden Gruppen von  $9,73 \text{ mm}^2$  über einen Zeitraum von 5 Jahren und können somit auf einen deutlich stärkeren Einfluss der Anzahl der Atrophieareale hinweisen (Klein, R et al. 2008). Es wurden allerdings weniger Patienten beobachtet ( $n = 53$ ) und zusätzlich die Kategorie „merged“ verwendet für multifokale Ausprägungen mit teilweise zusammengewachsenen Atrophiearealen. Der Anteil der Beobachtungen für „multifokal“ liegt mit 18% deutlich unter dem in der vorliegenden Arbeit (59%). Bei gleicher Gesamtatrophiefläche in einem Auge ist die Summe der Umfänge aller einzelnen Atrophieareale bei multifokaler Manifestation größer als der Umfang einer unifokalen Atrophie. Je größer der Umfang desto größer ist auch die Summe von direkt an die GA

angrenzender, nicht atrophischer Netzhaut, in der verstärkte Lipofuszinakkumulation vorliegen kann. Die von Holz und Mitarbeitern entwickelte Theorie des prognostischen Wertes erhöhter Autofluoreszenz im Randbereich der GA (Holz et al. 2001) könnte für die Beobachtung des schnelleren Wachstums bei Multifokalität somit Erklärungswert besitzen.

Die Ergebnisse können hilfreich sein für die Planung von Interventionsstudien. Einschlusskriterien, die lediglich Patienten mit auf hohes Risiko für schnelle Krankheitsprogression hinweisenden phänotypischen Ausprägungen zulassen, versprechen eine Reduktion der Stichprobenumfänge, um therapeutische Effekte nachweisen zu können. Insbesondere der Einschluss von Patienten, die die Muster „bandförmig“ oder „diffus“ aufweisen, erscheint sinnvoll.

#### **4.9 Therapieansätze und Ausblick**

Bisher sind für die GA keine gesicherten Therapien verfügbar. Rehabilitative Maßnahmen wie die professionelle Versorgung mit vergrößernden Sehhilfen (VSH), Blindengeld und die Unterstützung durch Selbsthilfegruppen ([www.pro-retina.de](http://www.pro-retina.de)) spielen daher eine Schlüsselrolle bei der Patientenversorgung. Zusätzlich zu den etablierten VSH könnte auch ein implantierbares Miniaturteleskop die Lebensqualität und die Sehschärfe von Patienten mit schwerem Sehverlust durch die trockene oder feuchte Spätform der AMD verbessern (Hudson et al. 2006; Hudson et al. 2008).

Ein neuer therapeutischer Ansatz bei exsudativer AMD, der allerdings Konsequenzen für die Therapie der trockenen Spätform mit sich bringen könnte, besteht in der Anwendung der so genannten RNA-Interferenz. Dabei wird small-interfering-RNA (siRNA) intravitreal injiziert, welche über den Abbau von messenger-RNA (mRNA) das Gen für den Wachstumsfaktor VEGF ausschaltet (Chappelou und Kaiser 2008). Kleinman und Mitarbeiter konnten an Mäusen zeigen, dass zwei der bereits in klinischen Studien getesteten siRNAs eine *Aktivierung* von TLR3 (toll-like receptor 3) bewirken (Kleinman et al. 2008). Kürzlich haben Yang und Mitarbeiter eine Verbindung zwischen einer Mutation im TLR3-Gen und einem verminderten Risiko für die Entwicklung der trockenen Spätform der AMD gefunden (Yang et al. 2008). Da keine Assoziation



zwischen TLR3-Varianten und CNV gefunden werden konnte, scheint das TLR3-Gen *spezifisch* mit der geographischen Atrophie in Verbindung zu stehen. Diese neuen Erkenntnisse geben in Kombination Anlass zu der Vermutung, dass siRNA-basierte Therapieansätze die Entstehung von GA begünstigen könnten (Yang et al. 2008). Andererseits könnte mit TLR3-Inhibitoren die Entstehung von GA verhindert werden.

Auf die Wirkung von Antioxidantien in der ARED-Studie ist bereits hingewiesen worden (siehe Kapitel 1.2.4). Während die Studie hinsichtlich der Risikoreduktion der Umwandlung von einer Frühform in eine exsudative Spätform signifikante Ergebnisse gezeigt hat, konnte eine spezifische Auswertung für die Entstehung einer GA keinen signifikanten protektiven Effekt der AREDS-Medikamente nachweisen (Age-Related Eye Disease Study Research Group 2001). Die ARED2-Studie, bei der die Rekrutierung kürzlich abgeschlossen worden ist, wird den Effekt einer hochdosierten Gabe von Lutein, Zeaxanthin und Omega-3-ungesättigten Fettsäuren testen (Coleman und Chew 2007).

Die erste große randomisierte Doppelblindstudie bei Patienten mit GA stellt die Fenretinide-Studie dar ([www.siriontherapeutics.com](http://www.siriontherapeutics.com)). Fenretinide (N-(4-Hydroxyphenyl)retinamid) ist ein oral einnehmbares Vitamin-A-Derivat. Es vermindert den Retinol-Spiegel im Serum und soll dessen Bioverfügbarkeit auch in RPE-Zellen und Photorezeptoraußensegmenten senken. Im Mausmodell konnte bereits gezeigt werden, dass es durch die orale Gabe von Fenretinide zu einer Hemmung der Lipofuszinakkumulation im RPE kommt (Radu et al. 2005). Die Rekrutierung von über 200 Patienten ist im Februar 2008 abgeschlossen worden und wird Placebo gegen Fenretinide (100 mg und 300 mg) testen. Erste Ergebnisse werden in diesem Jahr erwartet. Die Vorteile der Fundusautofluoreszenz wie die präzise Bestimmung der Atrophieprogression sind in dieser Studie bereits genutzt worden, um Patienten mit schnellen Progressionsraten zu identifizieren. Der hier verfolgte Ansatz der Hemmung der Lipofuszinakkumulation könnte auch bei anderen degenerativen Netzhauterkrankungen wie z.B. Morbus Stargardt Anwendung finden.

Ein weiterer therapeutischer Ansatz bei GA besteht in der so genannten „encapsulated cell technology“ (ECT). Hierbei wird in einem operativen Eingriff eine Kapsel in den Glaskörper eingesetzt, in der sich eine genetisch modifizierte RPE-Zellkultur befindet. In

zwei klinischen Studien ([www.neurotechusa.com](http://www.neurotechusa.com)) wird bei Patienten mit GA die Wirksamkeit von aus dem Kapselimplantat freigegebenem „Ciliary Neurotrophic Factor“ (CNTF) untersucht. Erste Ergebnisse zeigen, dass sich bei 96% der mit hochdosiertem Wirkstoff behandelten Patienten eine Stabilisierung der bestkorrigierten Sehschärfe (Verlust von weniger als 15 Buchstaben) über einen Beobachtungszeitraum von 12 Monaten einstellte, gegenüber 75% bei den vorgetäuscht behandelten Patienten. Das Potential dieses Ansatzes konnte auch bei anderen Netzhauterkrankungen bereits aufgezeigt werden (MacDonald et al. 2007; Sieving et al. 2006).

Die Firma Othera Pharmaceuticals Incorporation hat eine klinische Studie zur Anwendung von Augentropfen in Patienten mit GA initiiert, von der erste Ergebnisse Anfang 2010 zu erwarten sind ([www.OTHERA.com](http://www.OTHERA.com)). Die Tropfen enthalten die Substanz OT-551, welche die Überexpression von „protein complex nuclear factor-kappa B“ (NF- $\kappa$ B) vermindern und damit RPE-Zellen und Photorezeptoren vor oxidativen Schäden schützen soll. Die Augentropfen werden mehrmals täglich über einen Zeitraum von 24 Monaten unilateral appliziert. Die Veränderung der Atrophiegröße über diesen Zeitraum wird als primäres Zielkriterium definiert.

Vor wenigen Monaten hat eine Studie der Firma Alcon Incorporation begonnen. In dieser GATE-Studie (Geographic Atrophy Treatment Evaluation) werden Augentropfen, die einen hochselektiven Serotonin-Rezeptor-Agonisten enthalten, gegen Placebo getestet. Damit sollen photooxidative Schäden der Netzhaut durch blaues Licht reduziert werden. Als primäres Zielkriterium ist auch hier die jährliche Wachstumsrate der Atrophiefläche über den Beobachtungszeitraum von 24 Monaten definiert, welche mithilfe von Fundusautofluoreszenz-Imaging ermittelt wird.

Um den Effekt neuer Therapieansätze präzise bewerten zu können, ist die Kenntnis der tatsächlichen Progressionsrate äußerst wichtig. Je mehr Patienten in Verlaufsstudien eingeschlossen werden, je länger sie beobachtet werden und je besser die Methoden zur Quantifikation der Atrophiegröße sind, desto genauer gelingt die Schätzung der Progressionsrate. Eine neue Vermessungsreihe, die auch alle in der FAM-Studie rekrutierten GA-Patienten *nach* Juni 2006 berücksichtigt, wurde bereits initiiert.

