

Aus der Klinik und Poliklinik für Augenheilkunde
der Universität Würzburg
Direktor: Professor Dr. med. Jost Hillenkamp

**Auswirkungen einer
systemischen Chloroquin/Hydroxychloroquin-Therapie
auf die quantitative Fundusautofluoreszenz**

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde der
Medizinischen Fakultät
der
Julius-Maximilians-Universität Würzburg
vorgelegt von

Clara Maria Christiane Reichel

aus Bonn

Würzburg, Oktober 2021

Referent: Priv.-Doz. Dr. Thomas Ach

Korreferent/in: Prof. Dr. Dr. Barbara Braunger

Dekan: Prof. Dr. Matthias Frosch

Tag der mündlichen Prüfung: 04.08.2022

Die Promovendin ist Ärztin

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung.....	1
1.1	<i>Chloroquin und Hydroxychloroquin.....</i>	<i>1</i>
1.1.1	Entwicklung und Einsatz.....	1
1.1.2	Wirkung.....	3
1.1.3	Metabolismus.....	3
1.1.4	Nebenwirkungen.....	3
1.2	<i>HCQ- und CQ-Makulopathie.....</i>	<i>4</i>
1.2.1	Klinische Präsentation.....	4
1.2.2	Management, Prävalenzen, Risikofaktoren und Screening.....	7
1.2.3	Pathogenese und tierexperimentelle Erkenntnisse.....	10
1.3	<i>Quantitative Autofluoreszenz.....</i>	<i>12</i>
1.4	<i>Ziel dieser Arbeit.....</i>	<i>14</i>
2	Material und Methoden.....	15
2.1	<i>Patienten.....</i>	<i>15</i>
2.2	<i>Fragebogen.....</i>	<i>15</i>
2.3	<i>Untersuchungsmethoden.....</i>	<i>16</i>
2.3.1	ETDRS Visus.....	16
2.3.2	Messung der Hornhautkrümmung mittels IOL Master.....	17
2.3.3	Farbsehprüfung.....	17
2.3.4	Statische Perimetrie.....	18
2.3.5	Elektrophysiologie – multifokale Elektretinographie.....	18
2.3.6	Spectral domain Optische Kohärenztomographie.....	19
2.3.7	Multimodale Fundusaufnahmen am Heidelberg Engineering Spectralis HRA.....	21
2.3.8	Komplette ophthalmologische Untersuchung.....	23
2.4	<i>Auswertung.....</i>	<i>23</i>
2.4.1	Auswertung der QAF.....	23
2.4.2	Struktur-Funktions-Korrelation.....	27
2.4.3	Statistische Analyse.....	29
2.4.4	Normalgruppe der quantitativen Autofluoreszenz.....	30
3	Ergebnisse.....	31
3.1	<i>Patientenkohorte.....</i>	<i>31</i>
3.1.1	Gesamte Kohorte.....	31
3.1.2	CQ/HCQ induzierte Makulopathie.....	31

3.1.3	Patienten ohne Makulopathie	32
3.1.4	Patienten bis 60 Jahre	32
3.2	<i>Quantitative Fundusautofluoreszenz</i>	36
3.2.1	Farbkodierte Quantitative Fundusautofluoreszenz und weitere Modalitäten	36
3.2.2	Analyse mittels Delori Grid; QAF8.....	37
3.2.3	Analyse mittels modifiziertem Delori Grid (QAF97-Grid); QAF 97	39
3.2.4	QAF der Fovea und Parafovea.....	43
3.2.5	Analyse der höchsten QAF Segmente	45
3.2.6	QAF und kumulative Dosis/Einnahmedauer	47
3.2.7	Multimodale Fundusaufnahmen und farbkodierte QAF bei Patienten mit BEM.48	
3.3	<i>SD-OCT</i>	50
3.3.1	SD-OCT bei Patienten mit BEM	50
3.3.2	SD-OCT ETDRS Dicken und QAF ETDRS Grid.....	50
3.3.3	Netzhautdicken und QAF im fovealen Schnitt	53
4	Diskussion	55
4.1	<i>Screening Untersuchungen und Methodik</i>	55
4.2	<i>QAF bei Patienten unter CQ/HCQ Therapie</i>	56
4.2.1	Erhöhter QAF Werte unter CQ/HCQ Therapie und mögliche Ursachen	56
4.2.2	QAF bei Patienten mit Bull's-eye-Makulopathie	59
4.2.3	Entwicklung der QAF im Alter	61
4.2.4	Vorteile der Auswertung mittels QAF97 Grid	63
4.3	<i>Stellenwert der SD-OCT</i>	64
4.4	<i>Zusammensetzung der Studienpopulation</i>	65
4.5	<i>Limitationen der Studie</i>	66
4.5.1	Limitationen der Methodik	66
4.5.2	Limitationen in der untersuchten Studienpopulation.....	67
4.6	<i>Ausblick</i>	69
5	Zusammenfassung	71
6	Literaturverzeichnis	73