Neben der bereits in Kapitel 4.1 beschriebenen neuen Entwicklung bei der Fundusautofluoreszenzerfassung - dem Spectralis HRA+OCT - gibt es weitere viel

versprechende Ansätze zur detaillierten Darstellung retinaler Strukturen, deren in vivo Einsatz beim Menschen bisher aber noch aussteht. Diese umfassen die Anwendung von adaptiven optischen Systemen zur Korrektur optischer Eigenschaften des Auges (Gray et al. 2006) und die Untersuchung von morphologischen und spektralen Eigenschaften von RPE-Zellen mittels Zwei-Photonen-angeregter Fluoreszenz (Bindewald-Wittich et al. 2006). Diese Ansätze lassen nicht nur einen tiefgreifenden Einblick in die komplexen pathophysiologischen Zusammenhänge bei Netzhauterkrankungen wie der AMD, sondern auch ein zusätzliches Potential beim Aufdecken von Effekten in zukünftigen Interventionsstudien erhoffen. Nicht zuletzt aufgrund der soziokulturellen Bedeutung des Sehens und der zu erwartenden Zunahme der Zahl der von GA betroffenen Patienten stellt ein Durchbruch bei den therapeutischen Möglichkeiten für die GA ein vorrangiges Ziel der ophthalmologischen Forschung in den kommenden Jahren dar.

#### **4.10 Schlussfolgerungen**

Die Akkumulation von Lipofuszingranula im retinalen Pigmentepithel wird als wesentlicher pathogenetischer Faktor für die geographische Atrophie bei altersabhängiger Makuladegeneration diskutiert. Mithilfe der konfokalen Scanning-Laser-Ophthalmoskopie kann die topographische Verteilung des Lipofuszins entsprechend seiner autofluoreszenten Eigenschaften in vivo erfasst werden.

Areale geographischer Atrophie weisen in digitalen Fundusautofluoreszenzaufnahmen eine deutlich verminderte Autofluoreszenzintensität auf, wodurch eine präzise, kontrastreiche Abgrenzung zur übrigen Netzhaut möglich wird. Mit einem auf dem Algorithmus des Flächenwachstums basierenden Computerprogramm können solche Areale detektiert und quantifiziert werden.

Trotz SOP muss bei der Auswertung von zwei oder mehreren Fundusautofluoreszenzaufnahmen eines Patienten im Verlauf berücksichtigt werden, dass die Bilder nicht deckungsgleich sind. Durch die Alignierung von Folgeaufnahmen desselben Auges anhand charakteristischer Landmarken wie Gefäßkreuzungen werden bestehende Unterschiede, die auf Aufnahmemodalitäten zurückzuführen sind, minimiert. Die Ergebnisse der Quantifikation der Atrophieareale spiegeln somit besser den

natürlichen Wachstumsprozess wider und erlauben eine gute Schätzung der Progressionsrate anhand eines zweistufigen linearen Mixed Effects-Modells. Der Vergleich zwischen den Zahlenwerten für die Wachstumsgeschwindigkeit der GA in verschiedenen Studien wird durch Unterschiede im methodischen Vorgehen und in den beobachteten Patientenkollektiven erschwert.

Die Durchführung der Vermessung kann durch schlechte Aufnahmequalität beeinträchtigt werden. Insbesondere hohes Hintergrundrauschen führt häufig zum Ausschluss von Aufnahmen von der weiteren Analyse. Augenbewegungen während der Aufnahme und Medientrüben können hier ursächlich sein. Neue Entwicklungen auf dem Gebiet der konfokalen Scanning-Laser-Ophthalmoskopie, wie Software zur Kompensation von Augenbewegungen, versprechen bei zukünftigen Aufnahmen eine bessere Qualität.

In der Auswertung zum symmetrischen Verhalten der GA wird ein hohes Maß an Übereinstimmung von linkem und rechtem Auge bezüglich der Progressionsrate festgestellt, während interindividuell große Unterschiede bestehen. Diese Ergebnisse sprechen dafür, dass spezifische systemische Faktoren eher die Krankheitsprogression beeinflussen als unspezifische altersabhängige Veränderungen. Die Symmetrie der Sehschärfe ist sehr gering ausgeprägt und bezüglich der Atrophiegröße deckt der Bland-Altman-Plot ein gewisses Defizit an Übereinstimmung zwischen beiden Augen auf. Dies sind Hinweise für das Vorliegen von unterschiedlichen Krankheitsstadien in linkem und rechtem Auge. Insbesondere die symmetrische Ausprägung der Progressionsrate kann in Interventionsstudien bei topischer, unilateraler Intervention und Verwendung des Partnerauges als Kontrolle genutzt werden, um signifikante Effekte auf die Größenveränderung geographischer Atrophie zu identifizieren.

Wie in vorherigen Untersuchungen werden auch in der vorliegenden Arbeit verschiedene Muster erhöhter Autofluoreszenz im Randbereich der GA beobachtet. Ihr intraindividuell oft symmetrisches Auftreten bei interindividueller Variabilität sowie die insbesondere mit den Mustergruppen „diffus“ und „bandförmig“ assoziierte schnellere Progressionsrate weisen auf eine durch die Musterklassifikation widergespiegelte Heterogenität auf zellulärer, molekularer und genetischer Ebene hin. Andere Merkmale, die mit einer schnelleren Krankheitsprogression in Verbindung gebracht werden können,

sind die bilaterale Manifestation und das multifokale Auftreten der GA. Ein geringer Einfluss der Atrophiegröße auf die Progressionsrate kann nicht ausgeschlossen werden. Nicht zuletzt für die betroffenen Patienten können diese Erkenntnisse von prognostischer Bedeutung sein. Der alleinige Einschluss von auf diese Weise identifizierten Hochrisikopatienten in Interventionsstudien könnte die für den Nachweis signifikanter therapeutischer Effekte erforderliche Beobachtungszeit und Patientenzahl reduzieren.

Die cSLO-Fundusautofluoreszenz liefert im Vergleich zu anderen bildgebenden Verfahren zusätzliche Informationen. Neben der präzisen Schätzung der Atrophieprogression ist sie zusätzlich in der Lage, phänotypische Merkmale mit prognostischer Aussagekraft zu identifizieren. In laufenden Interventionsstudien leistet sie bereits einen wertvollen Beitrag.

## 5 Zusammenfassung

Die geographische Atrophie (GA) des retinalen Pigmentepithels (RPE) im Rahmen der altersabhängigen Makuladegeneration (AMD) stellt eine häufige Ursache für einen Verlust des zentralen Sehens und damit einer Erblindung nach gesetzlicher Definition dar. Bislang ist für diese Manifestationsform der AMD noch keine wirksame Therapie verfügbar. Grundlagenwissenschaftliche und klinische Befunde sprechen dafür, dass der Akkumulation von Lipofuszingranula mit toxischen Retinoid-Derivaten wie A2-E im RPE eine relevante pathogenetische Bedeutung zukommt. Fundusautofluoreszenz (FAF)-Imaging mittels konfokaler Scanning-Laser-Ophthalmoskopie (cSLO) ermöglicht die Erfassung der topographischen Verteilung des Lipofuszins in den postmitotischen RPE-Zellen unterhalb der retinalen Photorezeptorschicht aufgrund der autofluoreszenten Eigenschaften *in vivo*.

In der vorliegenden Arbeit erfolgten die Quantifikation der GA-Areale, die durch ein erniedrigtes FAF-Signal charakterisiert sind, sowie die Identifikation spezifischer Muster erhöhter FAF im Randbereich der GA. Die dabei eingeführte Alignierung stellt eine methodische Weiterentwicklung zur Erfassung der Größenveränderung atrophischer Areale in longitudinalen Aufnahmen dar. Die Analyse von 234 Augen ergab eine mittlere Progressionsrate von 1,551 mm<sup>2</sup>/Jahr. Die Progressionsrate sowie die Muster erhöhter FAF zeigten bei bilateraler Erkrankung ein hohes Maß an intraindividuelle Symmetrie, wobei ein hohes Maß an interindividueller Variabilität vorlag. Demgegenüber ergab sich für die Sehschärfe ein geringes Maß an Symmetrie. Die Atrophiegröße wies ein Defizit an Übereinstimmung auf. Zudem konnte gezeigt werden, dass insbesondere das Vorliegen eines „diffusen“ oder „bandförmigen“ Musters erhöhter FAF im Randbereich der GA mit einer schnelleren Progressionsrate assoziiert ist. Auch bei bilateraler Manifestation und multifokalem Auftreten der GA zeigte sich eine schnellere Progression.