Abbildungsverzeichnis

Abb. 1	Strukturformel von Chloroquin und Hydroxychloroquin	1
Abb. 2	Prozessieren des QAF Bildes	24
Abb. 3	Registrierung und Ausrichtung der Aufnahmen zur Erstellung eines multimodalen Bilderstapels	25
Abb. 4	ETDRS Grid (Grid=Analysemuster), Delori Grid und QAF97-Grid	26
Abb. 5	Bestimmung der SD-OCT Dicken mittels HEYEX innerhalb des ETDRS Grids	28
Abb. 6	Bestimmung der SD-OCT Dicken und QAF Werte mittels FIJI Plug-In	29
Abb. 7	Farbkodierte QAF und weitere funktionelle/strukturelle Bildgebung	37
Abb. 8	Delori Grid (QAF8) und QAF97-Grid bei Patienten mit BEM	39
Abb. 9	QAF97 der CQ/HCQ Patienten und Kontrollen	40
Abb. 10	Anwendung des QAF97-Grid bei allen Patienten unter CQ/HCQ Therapie	43
Abb. 11	QAF Werte der Fovea und Parafovea	45
Abb. 12	Analyse der höchsten QAF Segmente des QAF97-Grids	46
Abb. 13	QAF und kumulative Dosis	48
Abb. 14	Farbkodierte QAF und multimodale Fundusaufnahmen (AF 488 nm, AF787 nm, Infrarotaufnahme und Rotfreiaufnahme der Patienten mit BEM)	49
Abb. 15	Fovealer SD-OCT Schnitt der Patienten mit BEM	50
Abb. 16	Netzhautdicken und QAF im fovealen, horizontalen Schnitt	54

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1	Demographische Daten aller Patienten	34
Tabelle 2	Alter und kumulative Dosis	35
Tabelle 3	QAF8 für unterschiedliche Subgruppen	38
Tabelle 4	QAF97 für unterschiedliche Subgruppen	41
Tabelle 5	Korrelation zwischen Netzhautdicke und QAF im ETDRS Grid bei Patienten ohne BEM	51
Tabelle 6	Netzhautdicken in Segmenten des ETRDS Grids bei Patienten ohne und mit BEM	53

Teile dieser Arbeit wurden veröffentlicht in

Reichel, C., Berlin, A., Radun, V., Tarau, I.-S., Hillenkamp, J., Kleefeldt, N., Sloan, K., Ach, T. (2020). Quantitative fundus autofluorescence in systemic chloroquin/hydroxychloroquin therapy. *Translational Vision Science & Technology*, 9(9), 42-42

Clara Reichel, Ioana-Sandra Tarau, Nikolai Kleefeldt, Jost Hillenkamp, Kenneth R Sloan, Thomas Ach; Quantified fundus autofluorescence (QAF) in patients with systemic chloroquin/hydroxychloroquin (CQ/HCQ) intake. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 2019;60(9):1585.

1 Einleitung

1.1 Chloroquin und Hydroxychloroquin

Chloroquin (CQ, Handelsname in Deutschland Resorchin) und Hydroxychloroquin (HCQ, Handelsname in Deutschland Quensyl) gehören zu den 4-Aminoquinolinen und werden zur Therapie und Prophylaxe der Malaria tropicana und Erkrankungen aus dem rheumatischen Formenkreis eingesetzt.

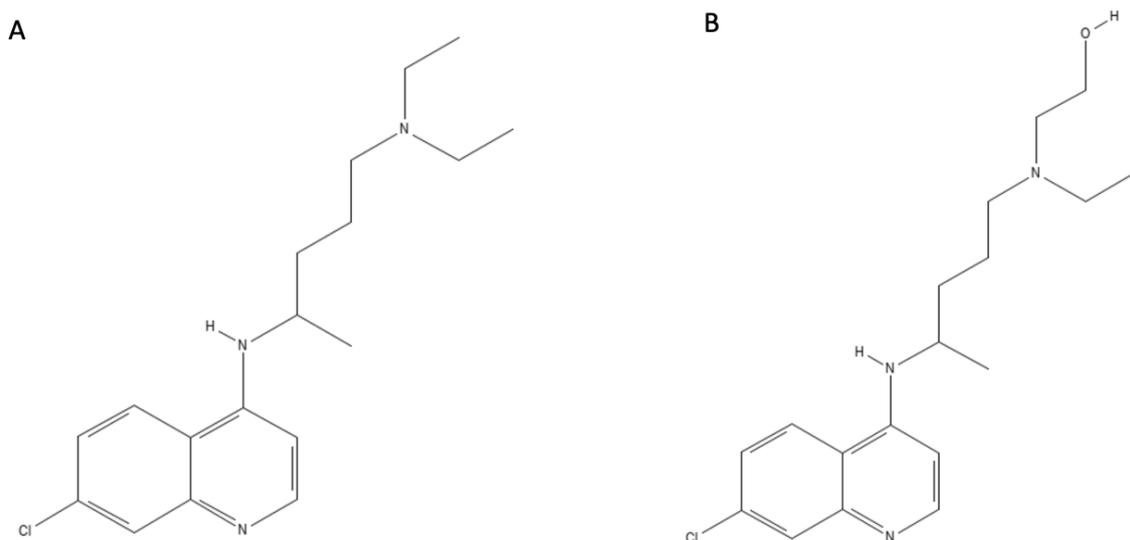


Abb. 1.A Strukturformel von CQ **1.B** Strukturformel von HCQ, mit zusätzlicher Hydroxylgruppe an einer N-Ethylgruppe

1.1.1 Entwicklung und Einsatz

CQ und HCQ sind Weiterentwicklungen des ersten Antimalariamittels Chinin. Im Jahr 1935 stellte Hans Andersag CQ synthetisch her, was ein entscheidender Durchbruch in der Therapie der Malaria war, weil nun ein effektives Antiprotozoikum zur Prophylaxe und Therapie der Malaria zur Verfügung stand (Krafts et al 2012). Durch den großflächigen Einsatz entwickelten die Erreger Plasmodium Vivax und Plasmodium falciparum Resistenzen, weswegen CQ heutzutage nur noch bei der Malaria quartana zum Einsatz kommt.