Neben der prognostischen Bedeutung für die betroffenen Patienten dienen die Ergebnisse einem besseren Verständnis des natürlichen Verlaufs der Erkrankung. Die Ergebnisse konnten bereits wesentlich zu Fallzahlberechnungen und zum Studiendesign der ersten Interventionsstudien bei GA beitragen. Weiterhin stellt die cSLO-Fundusautofluoreszenz mittlerweile das Verfahren der Wahl zum

Therapiemonitoring mit Erfassung der GA-Progression als anatomischem Hauptauswertungsparameter dar. Die Einführung und Weiterentwicklung der cSLO-Fundusautofluoreszenz leistet somit einen wichtigen Beitrag bei der Suche nach einer wirksamen Therapie für die GA.

## 6 Literaturverzeichnis

Age-Related Eye Disease Study Research Group. Risk factors associated with age-related macular degeneration. A case-control study in the Age-Related Eye Disease Study: AREDS report no. 3. *Ophthalmology* 2000; 107: 2224-2232

Age-Related Eye Disease Study Research Group. A randomized, placebo-controlled, clinical trial of high-dose supplementation with vitamins C and E, beta carotene, and zinc for age-related macular degeneration and vision loss: AREDS report no. 8. *Arch Ophthalmol* 2001; 119: 1417-1436

Ambati J, Ambati BK, Yoo SH, Ianchulev S, Adamis AP. Age-related macular degeneration: etiology, pathogenesis, and therapeutic strategies. *Surv Ophthalmol* 2003; 48: 257-293

American National Standards Institute. American national standard for the safe use of lasers: ANSI Z136.1. Laser Institute of America, Orlando, Florida. 2000

Augood CA, Vingerling JR, de Jong PT, Chakravarthy U, Seland J, Soubrane G, Tomazzoli L, Topouzis F, Bentham G, Rahu M, Vioque J, Young IS, Fletcher AE. Prevalence of age-related maculopathy in older Europeans: the European Eye Study (EUREYE). *Arch Ophthalmol* 2006; 124: 529-535

Barondes M, Pauleikhoff D, Chisholm IC, Minassian D, Bird AC. Bilaterality of drusen. *Br J Ophthalmol* 1990; 74: 180-182

Beatty S, Koh H, Phil M, Henson D, Boulton M. The role of oxidative stress in the pathogenesis of age-related macular degeneration. *Surv Ophthalmol* 2000; 45: 115-134

Bellmann C, Holz FG, Schapp O, Völcker HE, Otto TP. Topographie der Fundusautofluoreszenz mit einem neuen konfokalen Scanning-Laser-Ophthalmoskop. *Ophthalmologie* 1997; 94: 385-391

Bellmann C, Jorzik J, Spital G, Unnebrink K, Pauleikhoff D, Holz FG. Symmetry of bilateral lesions in geographic atrophy in patients with age-related macular degeneration. *Arch Ophthalmol* 2002; 120: 579-584

Bellmann C, Rubin GS, Kabanarou SA, Bird AC, Fitzke FW. Fundus autofluorescence imaging compared with different confocal scanning laser ophthalmoscopes. *Br J Ophthalmol* 2003; 87: 1381-1386

Bergmann M, Schütt F, Holz FG, Kopitz J. Inhibition of the ATP-driven proton pump in RPE lysosomes by the major lipofuscin fluorophore A2-E may contribute to the pathogenesis of age-related macular degeneration. *FASEB J* 2004; 18: 562-564



Bindewald-Wittich A, Han M, Schmitz-Valckenberg S, Snyder SR, Giese G, Bille JF, Holz FG. Two-photon-excited fluorescence imaging of human RPE cells with a femtosecond Ti:Sapphire laser. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2006; 47: 4553-4557

Bindewald A, Schmitz-Valckenberg S, Jorzik JJ, Dolar-Szczasny J, Sieber H, Keilhauer C, Weinberger AW, Dithmar S, Pauleikhoff D, Mansmann U, Wolf S, Holz FG. Classification of abnormal fundus autofluorescence patterns in the junctional zone of geographic atrophy in patients with age related macular degeneration. *Br J Ophthalmol* 2005a; 89: 874-878

Bindewald A, Jorzik JJ, Roth F, Holz FG. cSLO-Fundusautofluoreszenz-Imaging. Methodische Weiterentwicklungen der konfokalen Scanning-Laser-Ophthalmoskopie. *Ophthalmologe* 2005b; 102: 259-264

Bindewald A, Bird AC, Dandekar SS, Dolar-Szczasny J, Dreyhaupt J, Fitzke FW, Einbock W, Holz FG, Jorzik JJ, Keilhauer C, Lois N, Mlynski J, Pauleikhoff D, Staurengi G, Wolf S. Classification of fundus autofluorescence patterns in early age-related macular disease. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2005c; 46: 3309-3314

Bird AC, Bressler NM, Bressler SB, Chisholm IH, Coscas G, Davis MD, de Jong PT, Klaver CC, Klein BE, Klein R, et al. An international classification and grading system for age-related maculopathy and age-related macular degeneration. The International ARM Epidemiological Study Group. *Surv Ophthalmol* 1995; 39: 367-374

Bland JM, Altman DG. Statistical methods for assessing agreement between two methods of clinical measurement. *Lancet* 1986; 327: 307-310

Bok D. Retinal photoreceptor-pigment epithelium interactions. Friedenwald lecture. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1985; 26: 1659-1694

Boulton M, McKechnie NM, Breda J, Bayly M, Marshall J. The formation of autofluorescent granules in cultured human RPE. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1989; 30: 82-89

Boulton M, Dayhaw-Barker P. The role of the retinal pigment epithelium: topographical variation and ageing changes. *Eye* 2001; 15: 384-389

Bressler SB, Maguire MG, Bressler NM, Fine SL. Relationship of drusen and abnormalities of the retinal pigment epithelium to the prognosis of neovascular macular degeneration. The Macular Photocoagulation Study Group. *Arch Ophthalmol* 1990; 108: 1442-1447

Bressler SB, Munoz B, Solomon SD, West SK. Racial differences in the prevalence of age-related macular degeneration: the Salisbury Eye Evaluation (SEE) Project. *Arch Ophthalmol* 2008; 126: 241-245

- Brody BL, Gamst AC, Williams RA, Smith AR, Lau PW, Dolnak D, Rapaport MH, Kaplan RM, Brown SI. Depression, visual acuity, comorbidity, and disability associated with age-related macular degeneration. *Ophthalmology* 2001; 108: 1893-1901
- Burke JM, Hjelmeland LM. Mosaicism of the retinal pigment epithelium: seeing the small picture. *Mol Interv* 2005; 5: 241-249
- Chakravarthy U, Augood C, Bentham GC, de Jong PT, Rahu M, Seland J, Soubrane G, Tomazzoli L, Topouzis F, Vingerling JR, Vioque J, Young IS, Fletcher AE. Cigarette smoking and age-related macular degeneration in the EUREYE Study. *Ophthalmology* 2007; 114: 1157-1163
- Chang MA, Bressler SB, Munoz B, West SK. Racial differences and other risk factors for incidence and progression of age-related macular degeneration: Salisbury Eye Evaluation (SEE) Project. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2008; 49: 2395-2402
- Chappelov AV, Kaiser PK. Neovascular age-related macular degeneration: potential therapies. *Drugs* 2008; 68: 1029-1036
- Chew EY, Sperduto RD, Milton RC, Clemons TE, Gensler GR, Bressler SB, Klein R, Klein BE, Ferris FL, 3rd. Risk of advanced age-related macular degeneration after cataract surgery in the age-related eye disease study: AREDS report 25. *Ophthalmology* 2009; 116: 297-303
- Chia EM, Wang JJ, Rochtchina E, Smith W, Cumming RR, Mitchell P. Impact of bilateral visual impairment on health-related quality of life: the Blue Mountains Eye Study. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2004; 45: 71-76
- Chuang EL, Bird AC. Bilaterality of tears of the retinal pigment epithelium. *Br J Ophthalmol* 1988; 72: 918-20
- Coleman H, Chew E. Nutritional supplementation in age-related macular degeneration. *Curr Opin Ophthalmol* 2007; 18: 220-223
- Congdon N, O'Colmain B, Klaver CC, Klein R, Munoz B, Friedman DS, Kempen J, Taylor HR, Mitchell P. Causes and prevalence of visual impairment among adults in the United States. *Arch Ophthalmol* 2004; 122: 477-485
- Coscas G, Coscas F, Vismara S, Souied E, Soubrane G. [Spectral Domain OCT in age-related macular degeneration: preliminary results with Spectralis HRA-OCT]. *J Fr Ophthalmol* 2008; 31: 353-361
- Cugati S, Mitchell P, Rochtchina E, Tan AG, Smith W, Wang JJ. Cataract surgery and the 10-year incidence of age-related maculopathy: the Blue Mountains Eye Study. *Ophthalmology* 2006; 113: 2020-2025

Curcio CA, Presley JB, Malek G, Medeiros NE, Avery DV, Kruth HS. Esterified and unesterified cholesterol in drusen and basal deposits of eyes with age-related maculopathy. *Exp Eye Res* 2005; 81: 731-741

Dandekar SS, Jenkins SA, Peto T, Scholl HP, Sehmi KS, Fitzke FW, Bird AC, Webster AR. Autofluorescence imaging of choroidal neovascularization due to age-related macular degeneration. *Arch Ophthalmol* 2005; 123: 1507-1513

De La Paz M, Anderson RE. Region and age-dependent variation in susceptibility of the human retina to lipid peroxidation. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1992; 33: 3497-3499

Deckert A. Interaktion von Informatik und Biometrie bei der Quantifizierung des Verlaufs der altersabhängigen Makuladegeneration (AMD) anhand von Autofluoreszenzaufnahmen. Diplomarbeit 2004; Universität Heidelberg, Fachhochschule Heilbronn

Deckert A, Schmitz-Valckenberg S, Jorzik J, Bindewald A, Holz FG, Mansmann U. Automated analysis of digital fundus autofluorescence images of geographic atrophy in advanced age-related macular degeneration using confocal scanning laser ophthalmoscopy (cSLO). *BMC Ophthalmol* 2005; 5: 8

Delori F, Keilhauer C, Sparrow JR, Staurenghi G. Origin of fundus autofluorescence. In: Holz FG, Schmitz-Valckenberg S, Spaide RF, Bird AC, Hrsg. *Atlas of Fundus Autofluorescence Imaging*. Berlin, Heidelberg: Springer, 2007: 17-29

Delori FC. Spectrophotometer for non-invasive measurement of intrinsic fluorescence and reflectance of the ocular fundus. *Appl Opt* 1994; 33: 7429-7452

Delori FC, Dorey CK, Staurenghi G, Arend O, Goger DG, Weiter JJ. In vivo fluorescence of the ocular fundus exhibits retinal pigment epithelium lipofuscin characteristics. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1995a; 36: 718-729

Delori FC, Staurenghi G, Arend O, Dorey CK, Goger DG, Weiter JJ. In vivo measurement of lipofuscin in Stargardt's disease - Fundus flavimaculatus. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1995b; 36: 2327-2331

Delori FC, Goger DG, Dorey CK. Age-related accumulation and spatial distribution of lipofuscin in RPE of normal subjects. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2001; 42: 1855-1866

Despriet DD, Klaver CC, Wittman JC, Bergen AA, Kardys I, de Maat MP, Boekhoorn SS, Vingerling JR, Hofman A, Oostra BA, Uitterlinden AG, Stijnen T, van Duijn CM, de Jong PT. Complement factor H polymorphism, complement activators, and risk of age-related macular degeneration. *JAMA* 2006; 296: 301-309

Dorey CK, Wu G, Ebenstein D, Garsd A, Weiter JJ. Cell loss in the aging retina. Relationship to lipofuscin accumulation and macular degeneration. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1989; 30: 1691-1699

- Dreyhaupt J, Mansmann U, Pritsch M, Dolar-Szczasny J, Bindewald A, Holz FG. Modelling the natural history of geographic atrophy in patients with age-related macular degeneration. *Ophthalmic Epidemiol* 2005; 12: 353-362
- Dreyhaupt J, Dolar-Szczasny J, Bindewald A, Holz FG, Mansmann U. Discovery of factors influencing the growth of geographic atrophy in patients with age-related macular degeneration. *Methods Inf Med* 2007; 46: 432-439
- Eagle RC, Jr., Lucier AC, Bernardino VB, Jr., Yanoff M. Retinal pigment epithelial abnormalities in fundus flavimaculatus: a light and electron microscopic study. *Ophthalmology* 1980; 87: 1189-1200
- Edwards AO, Ritter R, 3rd, Abel KJ, Manning A, Panhuysen C, Farrer LA. Complement factor H polymorphism and age-related macular degeneration. *Science* 2005; 308: 421-424
- Eldred GE, Katz ML. Fluorophores of the human retinal pigment epithelium: separation and spectral characterization. *Exp Eye Res* 1988; 47: 71-86
- Eldred GE, Lasky MR. Retinal age-pigments generated by self-assembling lysosomotropic detergents. *Nature* 1993; 361: 724-726
- Eter N, Vogel A, Holz FG. Untersuchung der Makula. In: Kroll P, Kühle M, Kühle HJ, Hrsg. *Augenärztliche Untersuchungsmethoden*. Stuttgart: Thieme, 2008: 262-268
- Feeney-Burns L, Berman ER, Rothman H. Lipofuscin of human retinal pigment epithelium. *Am J Ophthalmol* 1980; 90: 783-791
- Feeney-Burns L, Eldred GE. The fate of the phagosome: conversion to 'age pigment' and impact in human retinal pigment epithelium. *Trans Ophthalmol Soc U K* 1983; 103 (Pt 4): 416-421
- Feeney-Burns L, Hilderbrand ES, Eldridge S. Aging human RPE: morphometric analysis of macular, equatorial, and peripheral cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1984; 25: 195-200
- Feeney-Burns L, Eilersieck MR. Age-related changes in the ultrastructure of Bruch's membrane. *Am J Ophthalmol* 1985; 100: 686-697
- Feeney-Burns L, Burns RP, Gao CL. Age-related macular changes in humans over 90 years old. *Am J Ophthalmol* 1990; 109: 265-278
- Ferris FL, Fine SL, Hyman L. Age-related macular degeneration and blindness due to neovascular maculopathy. *Arch Ophthalmol* 1984; 102: 1640-1642
- Finger RP, Fleckenstein M, Scholl HP, Holz FG. Therapeutischer Anti-VEGF-Einsatz in der Augenheilkunde: Pathophysiologie und Therapie der AMD. *Pharm Unserer Zeit* 2007; 36: 424-430

- Finger RP, Fleckenstein M, Holz FG, Scholl HP. Quality of life in age-related macular degeneration: a review of available vision-specific psychometric tools. *Qual Life Res* 2008; 17: 559-574
- Fisher RF. The influence of age on some ocular basement membranes. *Eye* 1987; 1: 184-189
- Fleckenstein M, Schmitz-Valckenberg S, Bindewald-Wittich A, Göbel AP, Keilhauer C, Mansmann U, Weber BHF, Scholl HPN, Holz FG. Late-onset Stargardt macular dystrophy mimicking atrophic age-related macular degeneration. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2007; 48: E-Abstract 2155
- Fleckenstein M, Holz FG. Fundusautofluoreszenz. In: Kroll P, Kuchle M, Kuchle HJ, Hrsg. *Augenärztliche Untersuchungsmethoden*. Stuttgart: Thieme, 2008: 425-430
- Fleckenstein M, Charbel Issa P, Helb HM, Schmitz-Valckenberg S, Finger RP, Scholl HP, Loeffler KU, Holz FG. High-resolution spectral domain-OCT imaging in geographic atrophy associated with age-related macular degeneration. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2008; 49: 4137-4144
- Frangieh GT, Green WR, Fine SL. A histopathologic study of Best's macular dystrophy. *Arch Ophthalmol* 1982; 100: 1115-1121
- Friedman DS, O'Colmain BJ, Munoz B. The Eye Diseases Prevalence Research Group. Prevalence of age-related macular degeneration in the United States. *Arch Ophthalmol* 2004; 122: 564-572
- Funk RHW, Apple DJ, Naumann GOH. Embryologie, Anatomie und Untersuchungstechnik. In: Naumann GOH, Hrsg. *Pathologie des Auges I*. Berlin, Heidelberg: Springer, 1997: 1-90
- Gartner S, Henkind P. Aging and degeneration of the human macula. 1. Outer nuclear layer and photoreceptors. *Br J Ophthalmol* 1981; 65: 23-28
- Glaser BM, Campochiaro PA, Davis JL, Jr., Sato M. Retinal pigment epithelial cells release an inhibitor of neovascularization. *Arch Ophthalmol* 1985; 103: 1870-1875
- Gold B, Merriam JE, Zernant J, Hancox LS, Taiber AJ, Gehrs K, Cramer K, Neel J, Bergeron J, Barile GR, Smith RT, Hageman GS, Dean M, Allikmets R. Variation in factor B (BF) and complement component 2 (C2) genes is associated with age-related macular degeneration. *Nat Genet* 2006; 38: 458-462
- Gray DC, Merigan W, Wolfing JI, Gee BP, Porter J, Dubra A, Twietmeyer TH, Ahamd K, Tumber R, Reinholz F, Williams DR. In vivo fluorescence imaging of primate retinal ganglion cells and retinal pigment epithelial cells. *Opt Express* 2006; 14: 7144-7158
- Green WR, McDonnell PJ, Yeo JH. Pathologic features of senile macular degeneration. *Ophthalmology* 1985; 92: 615-627