In der Bemühung um ein weniger toxisches, aber gleich wirksames Medikament synthetisierten Alexander Surrey und Henry Hammer 1964 HCQ, welches sich von CQ durch eine weitere Hydroxylgruppe unterscheidet (McChesney 1983).

Schon Ende des neunzehnten Jahrhunderts war die antiinflammatorische Wirkung des Chinins bekannt. Als durch die hohe Anwendungsrate von CQ und HCQ im zweiten Weltkrieg auffiel, dass die Soldaten seltener an arthritischen Schüben litten, untersuchten erste Studien die immunmodulatorischen Wirkung der beiden Wirkstoffe im Rahmen der rheumatoides Arthritis (Cohen & Calkins 1958, Freedman 1956, Freedman & Steinberg 1960, Schrezenmeier & Dörner 2020). Seither spielen CQ und HCQ vor allem in der Kombinationstherapie verschiedener rheumatologischer, dermatologischer und immunologischer Erkrankungen eine entscheidende Rolle. Gegenstand derzeitiger Forschung sind antithrombotische, antimikrobielle und antivirale Effekte, sowie der Einsatz in Therapie der Osteoporose, Dyslipidämie und Hyperglykämie (Al-Bari 2015).

Zu Beginn der COVID-19 Pandemie im Frühjahr 2020 wurde der Einsatz von CQ und HCQ zur antiviralen Therapie der Lungenerkrankung kontrovers diskutiert (Colson et al 2020, Gao et al 2020, Touret & de Lamballerie 2020). Vor der Pandemie wurden CQ und HCQ in den USA durchschnittlich 400.000 mal im Monat verschrieben. Im Frühjahr 2020 kam es, aufgrund der kurzzeitigen Empfehlung die Medikamente zur Behandlung einer COVID Pneumonie einzusetzen, zu einem deutlichen Anstieg der Verschreibungszahlen (Bull-Otterson et al 2020).

Heutzutage kommt insbesondere HCQ wegen seines sichereren Nebenwirkungsprofils bei gleicher Wirkstärke zum Einsatz, CQ wird nur noch selten verschrieben.

1.1.2 Wirkung

HCQ und CQ besitzen verschiedene immunmodulatorische Effekte, die bis heute noch nicht alle vollständig geklärt sind. Sie erhöhen den lysosomalen pH-Wert und haben so Einfluss auf Proteinabbau, posttranslationale Modifikationen und Antigenpräsentation. Des Weiteren werden Zytokinproduktion, DNA-Stabilität und B-, und T-Zell-Rezeptoren beeinflusst. (Ben-Zvi et al 2012, Ding et al 2016, Schrezenmeier & Dörner 2020)

1.1.3 Metabolismus

Nach oraler Aufnahme verteilen sich die Medikamente vor allen in Muskel, Haut- und Lebergewebe (Schrezenmeier & Dörner 2020). CQ besitzt eine Affinität zu Melanin und reichert sich, stärker als HCQ, in melaninhaltigem Gewebe an. Im Auge konnten Anreicherungen in Choroidea und dem retinalen Pigmentepithel (RPE) dargestellt werden (McChesney et al 1965, Rosenthal et al 1978, Schroeder & Gerber 2014). Bernstein beschreibt diese Anreicherung bereits nach einmaliger, intravenöser Gabe (Bernstein et al 1963). Die Medikamente werden in der Leber metabolisiert und über die Niere eliminiert. Deswegen ist bei Einnahme von CQ/HCQ auf eine ausreichende Leberfunktion und Komedikation mit Medikamenten, die Einfluss auf die metabolisierenden CYP-Enzyme haben, sowie Nierenfunktion zu achten (Furst 1996).

1.1.4 Nebenwirkungen

CQ und HCQ werden als sehr sichere Medikamente eingestuft. Häufigste Ursache für das Absetzen der Medikamente sind gastrointestinale Nebenwirkungen wie Übelkeit und Erbrechen. Neuromuskuläre, kardiologische und hämatologische Nebenwirkungen sind seltener (Rainsford et al 2015).

Okuläre Nebenwirkungen beinhalten Veränderungen an Kornea und Retina. Eine Keratopathie ist charakterisiert durch reversible Ablagerungen in der Kornea, die allerdings nicht zu einer Visusverschlechterung führt. Eine ernstzunehmende, irreversible okuläre Nebenwirkung ist die CQ/HCQ-

Makulopathie, die Fotorezeptoren und retinales Pigmentepithel betreffen und bei Beeinträchtigung der Fovea zu drastischer Visusminderung führen kann.

1.2 HCQ- und CQ-Makulopathie

1.2.1 Klinische Präsentation

1959 beschrieb Hobbs drei Fälle einer irreversiblen Makulopathie, die er mit der Einnahme von CQ in Verbindung brachte (Hobbs et al 1959). Alle drei Patienten zeigten Visusverluste, parazentrale Gesichtsfeldausfälle und korneale Ablagerungen. Funduskopisch ließen sich Pigmentveränderungen um die Fovea und verengte retinale Gefäße darstellen (Hobbs et al 1959). Auch nach Einführung des weniger toxischen HCQs konnten retinale Schädigungen beobachtet werden.