Green WR, Engel C. Age-related macular degeneration histopathologic studies: the 1992 Lorenz E. Zimmermann Lecture. *Ophthalmology* 1993; 100: 1519-1535

Grehn F. *Augenheilkunde*. Heidelberg: Springer, 2006

Grisanti S, Tatar O. The role of vascular endothelial growth factor and other endogenous interplayers in age-related macular degeneration. *Prog Retin Eye Res* 2008; 27: 372-390

Haines JL, Hauser MA, Schmidt S, Scott WK, Olson LM, Gallins P, Spencer KL, Kwan SY, Nouredine M, Gilbert JR, Schnetz-Boutaud N, Agarwal A, Postel EA, Pericak-Vance MA. Complement factor H variant increases the risk of age-related macular degeneration. *Science* 2005; 308: 419-421

Hammer M, Richter S, Guehrs KH, Schweitzer D. Retinal pigment epithelium cell damage by A2-E and its photo-derivatives. *Mol Vis* 2006; 12: 1348-1354

Hammond CJ, Webster AR, Snieder H, Bird AC, Gilbert CE, Spector TD. Genetic influence on early age-related maculopathy: a twin study. *Ophthalmology* 2002; 109: 730-736

Hattenbach LO, Beck KF, Pfeilschifter J, Koch F, Ohrloff C, Schacke W. Pigment-epithelium-derived factor is upregulated in photocoagulated human retinal pigment epithelial cells. *Ophthalmic Res* 2005; 37: 341-346

Hogan M. Role of the retinal pigment epithelium in macular disease. *Trans Am Acad Ophthalmol Otolaryngol* 1972; 76: 64-80

Holz FG, Wolfensberger TJ, Piguet B, Minassian D, Bird AC. Makuläre Drusen: Veränderungen des retinalen Pigmentepithels und angiographische Charakteristika als prognostische Merkmale. *Ophthalmologie* 1994a; 91: 735-740

Holz FG, Sheraidah G, Pauleikhoff D, Bird AC. Analysis of lipid deposits extracted from human macular and peripheral Bruch's membrane. *Arch Ophthalmol* 1994b; 112: 402-406

Holz FG, Wolfensberger TJ, Piguet B, Gross-Jendroska M, Wells JA, Minassian DC, Chisholm IH, Bird AC. Bilateral macular drusen in age-related macular degeneration. Prognosis and risk factors. *Ophthalmology* 1994c; 101: 1522-1528

Holz FG, Bellmann C, Rohrschneider K, Burk RO, Völcker HE. Simultaneous confocal scanning laser fluorescein and indocyanine green angiography. *Am J Ophthalmol* 1998; 125: 227-236

Holz FG, Bellmann C, Margaritidis M, Schütt F, Otto TP, Völcker HE. Patterns of increased in vivo fundus autofluorescence in the junctional zone of geographic atrophy of the retinal pigment epithelium associated with age-related macular degeneration. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 1999a; 237: 145-152

Holz FG, Schütt F, Kopitz J, Eldred GE, Kruse FE, Völcker HE, Cantz M. Inhibition of lysosomal degradative functions in RPE cells by a retinoid component of lipofuscin. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1999b; 40: 737-743

Holz FG, Bellman C, Staudt S, Schütt F, Völcker HE. Fundus autofluorescence and development of geographic atrophy in age-related macular degeneration. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2001; 42: 1051-1056

Holz FG. Autofluoreszenz-Imaging der Makula. *Ophthalmologe* 2001; 98: 10-18

Holz FG, Pauleikhoff D, Spaide RF, Bird AC. *Altersabhängige Makuladegeneration*. Berlin, Heidelberg: Springer, 2004a

Holz FG, Pauleikhoff D. Klinische Manifestationsformen und Prognose. In: Holz FG, Pauleikhoff D, Spaide RF, Bird AC, Hrsg. *Altersabhängige Makuladegeneration*. Berlin, Heidelberg: Springer, 2004: 73-90

Holz FG, Schütt F, Pauleikhoff D, Bird AC. Pathophysiologie. In: Holz FG, Pauleikhoff D, Spaide RF, Bird AC, Hrsg. *Altersabhängige Makuladegeneration*. Berlin, Heidelberg: Springer, 2004b: 33-49

Holz FG, Pauleikhoff D, Klein R, Bird AC. Pathogenesis of lesions in late age-related macular disease. *Am J Ophthalmol* 2004c; 137: 504-510

Holz FG, Bindewald A, Schmitz-Valckenberg S, Eter N, Scholl HP. Neue Entwicklungen in der Therapie der altersabhängigen Makuladegeneration. *Dtsch Arztebl* 2006; 103: 482-487

Holz FG, Bindewald-Wittich A, Fleckenstein M, Dreyhaupt J, Scholl HPN, Schmitz-Valckenberg S. Progression of geographic atrophy and impact of fundus autofluorescence patterns in age-related macular degeneration. *Am J Ophthalmol* 2007; 143: 463-472

Hopkins J, Walsh A, Chakravarthy U. Fundus autofluorescence in age-related macular degeneration: an epiphenomenon? *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2006; 47: 2269-2271

Huang D, Swanson EA, Lin CP, Schuman JS, Stinson WG, Chang W, Hee MR, Flotte T, Gregory K, Puliafito CA, et al. Optical coherence tomography. *Science* 1991; 254: 1178-1181

Hudson HL, Lane SS, Heier JS, Stulting RD, Singerman L, Lichter PR, Sternberg P, Chang DF. Implantable miniature telescope for the treatment of visual acuity loss resulting from end-stage age-related macular degeneration: 1-year results. *Ophthalmology* 2006; 113: 1987-2001

Hudson HL, Stulting RD, Heier JS, Lane SS, Chang DF, Singerman LJ, Bradford CA, Leonard RE. Implantable telescope for end-stage age-related macular degeneration: long-term visual acuity and safety outcomes. *Am J Ophthalmol* 2008; 146: 664-673

- Hwang JC, Chan JW, Chang S, Smith RT. Predictive value of fundus autofluorescence for development of geographic atrophy in age-related macular degeneration. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2006; 47: 2655-2661
- Jager RD, Mieler WF, Miller JW. Age-related macular degeneration. *N Engl J Med* 2008; 358: 2606-2617
- Jean B, Frohn A, Thiel HJ. Laserscanning in der Ophthalmologie. *Fortschr Ophthalmol* 1990; 87: 158-167
- Jorzik JJ, Bindewald A, Dithmar S, Holz FG. Digital simultaneous fluorescein and indocyanine green angiography, autofluorescence, and red-free imaging with a solid-state laser-based confocal scanning laser ophthalmoscope. *Retina* 2005; 25: 405-416
- Katz ML, Drea CM, Eldred GE, Hess HH, Robison WG, Jr. Influence of early photoreceptor degeneration on lipofuscin in the retinal pigment epithelium. *Exp Eye Res* 1986; 43: 561-573
- Katz ML. Incomplete proteolysis may contribute to lipofuscin accumulation in the retinal pigment epithelium. *Adv Exp Med Biol* 1989; 266: 109-116; discussion 116-118
- Katz ML. Potential role of retinal pigment epithelial lipofuscin accumulation in age-related macular degeneration. *Arch Gerontol Geriatr* 2002; 34: 359-370
- Kennedy CJ, Rakoczy PE, Constable IJ. Lipofuscin of the retinal pigment epithelium: a review. *Eye* 1995; 9: 763-771
- Klaver CC, Assink JJ, van Leeuwen R, Wolfs RC, Vingerling JR, Stijnen T, Hofman A, de Jong PT. Incidence and progression rates of age-related maculopathy: the Rotterdam Study. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2001; 42: 2237-2241
- Klaver CCW, Van Leeuwen R, Vingerling JR, De Jong PTVM. Epidemiologie. In: Holz FG, Pauleikhoff D, Spaide RF, Bird AC, Hrsg. *Altersabhängige Makuladegeneration*. Berlin, Heidelberg: Springer, 2004: 1-23
- Klein ML, Mauldin WM, Stoumbos VD. Heredity and age-related macular degeneration. Observations in monozygotic twins. *Arch Ophthalmol* 1994; 112: 932-937
- Klein ML, Ferris FL, 3rd, Armstrong J, Hwang TS, Chew EY, Bressler SB, Chandra SR. Retinal precursors and the development of geographic atrophy in age-related macular degeneration. *Ophthalmology* 2008; 115: 1026-1031
- Klein R, Davis MD, Magli YL, Segal P, Klein BE, Hubbard L. The Wisconsin age-related maculopathy grading system. *Ophthalmology* 1991; 98: 1128-1134
- Klein R, Klein BE, Linton KL. Prevalence of age-related maculopathy. The Beaver Dam Eye Study. *Ophthalmology* 1992; 99: 933-943



- Klein R, Klein BE, Cruickshanks KJ. The prevalence of age-related maculopathy by geographic region and ethnicity. *Prog Retin Eye Res* 1999; 18: 371-389
- Klein R, Peto T, Bird A, Vannewkirk MR. The epidemiology of age-related macular degeneration. *Am J Ophthalmol* 2004; 137: 486-95
- Klein R, Klein BE, Knudtson MD, Meuer SM, Swift M, Gangnon RE. Fifteen-year cumulative incidence of age-related macular degeneration: the Beaver Dam Eye Study. *Ophthalmology* 2007; 114: 253-262
- Klein R, Meuer SM, Knudtson MD, Klein BE. The epidemiology of progression of pure geographic atrophy: The Beaver Dam Eye Study. *Am J Ophthalmol* 2008; 146: 692-699
- Klein RJ, Zeiss C, Chew EY, Tsai JY, Sackler RS, Haynes C, Henning AK, SanGiovanni JP, Mane SM, Mayne ST, Bracken MB, Ferris FL, Ott J, Barnstable C, Hoh J. Complement factor H polymorphism in age-related macular degeneration. *Science* 2005; 308: 385-389
- Kleinman ME, Yamada K, Takeda A, Chandrasekaran V, Nozaki M, Baffi JZ, Albuquerque RJ, Yamasaki S, Itaya M, Pan Y, Appukuttan B, Gibbs D, Yang Z, Kariko K, Ambati BK, Wilgus TA, DiPietro LA, Sakurai E, Zhang K, Smith JR, Taylor EW, Ambati J. Sequence- and target-independent angiogenesis suppression by siRNA via TLR3. *Nature* 2008; 452: 591-597
- Kliffen M, de Jong PT, Luidert TM. Protein analysis of human maculae in relation to age-related maculopathy. *Lab Invest* 1995; 73: 267-272
- Lavin MJ, Eldem B, Gregor ZJ. Symmetry of disciform scars in bilateral age-related macular degeneration. *Br J Ophthalmol* 1991; 75: 133-136
- Lin L. Overview of agreement statistics for medical devices. *J Biopharm Stat* 2008; 18: 126-144
- Lin LI. A concordance correlation coefficient to evaluate reproducibility. *Biometrics* 1989; 45: 255-268
- Liu J, Itagaki Y, Ben-Shabat S, Nakanishi K, Sparrow JR. The biosynthesis of A2E, a fluorophore of aging retina, involves the formation of the precursor, A2-PE, in the photoreceptor outer segment membrane. *J Biol Chem* 2000; 275: 29354-29360
- MacDonald IM, Sauve Y, Sieving PA. Preventing blindness in retinal disease: ciliary neurotrophic factor intraocular implants. *Can J Ophthalmol* 2007; 42: 399-402
- Maguire P, Vine AK. Geographic atrophy of the retinal pigment epithelium. *Am J Ophthalmol* 1986; 102: 621-625

Maller J, George S, Purcell S, Fagerness J, Altshuler D, Daly MJ, Seddon JM. Common variation in three genes, including a noncoding variant in CFH, strongly influences risk of age-related macular degeneration. *Nat Genet* 2006; 38: 1055-1059

Margaritidis M. Topographische Erfassung der lipofuszininduzierten Fundusautofluoreszenz in vivo bei Patienten mit altersabhängiger Makuladegeneration mittels eines konfokalen Scanning Laser Ophthalmoskops. Medizinische Dissertation 1998; Universität Heidelberg

McBain VA, Townend J, Lois N. Fundus autofluorescence in exudative age-related macular degeneration. *Br J Ophthalmol* 2007; 91: 491-496

Meyer-Rüsenberg HW, Emmerich KH. Fluoreszenzangiographie. In: Kroll P, Küchle M, Küchle HJ, Hrsg. Augenärztliche Untersuchungsmethoden. Stuttgart: Thieme, 2008: 407-417

Meyers SM, Greene T, Gutman FA. A twin study of age-related macular degeneration. *Am J Ophthalmol* 1995; 120: 757-766

Mitchell P, Smith W, Attebo K, Wang JJ. Prevalence of age-related maculopathy in Australia. The Blue Mountains Eye Study. *Ophthalmology* 1995; 102: 1450-1460

Moore DJ, Hussain AA, Marshall J. Age-related variation in the hydraulic conductivity of Bruch's membrane. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1995; 36: 1290-1297

Okubo A, Rosa RH, Jr., Bunce CV, Alexander RA, Fan JT, Bird AC, Luthert PJ. The relationships of age changes in retinal pigment epithelium and Bruch's membrane. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1999; 40: 443-449

Olver J, Pauleikhoff D, Bird AC. Morphometric analysis of age changes in the chorioicapillaris. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1990; 31: S47

Pauleikhoff D, Harper CA, Marshall J, Bird AC. Aging changes in Bruch's membrane. A histochemical and morphologic study. *Ophthalmology* 1990a; 97: 171-178

Pauleikhoff D, Barondes MJ, Minassian D, Chisholm IH, Bird AC. Drusen as risk factors in age-related macular disease. *Am J Ophthalmol* 1990b; 109: 38-43

Pauleikhoff D, Hermans P, Holz FG, Bird AC. Histopathologie. In: Holz FG, Pauleikhoff D, Spaide RF, Bird AC, Hrsg. Altersabhängige Makuladegeneration. Berlin, Heidelberg: Springer, 2004: 51-72

Pauleikhoff D, Scheider A, Wiedmann P, Gelissen F, Scholl HP, Roeder I, Mohr A, Zlateva G, Xu X. Neovaskuläre altersabhängige Makuladegeneration in Deutschland : Beintragung der Lebensqualität und ihre finanziellen Auswirkungen. *Ophthalmologie* 2009; 106: 242-251

Penfold PL, Killingsworth MC, Sarks SH. Senile macular degeneration. The involvement of giant cells in atrophy of the retinal pigment epithelium. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1986; 27: 364-371

Plesch A, Chaperro V, Bille J, Gotz ML, Jaeger W. Laser Scanning Ophthalmoskopie. *Fortschr Ophthalmol* 1986; 83: 530-531

Radu RA, Han Y, Bui TV, Nusinowitz S, Bok D, Lichter J, Widder K, Travis GH, Mata NL. Reductions in serum vitamin A arrest accumulation of toxic retinal fluorophores: a potential therapy for treatment of lipofuscin-based retinal diseases. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2005; 46: 4393-4401

Ramrattan RS, van der Schaft TL, Mooy CM, de Bruijn WC, Mulder PG, de Jong PT. Morphometric analysis of Bruch's membrane, the choriocapillaris, and the choroid in aging. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1994; 35: 2857-2864

Rivera A, Fisher SA, Fritsche LG, Keilhauer CN, Lichtner P, Meitinger T, Weber BH. Hypothetical LOC387715 is a second major susceptibility gene for age-related macular degeneration, contributing independently of complement factor H to disease risk. *Hum Mol Genet* 2005; 14: 3227-3236

Rohrschneider K, Fendrich T, Becker M, Krastel H, Kruse FE, Völcker HE. Static fundus perimetry using the scanning laser ophthalmoscope with an automated threshold strategy. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 1995; 233: 743-749

Rosenfeld PJ, Brown DM, Heier JS, Boyer DS, Kaiser PK, Chung CY, Kim RY. Ranibizumab for neovascular age-related macular degeneration. *N Engl J Med* 2006; 355: 1419-1431

Sarks JP, Sarks SH, Killingsworth MC. Evolution of geographic atrophy of the retinal pigment epithelium. *Eye* 1988; 2 (Pt 5): 552-577

Sarks SH. Ageing and degeneration in the macular region: a clinico-pathological study. *Br J Ophthalmol* 1976; 60: 324-341

Sarks SH, Van Driel D, Maxwell L, Killingsworth M. Softening of drusen and subretinal neovascularization. *Trans Ophthalmol Soc U K* 1980; 100: 414-422

Schatz H, McDonald HR. Atrophic macular degeneration. Rate of spread of geographic atrophy and visual loss. *Ophthalmology* 1989; 96: 1541-1551

Schmidt S, Hauser MA, Scott WK, Postel EA, Agarwal A, Gallins P, Wong F, Chen YS, Spencer K, Schnetz-Boutaud N, Haines JL, Pericak-Vance MA. Cigarette smoking strongly modifies the association of LOC387715 and age-related macular degeneration. *Am J Hum Genet* 2006; 78: 852-864

Schmitz-Valckenberg S. Digitales Fundusautofluoreszenz-Mapping mittels konfokaler Scanning-Laser-Ophthalmoskopie bei geographischer Atrophie des retinalen