Die CQ/HCQ-Makulopathie betrifft meist beide Augen zugleich und schreitet über Jahre voran. Mit fortschreitendem Stadium lässt sich funduskopisch eine „Bull’s-Eye-Makulopathie“-Konfiguration erkennen, charakterisiert durch depigmentierte, zum Teil atrophe Areale um eine weitestgehend intakte Fovea, welche dem Bild einer Schießscheibe ähnelt. Durch weitere Progression kann es zu diffusen Defekten der parafovealen Retina kommen (de Sistiernes et al 2015).

Zu den frühen Symptomen einer CQ/HCQ-Makulopathie gehören perizentrale Gesichtsfeldausfälle. Diese sind zu Beginn meist fokal, am häufigsten inferotemporal, und können aber bis zu zirkulären zentralen Ausfällen fortschreiten (Marmor et al 2016). Aufgrund des parazentralen Befundes ist zu Beginn der Erkrankung der Visus oft nicht merklich beeinträchtigt. Für Patienten im fortgeschrittenen Stadium stehen dann allerdings irreversible und teilweise auch erhebliche Visusverluste im Vordergrund.

Der frühe parafoveale Funktionsverlust lässt sich neben Veränderungen in der Perimetrie auch im multifokalen Elektroretinogramm (mfERG) als parafoveale Amplitudenverminderung und Latenzzeitverlängerung nachweisen.

Zu Beginn einer CQ/HCQ-Makulopathie zeigt sich im mfERG der Funktionsverlust meist in Ring 2 lokal begrenzt, welcher sich in etwa 5° um die Fovea projiziert (Hood et al 2012). Im Verlauf kann es aber auch zum Amplitudenverlust in allen Ringen führen (Marmor 2012).

Diesen funktionellen Veränderungen liegen Strukturveränderungen zugrunde, die wie oben beschrieben, funduskopisch oder in der multimodalen retinalen Bildgebung erkannt werden können.

Die spectral domain Optische Kohärenztomographie (SD-OCT) (Nassif et al 2004) hat mittlerweile große diagnostische Bedeutung im klinischen Alltag erlangt. Sie ist eine Weiterentwicklung der erstmals 1991 von Huang beschriebenen OCT, mit der Querschnittsprofile biologischen Gewebes, u.a. auch der Retina, erstellt werden konnten (Huang et al 1991). Frühe strukturelle Veränderungen der CQ/HCQ-Makulopathie lassen sich in der SD-OCT nachweisen. Die äußere Körnerschicht, in der die Perikaryen der Photorezeptoren liegen, ist verdünnt und es zeigt sich ein parafovealer Verlust des Übergangs zwischen dem inneren und äußeren Segment der Photorezeptoren (Kellner et al 2009). Im weiteren Verlauf kommt es zu einem Strukturverlust der gesamten äußeren Netzhaut. Tritt dies bei intakter Struktur der Fovea auf, wird von einem „flying saucer“ Zeichen gesprochen (Brown et al 2010). Der Strukturverlust führt zu einer messbaren Reduktion der Dicke der gesamten Netzhaut (Brandao & Palmowski-Wolfe 2016). Im weiteren Krankheitsverlauf kann es zu Atrophien des RPEs kommen. Neben diesen Veränderungen der äußeren Retina wird von einigen Autoren eine Affektion der inneren Netzhautschichten, insbesondere der retinalen Nervenfaserschicht, (RNFL) beschrieben (Pasadhika & Fishman 2010).

Frühe Veränderungen der CQ/HCQ-Makulopathie stellen sich in der Fundusautofluoreszenz als ungleichmäßige, parafoveale Autofluoreszenzveränderungen dar (Marmor 2012). In der Fundusautofluoreszenz lässt sich im Spätstadium das Bild einer Schießscheibe

durch Hyper- und Hypoautofluoreszenzen eindrücklich darstellen. Fundusautofluoreszenz mit Anregung von 488 nm, die insbesondere das im RPE befindliche Lipofuszin/Melanolipofuszin anregt, zeigt bei den Erkrankten eine zirkuläre, parafoveale Hyperautofluoreszenz. Um diesen Bereich ist wiederum ein hypoautofluoreszenter Ring zu erkennen. In der Nahinfrarotautofluoreszenz, die mit einer Anregung von 788 nm eine Darstellung von vermutlich Melanin ermöglicht, zeigt sich im fortgeschrittenen Stadium eine parafoveale Hypoautofluoreszenz (Kellner et al 2008, Kellner et al 2006).

Durch die Defekte der Photorezeptoren kann es zu Farbsehstörungen kommen, die insbesondere die tritane Farbachse betreffen (Neubauer et al 2003).

Da die Veränderungen in individuell unterschiedlicher zeitlicher Reihenfolge und klinischer Ausprägung auftreten, gibt es keine offiziellen Diagnosekriterien der CQ/HCQ-Makulopathie. Marmor teilt die Makulopathie in 3 Stadien nach Auswertung der funktionellen Diagnostik und SD-OCT ein. Im frühen Stadium finden sich ungleichmäßige Veränderungen der jeweiligen Modalitäten innerhalb der Parafovea, im mittleren Stadium sind 50-100% des parafovealen Rings betroffen, allerdings ohne sichtbare Beeinträchtigung des RPEs in der SD-OCT. Sobald das RPE betroffen ist, spricht er von einer schweren Makulopathie, die auch funduskopisch sichtbar ist (Marmor 2012).

Besonders frühe Stadien sind schwer zu erkennen und müssen von anderen retinalen Erkrankungen wie der altersbedingten Makuladegeneration abgegrenzt werden. Sobald das Bild einer „Bull’s-Eye-Makulopathie“ mit den oben beschriebenen typischen Befunden bei Patienten unter CQ/HCQ Einnahme auftritt, muss von einer CQ/HCQ induzierten Erkrankung ausgegangen werden. Bei den frühen Veränderungen können insbesondere die für die Erkrankung spezifischen Veränderungen im multifokalen ERG in Zusammenschau mit den weiteren Untersuchungsergebnissen aus Perimetrie, SD-OCT und FAF für eine frühe Diagnosestellung herangezogen werden

(Bergholz et al 2010). In Konsequenz sollte bereits bei geringfügigen Veränderungen das sofortige Absetzen des jeweiligen Medikaments angedacht werden.

1.2.2 Management, Prävalenzen, Risikofaktoren und Screening

Die schweren retinalen Nebenwirkungen von CQ und HCQ können zu Visusminderung und so zur erheblichen Einschränkungen der Lebensqualität, beispielsweise durch den Entzug der Fahrerlaubnis und Verlust der Lesefähigkeit, führen. Um das Fortschreiten der Erkrankung in einem möglichst frühen Stadium zu verhindern, ist ein rechtzeitiges Absetzen des Medikamentes entscheidend. Selbst nach Abbruch der Therapie kann aber die Makulopathie mit progredienter Visusminderung und Verlusten des RPEs weiter fortschreiten (Easterbrook 1999, Rickmann et al 2019). Als weitere Komplikationen können zystische Makulaödeme und epiretinale Membranen auftreten (Kellner et al 2014).

Das Fortschreiten der Erkrankung nach Absetzen von CQ/HCQ ist abhängig vom Ausgangsbefund und insbesondere bei progressiven Befunden mit Einbeziehung des RPEs zu beobachten (Pham & Marmor 2019). Wenn die in der SD-OCT sichtbare Verknüpfungszone der Innen- und Außensegmente intakt ist, kann von einem stabilen Befund nach Absetzen ausgegangen werden. Ungewiss ist, wie lange sich der Befund nach Absetzen des Medikaments verändern kann. Es wurden Veränderungen bis zu sieben Jahren nach Therapieende beschrieben (Marmor & Hu 2014).

Aufgrund der fehlenden Diagnosekriterien und unterschiedlicher Einnahmedauer ist die Prävalenz der CQ/HCQ-Makulopathie schwer zu beurteilen, hängt stark von der kumulativen Dosis ab und wird je nach Einnahmedauer mit 0,5% (Mavrikakis et al 2003), 1,6 % bis 4,7 % (Marshall et al 2021) und bis zu 7,5 % (Melles & Marmor 2014) angegeben. Melles und Marmor haben an über 2300 Probanden gezeigt, dass das Risiko der

Entwicklung einer Makulopathie von der täglichen Dosis (Schwelle: 5 mg/kg reales Körpergewicht) und der Einnahmedauer (>5 Jahre) abhängt. Die Inzidenz steigt nach 20 Jahren Einnahmedauer auf etwa 20% an (Melles & Marmor 2014). Neben diesen Hauptrisikofaktoren, ist aufgrund der renalen Elimination der Medikamente eine intakte Nierenfunktion essentiell (Jorge et al 2018). Bei einem Verlust der Nierenfunktion um 50% verdoppelt sich das Risiko einer Makulopathie. Ebenso sind die gleichzeitige Einnahme von Tamoxifen und vorbestehende retinale Erkrankungen mit einem erhöhten Risiko verbunden (Marmor et al 2016). Als weitere Risikofaktor wird das gleichzeitige Vorliegen einer ABCA4 Mutation diskutiert (Shroyer et al 2001). Bei einigen Patienten mit CQ/HCQ-Makulopathie konnten gleichzeitig verschiedene missense Polymorphismen im ABCR Gen nachgewiesen werden (Shroyer et al 2001).

Um CQ-/HCQ-Makulopathien frühzeitig zu erkennen, wird ein regelmäßiges Screening empfohlen. Häufigkeit und Ausmaß des Screenings werden kontrovers diskutiert. Während Levy bei Patienten ohne Risikofaktoren kein Grund zu regelmäßigem Screening sieht (Levy et al 1997), wird von der American Academy of Ophthalmology (AAO) ab dem fünften Therapiejahr ein jährliches Screening empfohlen (Marmor et al 2016). Zum Ausschluss vorbestehender retinaler Erkrankungen und besserer Verlaufsbeurteilung sollte vor Therapiebeginn eine Baseline Untersuchung durchgeführt werden.

Teil der von der AAO empfohlenen Screeninguntersuchungen ist die Perimetrie, die detailliert die zentralen 10° des Gesichtsfeld darstellt. Daneben wird die SD-OCT als zentrales Diagnostikum empfohlen (Jauregui et al 2020). Vorteilhaft sind die bessere Objektivität und schnellere Durchführbarkeit im Vergleich zur Perimetrie (Brown et al 2010).

Nach der Einführung des mfERGs in der Früherkennung von CQ/HCQ-Makulopathien durch Maturi (Maturi et al 1999) wurde das mfERG von einigen Autoren als sensitiver Screeningtest beschrieben (Kellner et al 2006, Lai et al 2006, Missner & Kellner 2012, So et al 2003) und derzeit auch von der AAO als

objektive diagnostische Untersuchung der retinalen Funktion im Screening empfohlen.