Pigmentepithels im Rahmen der altersabhängigen Makuladegeneration. Medizinische Dissertation 2002; Universität Heidelberg

Schmitz-Valckenberg S, Jorzik J, Unnebrink K, Holz FG. Analysis of digital scanning laser ophthalmoscopy fundus autofluorescence images of geographic atrophy in advanced age-related macular degeneration. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2002; 240: 73-78

Schmitz-Valckenberg S, Bultmann S, Dreyhaupt J, Bindewald A, Holz FG, Rohrschneider K. Fundus autofluorescence and fundus perimetry in the junctional zone of geographic atrophy in patients with age-related macular degeneration. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2004; 45: 4470-4476

Schmitz-Valckenberg S, Bindewald-Wittich A, Dolar-Szczasny J, Dreyhaupt J, Wolf S, Scholl HP, Holz FG. Correlation between the area of increased autofluorescence surrounding geographic atrophy and disease progression in patients with AMD. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2006; 47: 2648-2654

Schmitz-Valckenberg S, Fitzke FW, Holz FG. Fundus autofluorescence imaging with the confocal scanning laser ophthalmoscope. In: Holz FG, Schmitz-Valckenberg S, Spaide RF, Bird AC, Hrsg. *Atlas of Fundus Autofluorescence Imaging*. Berlin, Heidelberg: Springer, 2007a: 31-36

Schmitz-Valckenberg S, Luong VY, Fitzke FW, Holz FG. How to obtain the optimal fundus autofluorescence image with the confocal scanning laser ophthalmoscope. In: Holz FG, Schmitz-Valckenberg S, Spaide RF, Bird AC, Hrsg. *Atlas of Fundus Autofluorescence Imaging*. Berlin, Heidelberg: Springer, 2007b: 37-47

Schmitz-Valckenberg S, Bindewald-Wittich A, Fleckenstein M, Scholl HPN, Holz FG. Age-related macular degeneration II - geographic atrophy. In: Holz FG, Schmitz-Valckenberg S, Spaide RF, Bird AC, Hrsg. *Atlas of Fundus Autofluorescence Imaging*. Berlin, Heidelberg: Springer, 2007c: 147-163

Schmitz-Valckenberg S, Fleckenstein M, Göbel AP, Sehmi K, Fitzke FW, Holz FG, Tufail A. Evaluation of autofluorescence imaging with the scanning laser ophthalmoscope and the Fundus Camera in age-related geographic atrophy. *Am J Ophthalmol* 2008a; 146: 183-192

Schmitz-Valckenberg S, Holz FG, Bird AC, Spaide RF. Fundus autofluorescence imaging: review and perspectives. *Retina* 2008b; 28: 385-409

Schmitz-Valckenberg S, Fleckenstein M, Scholl HP, Holz FG. Fundus autofluorescence and progression of age-related macular degeneration. *Surv Ophthalmol* 2009; 54: 96-117

Scholl HP, Bellmann C, Dandekar SS, Bird AC, Fitzke FW. Photopic and scotopic fine matrix mapping of retinal areas of increased fundus autofluorescence in patients with age-related maculopathy. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2004; 45: 574-583

Scholl HP, Charbel Issa P, Walier M, Janzer S, Pollok-Kopp B, Borncke F, Fritsche LG, Chong NV, Fimmers R, Wienker T, Holz FG, Weber BH, Oppermann M. Systemic complement activation in age-related macular degeneration. *PLoS ONE* 2008; 3: e2593

Scholl HP, Fleckenstein M, Fritsche LG, Schmitz-Valckenberg S, Göbel A, Adrion C, Herold C, Keilhauer CN, Mackensen F, Mossner A, Pauleikhoff D, Weinberger AW, Mansmann U, Holz FG, Becker T, Weber BH. CFH, C3 and ARMS2 are significant risk loci for susceptibility but not for disease progression of geographic atrophy due to AMD. *PLoS One* 2009; 4: e7418

Scholl HPN, Fleckenstein M, Charbel Issa P, Keilhauer C, Holz FG, Weber BH. An update on the genetics of age-related macular degeneration. *Mol Vis* 2007; 13: 196-205

Schrader WF. Altersbedingte Makuladegeneration. *Sozioökonomische Zeitbombe in der alternden Gesellschaft. Ophthalmologe* 2006; 103: 742-748

Schütt F, Davies S, Kopitz J, Holz FG, Boulton ME. Photodamage to human RPE cells by A2-E, a retinoid component of lipofuscin. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2000; 41: 2303-2308

Schütt F, Bergmann M, Holz FG, Kopitz J. Isolation of intact lysosomes from human RPE cells and effects of A2-E on the integrity of the lysosomal and other cellular membranes. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2002; 240: 983-988

Schweitzer D, Schenke S, Hammer M, Schweitzer F, Jentsch S, Birckner E, Becker W, Bergmann A. Towards metabolic mapping of the human retina. *Microsc Res Tech* 2007; 70: 410-419

Sieving PA, Caruso RC, Tao W, Coleman HR, Thompson DJ, Fullmer KR, Bush RA. Ciliary neurotrophic factor (CNTF) for human retinal degeneration: phase I trial of CNTF delivered by encapsulated cell intraocular implants. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2006; 103: 3896-3901

Slakter JS, Stur M. Quality of life in patients with age-related macular degeneration: impact of the condition and benefits of treatment. *Surv Ophthalmol* 2005; 50: 263-273

Smiddy WE, Fine SL. Prognosis of patients with bilateral macular drusen. *Ophthalmology* 1984; 91: 271-277

Smith RT, Chan JK, Busuoioc M, Sivagnanavel V, Bird AC, Chong NV. Autofluorescence characteristics of early, atrophic, and high-risk fellow eyes in age-related macular degeneration. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2006; 47: 5495-5504

Smith T, Busuoioc M, Lee N, Laine AF, Schmitz-Valckenberg S, Holz FG. Autofluorescence and geographic atrophy. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2007; 48: E-Abstract 5114

- Smith W, Assink J, Klein R, Mitchell P, Klaver CC, Klein BE, Hofman A, Jensen S, Wang JJ, de Jong PT. Risk factors for age-related macular degeneration: Pooled findings from three continents. *Ophthalmology* 2001; 108: 697-704
- Solbach U, Keilhauer C, Knabben H, Wolf S. Imaging of retinal autofluorescence in patients with age-related macular degeneration. *Retina* 1997; 17: 385-389
- Spaide RF. Fundus autofluorescence and age-related macular degeneration. *Ophthalmology* 2003; 110: 392-399
- Spaide RF, Laud K, Fine HF, Klancnik JM, Jr., Meyerle CB, Yannuzzi LA, Sorenson J, Slakter J, Fisher YL, Cooney MJ. Intravitreal bevacizumab treatment of choroidal neovascularization secondary to age-related macular degeneration. *Retina* 2006; 26: 383-390
- Spaide RF. Autofluorescence imaging with the Fundus Camera. In: Holz FG, Schmitz-Valckenberg S, Spaide RF, Bird AC, Hrsg. *Atlas of Fundus Autofluorescence Imaging*. Berlin, Heidelberg: Springer, 2007: 49-54
- Spalton DJ, Marshall J. Normale Netzhaut. In: Spalton DJ, Hitchings RA, Hunter PA, Hrsg. *Atlas der Augenkrankheiten*. Stuttgart: Thieme, 1996: 311-340
- Sparrow J. Lipofuscin of the Retinal Pigment Epithelium. In: Holz FG, Schmitz-Valckenberg S, Spaide RF, Bird AC, Hrsg. *Atlas of Fundus Autofluorescence Imaging*. Berlin, Heidelberg: Springer, 2007: 3-16
- Sparrow JR, Parish CA, Hashimoto M, Nakanishi K. A2E, a lipofuscin fluorophore, in human retinal pigmented epithelial cells in culture. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1999; 40: 2988-2995
- Sparrow JR, Nakanishi K, Parish CA. The lipofuscin fluorophore A2E mediates blue light-induced damage to retinal pigmented epithelial cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2000; 41: 1981-1989
- Sparrow JR, Boulton M. RPE lipofuscin and its role in retinal pathobiology. *Exp Eye Res* 2005; 80: 595-606
- Spital G, Radermacher M, Muller C, Brumm G, Lommatzsch A, Pauleikhoff D. Autofluoreszenz-Charakteristika von Lipofuszinbestandteilen bei unterschiedlichen Formen der späten altersabhängigen Makuladegeneration. *Klin Monatsbl Augenheilkd* 1998; 213: 23-31
- Spitznas M, Hogan MJ. Outer segments of photoreceptors and the retinal pigment epithelium. Interrelationship in the human eye. *Arch Ophthalmol* 1970; 84: 810-819
- Strauss O. Die Rolle des retinalen Pigmentepithels im Rahmen visueller Funktionen. *Ophthalmologie* 2009; 106: 299-304