Die durch die Medikamente herbeigeführten Veränderungen der äußeren Netzhaut können durch Hyper- und Hypoautofluoreszenzen in der Fundusautofluoreszenz erkannt werden, welches ebenfalls als erweitertes Screening von der AAO empfohlen wird (Marmor et al 2016).

Auffälligkeiten in diesen Modalitäten treten meist vor sichtbaren Fundusveränderungen und Visusverlust auf und sind deswegen geeignete Methoden zur Früherkennung. Trotzdem werden mit den vorgeschlagenen Screening-Methoden nur retinale Veränderungen erfasst, die bereits zu einer Schädigung von Zellen der äußeren Netzhaut geführt haben, da gewisse Läsionsgrößen nötig sind, um mit den derzeit verfügbaren Methoden erkannt zu werden. Um diese Veränderungen rechtzeitig zu erkennen, ist die Einhaltung des jährlichen Screenings besonders mit steigender Therapiedauer notwendig.

Die Häufigkeit augenärztlicher Kontrollen bei CQ- oder HCQ-Einnahme haben Nika und Kollegen in den USA untersucht. Sie konnten zeigen, dass 28% der Patienten mit hohem Risiko eine Makulopathie zu entwickeln in dem untersuchten Fünf-Jahres-Zeitraum keine regelmäßigen augenärztlichen Kontrollen wahrnehmen. Einen diagnostischen Test zum Screening der Makulopathie, vorrangig eine Gesichtsfelduntersuchung, erhielten in diesem Zeitraum nur 65% der CQ/HCQ-Patienten. SD-OCT wurden nur bei 16% dieser Risikopatienten durchgeführt. Patienten in rheumatologischer Behandlung, Patienten in höherem Alter und Frauen zeigten hingegen eine bessere Adhärenz (Nika et al 2014). Diese Erkenntnisse stammen aus dem US-amerikanischen Gesundheitssystem und sind nicht direkt auf die Situation in Deutschland zu übertragen. Möglicherweise werden auch hierzulande Screeninguntersuchungen nicht flächendeckend nach den gültigen Empfehlungen wahrgenommen. Deshalb ist es wichtig, die behandelnden Rheumatologen und

Patienten auf die notwendigen, regelmäßigen augenärztlichen Kontrollen hinzuweisen.

1.2.3 Pathogenese und tierexperimentelle Erkenntnisse

Die Pathogenese der CQ/HCQ-Makulopathie ist nach wie vor nicht vollständig geklärt. Erste Erkenntnisse wurden durch zwei pathologische Berichte postmortaler Aufarbeitung humaner erkrankter Augen gewonnen. Bernstein beschreibt lymphatische Infiltrate in Sklera und Choroidea (Bernstein & Ginsberg 1964). Daneben zeigen sich in beiden pathologischen Untersuchungen besonders die Netzhautveränderung auffällig. Die äußere nukleäre Schicht mit Zellkörpern der Photorezeptoren sind in großen Teilen der Retina mit Ausnahme der Makula zerstört. Das retinale Pigmentepithel ist ebenfalls betroffen und teilweise in die innere nukleäre Schicht migriert. Es sind große pigmentierte Granulaansammlungen in äußerer Körnerschicht und äußerer plexiformen Schicht zu erkennen, die ebenfalls für Migration von RPE sprechen (Bernstein & Ginsberg 1964, Wetterholm & Winter 1964).

Diesen frühen Erkenntnissen aus humanen Proben folgten Experimente an Tieren und in Zellkulturen, die vor allen die Rolle des RPE und der Lysosomen in der Pathogenese der Makulopathie untersuchten. In Tierexperimenten kommt es neben der Degeneration von Photorezeptoren auch zur Degeneration von anderen Zellen der Netzhaut. Meist geht dies mit einer Akkumulation von „membranous cytoplasmatic bodies“ (MCBs) und insbesondere im RPE mit einer Akkumulation von „lysosomal associated organelles“ (LAO) einher (Mahon et al 2004, Rosenthal et al 1978). Auf Ebene der Photorezeptoren wurden im Mausexperiment MCBs eher in Zapfen als in Stäbchen beobachtet. Dies könnte die Beeinträchtigung des Farbsehens bei Ausbildung einer CQ/HCQ Makulopathie erklären.

Durch die Färbung von Oberflächenmarkern konnte gezeigt werden, dass es sich bei den Vesikelansammlungen im RPE um Lysosomen handelt.

Ursächlich für diese Anreicherungen sind die lysomotropischen Eigenschaften des CQs und HCQs. Als schwache Base diffundieren die Medikamente in die sauren Lysosomen, werden hier protoniert und über Ionentrapping festgehalten, was zu einem Anstieg des lysosomalen pH-Werts führt. Da HCQ durch die zusätzliche Hydroxylgruppe polarer und somit weniger lipophil ist, ist die Diffusion durch biologische Membranen und so auch in die Lysosomen erschwert. Somit könnte eine geringere Anreicherung der Grund für die geringere Toxizität von HCQ sein (Sundelin & Terman 2002).

Der lysosomale pH-Anstieg von ca. 4,0-4,5 auf 6,0 ist wahrscheinlich für den Funktionsverlust der Lysosomen und damit auch für die Auswirkungen auf die Funktion der RPE-Zelle verantwortlich. So wird der letzte Schritt der Autophagie verhindert, der aus der Verschmelzung von Autophagosom und Lysosom besteht. Durch die lysosomale Dysfunktion kommt es zudem zu einer Akkumulation von ubiquinierten Proteinen, die zytotoxisch wirken können (Yoon et al 2010).

Als weiterer möglicher Pathomechanismus der CQ/HCQ Makulopathie wird die Änderung der Membranpermeabilität von lysosomalen und mitochondrialen Membranen durch zelluläre Mediatoren diskutiert (Boya et al 2003). Auch eine Erhöhung der Permeabilität des RPEs durch die Medikamente wird als ursächlich diskutiert, wobei wiederum der Effekt von CQ stärker ist, als der von HCQ (Korthagen et al 2015).

Ein weiterer möglicher Pathomechanismus ist der Einfluss von CQ und HCQ auf Membrantransportproteine (SLC Transporter). Im speziellen hemmen die Medikamente die Aktivität des SLC Transporters „organic anion transporting polypeptid 1A2“ (OATP1A2), welcher im RPE exprimiert wird und an der zellulären Aufnahme von all-trans-Retinol und so am Sehzyklus beteiligt ist. Dieser Effekt könnte ebenfalls zu Ausbildung der visuellen Einschränkungen beitragen (Xu et al 2016).

Die unter experimentellen Bedingungen herbeigeführte Dysfunktion des RPEs kann auch klinisch in der SD-OCT durch Strukturveränderung und in der Fundusautofluoreszenz durch Hyperautofluoreszenz am ehesten durch Anreicherung von bislang unbekanntem Fluorophoren/Bisretinoiden beobachtet werden und wird unter anderem als Ursache für den Funktionsverlust der Photorezeptoren gesehen.

Der komplette Pathomechanismus ist trotz dieser Erkenntnisse noch nicht komplett verstanden. Das zirkuläre Verteilungsmuster mit Aussparung der Makula kann bisher nicht erklärt werden, noch kann eine Aussage über das individuelle Risiko getroffen werden.

1.3 Quantitative Autofluoreszenz

Zu den vielfältigen Aufgaben des RPEs gehören unter anderem die Absorption von Licht, die Bildung der Blut-Retina Schranke, die Versorgung der Photorezeptoren, die Sekretion von Wachstumsfaktoren, Teilhabe am Sehzyklus und die Phagozytose der Photorezeptoraußensegmente (Strauss 2005). Kommt es zu Störungen beziehungsweise einem Untergang des RPEs, können diese essentiellen, komplexen Funktionen nicht mehr ausgeführt werden, was zur Degeneration der äußeren Retina und dadurch zu einem irreversiblen Visusverlust führen kann.

Im RPE akkumulieren mit steigendem Alter autofluoreszierende Granula wie Lipofuszin und Melanolipofuszin (Feeney 1978, Feeney-Burns et al 1984, Wing et al 1978). Neben dieser altersbedingten Zunahme können topographische Unterschiede in der Verteilung von Lipofuszin beobachtet werden. Es zeigt sich eine erhöhte Konzentration von Lipofuszingranula in der Perifovea und der nahen Peripherie (Bermond et al 2020, Wing et al 1978). Diese topographische Verteilung kann mittels Fundusautofluoreszenz dargestellt werden (Delori et al 2011).

Fundusautofluoreszenzaufnahmen entstehen durch Anregung, insbesondere des RPEs, mit Licht bestimmter Wellenlänge. Dadurch kommt es zu einer Emission von Photonen, welche durch Kameras aufgenommen werden. So lassen sich bei einer Anregung von 488 nm Aussagen über die Verteilung des Lipofusins/Melanolipofusins treffen, welche hauptsächlich für die Autofluoreszenz bei Anregung durch diese Wellenlänge verantwortlich sind.

Eine Weiterentwicklung der herkömmlichen Autofluoreszenzaufnahmetechnik ist die quantitative Autofluoreszenz (QAF). Die QAF ermöglicht als klinisch-experimentelle Methode erstmals Autofluoreszenz Intensitätssignale zu quantifizieren und somit zu vergleichen (Delori et al 2011, Greenberg et al 2013). Dadurch können Aussagen über Veränderungen der Verteilung und Intensität der Autofluoreszenz im zeitlichen Verlauf oder im Vergleich zwischen Patienten getroffen werden. Mittels QAF könnte, bezogen auf die CQ/HCQ-Makulopathien, frühzeitig eine Veränderung im Stoffwechsel des RPEs durch Anreicherung oder Verlust von autofluoreszierenden Bisretinoiden erkannt werden. Durch objektive Auswertungsverfahren können so genauere Aussagen getroffen werden, als durch die qualitative Auswertung des Fundusautofluoreszenzbildes.