Streeten BW. Development of the human retinal pigment epithelium and the posterior segment. *Arch Ophthalmol* 1969; 81: 383-394

Sunness JS, Applegate CA, Haselwood D, Rubin GS. Fixation patterns and reading rates in eyes with central scotomas from advanced atrophic age-related macular degeneration and Stargardt disease. *Ophthalmology* 1996; 103: 1458-1466

Sunness JS, Rubin GS, Applegate CA, Bressler NM, Marsh MJ, Hawkins BS, Haselwood D. Visual function abnormalities and prognosis in eyes with age-related geographic atrophy of the macula and good visual acuity. *Ophthalmology* 1997; 104: 1677-1691

Sunness JS, Bressler NM, Tian Y, Alexander J, Applegate CA. Measuring geographic atrophy in advanced age-related macular degeneration. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1999a; 40: 1761-1769

Sunness JS. The natural history of geographic atrophy, the advanced atrophic form of age-related macular degeneration. *Mol Vis* 1999; 5: 25-30

Sunness JS, Gonzalez-Baron J, Applegate CA, Bressler NM, Tian Y, Hawkins B, Barron Y, Bergman A. Enlargement of atrophy and visual acuity loss in the geographic atrophy form of age-related macular degeneration. *Ophthalmology* 1999b; 106: 1768-1779

Sunness JS, Ziegler MD, Applegate CA. Issues in quantifying atrophic macular disease using retinal autofluorescence. *Retina* 2006; 26: 666-672

Sunness JS, Margalit E, Srikurnaran D, Applegate CA, Tian Y, Perry D, Hawkins B, Bressler NM. The long-term natural history of geographic atrophy from age-related macular degeneration. *Ophthalmology* 2007a; 114: 271-277

Sunness JS, Applegate CA, Bressler NM, Hawkins BS. Designing clinical trials for age-related geographic atrophy of the macula: enrollment data from the geographic atrophy natural history study. *Retina* 2007b; 27: 204-210

Sutter FK, Menghini M, Barthelmes D, Fleischhauer JC, Kurz-Levin MM, Bosch MM, Helbig H. Is pseudophakia a risk factor for neovascular age-related macular degeneration? *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2007; 48: 1472-1475

Terman A, Brunk UT. Oxidative stress, accumulation of biological 'garbage', and aging. *Antioxid Redox Signal* 2006; 8: 197-204

Tomany SC, Wang JJ, Van Leeuwen R, Klein R, Mitchell P, Vingerling JR, Klein BE, Smith W, De Jong PT. Risk factors for incident age-related macular degeneration: pooled findings from 3 continents. *Ophthalmology* 2004; 111: 1280-1287

van der Schaft TL, de Bruijn WC, Mooy CM, Ketelaars DA, de Jong PT. Is basal laminar deposit unique for age-related macular degeneration? *Arch Ophthalmol* 1991; 109: 420-425

- van Leeuwen R, Klaver CC, Vingerling JR, Hofman A, de Jong PT. Epidemiology of age-related maculopathy: a review. *Eur J Epidemiol* 2003; 18: 845-854
- von Rückmann A, Fitzke FW, Bird AC. Distribution of fundus autofluorescence with a scanning laser ophthalmoscope. *Br J Ophthalmol* 1995; 79: 407-412
- von Rückmann A, Fitzke FW, Bird AC. Fundus autofluorescence in age-related macular disease imaged with a laser scanning ophthalmoscope. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1997; 38: 478-486
- Wang JJ, Mitchell P, Smith W, Cumming RG. Bilateral involvement by age related maculopathy lesions in a population. *Br J Ophthalmol* 1998; 82: 743-747
- Wang JJ, Rochtchina E, Lee AJ, Chia EM, Smith W, Cumming RG, Mitchell P. Ten-year incidence and progression of age-related maculopathy: the Blue Mountains Eye Study. *Ophthalmology* 2007; 114: 92-98
- Webb RH, Hughes GW. Scanning laser ophthalmoscope. *IEEE Trans Biomed Eng* 1981; 28: 488-492
- Webb RH, Hughes GW, Delori FC. Confocal scanning laser ophthalmoscope. *Appl Opt* 1987; 26: 1492-1499
- Weiter JJ, Delori FC, Wing GL, Fitch KA. Retinal pigment epithelial lipofuscin and melanin and choroidal melanin in human eyes. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1986; 27: 145-152
- Weiter JJ. Macular degeneration. Is there a nutritional component? *Arch Ophthalmol* 1988; 106: 183-184
- Whitehead AJ, Mares JA, Danis RP. Macular pigment: a review of current knowledge. *Arch Ophthalmol* 2006; 124: 1038-1045
- Wing GL, Blanchard GC, Weiter JJ. The topography and age relationship of lipofuscin concentration in the retinal pigment epithelium. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1978; 17: 601-607
- Wolf-Schnurrbusch UE, Enzmann V, Brinkmann CK, Wolf S. Morphologic changes in patients with geographic atrophy assessed with a novel spectral OCT-SLO combination. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2008; 49: 3095-3099
- World Health Organization. *The World Health Report 2006: working together for health*. Geneva, Switzerland. 2006
- Yang Z, Stratton C, Francis PJ, Kleinman ME, Tan PL, Gibbs D, Tong Z, Chen H, Constantine R, Yang X, Chen Y, Zeng J, Davey L, Ma X, Hau VS, Wang C, Harmon J, Buehler J, Pearson E, Patel S, Kaminoh Y, Watkins S, Luo L, Zabriskie NA, Bernstein PS, Cho W, Schwager A, Hinton DR, Klein ML, Hamon SC, Simmons E, Yu B,



Campochiaro B, Sunness JS, Campochiaro P, Jorde L, Parmigiani G, Zack DJ, Katsanis N, Ambati J, Zhang K. Toll-like receptor 3 and geographic atrophy in age-related macular degeneration. *N Engl J Med* 2008; 59: 1456-1463

Yin D. Biochemical basis of lipofuscin, ceroid, and age pigment-like fluorophores. *Free Radic Biol Med* 1996; 21: 871-888

Young RW. Pathophysiology of age-related macular degeneration. *Surv Ophthalmol* 1987; 31: 291-306

Young RW. Solar radiation and age-related macular degeneration. *Surv Ophthalmol* 1988; 32: 252-269

Zrenner E, Seeliger MW, Reinhard J. Funktionsprüfungen der Makula. In: Holz FG, Pauleikhoff D, Spaide RF, Bird AC, Hrsg. *Altersabhängige Makuladegeneration*. Berlin, Heidelberg: Springer, 2004: 111-120

## 7 Danksagung

Mein sehr herzlicher Dank gilt Herrn Prof. Dr. med. Frank G. Holz für die Möglichkeit, an der Universitäts-Augenklinik Bonn in der FAM-Studie mitwirken zu können, für die Überlassung des Themas, für die hilfreichen Ratschläge und für die vielfältige Förderung.

Frau Dr. med. Monika Fleckenstein gebührt mein ganz besonderer Dank für ihre hervorragende Betreuung und unermüdliche Hilfsbereitschaft. Zu jeder Zeit und zu jeder Frage war sie eine kompetente Ansprechpartnerin. Auch in schwierigen Zeiten und nach Rückschlägen hat sie es immer wieder geschafft, mich neu zu motivieren.

Herrn Dr. med. Steffen Schmitz-Valckenberg danke ich ganz herzlich für seine vielen Anregungen, für seine stete Hilfsbereitschaft - auch bei schwierigen Detailfragen - und für sein Motivationsvermögen.

Frau Christine Adrion und Herrn Prof. Dr. rer. nat. Ulrich Mansmann gilt mein aufrichtiger Dank für die statistische Auswertung der Daten und für ihre Geduld bei Verständnisfragen und Diskussionen.

Herrn Priv.-Doz. Dr. Hendrik P. Scholl danke ich für die wertvolle Zusammenarbeit bei Patientenuntersuchungen, für die Bereitstellung von Unterlagen und für die guten Ratschläge.

Allen Mitarbeiterinnen in der Ambulanz, in der Anmeldung und im Archiv danke ich für ihre Geduld und die Hilfe bei der Koordination der Patientenuntersuchungen.

Allen beteiligten Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern in den teilnehmenden Zentren der FAM-Studie danke ich für die Bereitstellung von Fundusautofluoreszenzaufnahmen von Patienten mit geographischer Atrophie.

Mein Dank gilt Herrn Gero Tietz und Herrn Boris Airo für die Durchführung der Bildgebung. Herrn Erik Matthes danke ich für die vielfältige Hilfe bei Computerfragen. Frau Rita Zenker danke ich für die Hilfsbereitschaft bei der Beschaffung von Literatur.

Mein besonderer Dank gilt allen an der FAM-Studie teilnehmenden Patienten, für ihre Bereitschaft zur Teilnahme, ihre Mühe und ihre Geduld.