Bisherige Studien zur QAF an gesunden Augen zeigen eine Zunahme der QAF Intensitäten mit steigendem Alter, sowie eine Zunahme der QAF Intensität von zentral nach peripher mit einem Intensitätsmaximum superotemporal (Greenberg et al 2013, Kleefeldt et al 2020). Ab dem sechzigsten Lebensjahr wird eine Abnahme der QAF beobachtet. Ob diese Abnahme der QAF Intensität im hohen Alter physiologisch ist, oder durch die Dichtezunahme der optischen Medien bedingt ist, ist aktuell noch unklar. Delori berichtet über eine fast lineare Zunahme der Fundusautofluoreszenz vom 20 bis zum 70 Lebensjahr und folgender Abnahme ab dem 80 Lebensjahr (Delori et al 2011). Dies würde dafür sprechen, dass anderweitige Einflüsse auf die QAF, wie zum Beispiel eine altersbedingte Trübung der Linse, zur Abnahme der QAF ab dem 60 Lebensjahr

führen. Frauen zeigen im Vergleich zu Männern höhere QAF Werte (Greenberg et al 2013). Veränderungen der QAF konnten bisher an erkrankten Augen im Rahmen der Altersbedingten Makuladegeneration (AMD) (Gliem et al 2016, Orellana-Rios et al 2018, Reiter et al 2019), hereditären Retinopathien (Burke et al 2014, Duncker et al 2015, Gliem et al 2017) und entzündlichen Erkrankungen (Boudreault et al 2017) gezeigt werden.

1.4 Ziel dieser Arbeit

CQ und HCQ nehmen eine bedeutende Rolle in der Behandlung von Erkrankungen des rheumatischen Formenkreis ein. Sie können allerdings zu irreversiblen Veränderungen der äußeren Netzhaut mit Entwicklung einer Bull's-Eye-Makulopathie führen. Zur frühzeitigen Erkennung der Makulopathie sind zahlreiche Screeningmethoden empfohlen. Es fehlt aber weiterhin eine Methode, welche die Veränderungen erkennt, bevor es zu irreversiblen Schäden der Netzhaut kommt und welche Patienten mit einem hohen Risiko, eine Makulopathie zu entwickeln, zuverlässig und rechtzeitig entdeckt.

Ziel dieser Arbeit ist es, mittels QAF Veränderungen der Autofluoreszenz-Verteilung quantitativ analysieren zu können und damit gegebenenfalls frühzeitig Veränderungen im Sinne einer CQ/HCQ-Makulopathie aufdecken zu können. Durch die oben beschriebenen, in tierexperimentelle Versuchen und histopathologischen Auswertungen gezeigten Auswirkungen von CQ/HCQ auf die äußere Netzhaut wäre eine Änderung der Autofluoreszenz zu erwarten. Die QAF könnte so ein mögliches Tool in der Früherkennung der CQ/HCQ-Makulopathie sein. Deshalb führten wir, zusätzlich zu den herkömmlichen Screening Untersuchungen, quantitative Autofluoreszenzaufnahmen durch und verglichen diese mit den QAF Werten von altersentsprechenden gesunden Probanden. Untersucht wurde, ob mittels QAF Auswirkungen einer CQ/HCQ Therapie auf die Autofluoreszenz des Augenhintergrunds generell erkannt werden können und inwiefern sich Frühveränderungen detektieren lassen.

2 Material und Methoden

2.1 Patienten

Die Rekrutierung der Patienten, welche sich aktuell oder in der Vergangenheit unter CQ/HCQ Therapie befanden, erfolgte von September 2017 bis April 2019 über die Augenklinik der Universität Würzburg. Alle eingeschlossenen Patienten wurden vor Beginn der Studie über die Bedeutung der Studie inklusive ihrer Vorteile und Risiken ausführlich aufgeklärt und gaben ihre schriftliche Zustimmung. Die Ethikkommission der Universität Würzburg bewertete die Studie positiv und erhob keine ethischen Bedenken (#69/17). Alle Studienverfahren wurden in Übereinstimmung mit der Deklaration von Helsinki durchgeführt. Die Patientendaten wurden anonymisiert bzw. pseudonymisiert.

Einschlusskriterien waren die aktuelle oder vergangene Einnahme von CQ/HCQ und das Vorliegen klarer optischer Medien (Hornhaut, Linse, Glaskörper). Gleichzeitiges Vorliegen retinaler Erkrankungen (mit Ausnahme der CQ/HCQ-Makulopathie), instabile Fixierung und ein sphärisches Äquivalent >6 Dpt. führten zum Ausschluss der Probanden.

2.2 Fragebogen

Die CQ/HCQ-Patienten beantworteten einen Fragebogen zu Risikofaktoren, Medikamentenanamnese und ophthalmologischer Anamnese.

Allgemeine Anamnese:

- Alter, Größe und Gewicht
- Bestehen Einschränkungen der Leber und/oder Nierenfunktion?
- Leiden Sie an neurologischen Erkrankungen?
- Leiden Sie an Erkrankungen, die die Medikamentenaufnahme behindern? (chronische Diarrhö, Kurzdarmsyndrom etc.)

- Weitere allgemeinmedizinische Vorerkrankungen? (z.B. Diabetes mellitus, KHK, Stoffwechselerkrankungen)
- Nikotinkonsum.

Medikamenten Anamnese

- Aktuelle Medikation
- Einnahme von CQ oder HCQ
 - Indikation der Therapie
 - Beginn der Medikation von CQ/HCQ
 - Dosis
 - Gab es Einnahmepausen oder Dosisveränderungen?

Ophthalmologische Anamnese

- Voroperationen am Auge
- Verletzungen oder Traumata
- Ophthalmologische Vorerkrankungen
- Benötigung einer Sehhilfe
- Familiäre Augenerkrankungen
- Regelmäßige Medikamenteneinnahme ins Auge.

Die kumulative Dosis wurde durch die Angaben zur täglichen Dosis und der Einnahmedauer unter Berücksichtigung von Einnahmepausen berechnet. Falls CQ/HCQ eingenommen wurden, wurde die kumulative Dosis der beiden Präparate addiert.

2.3 Untersuchungsmethoden

2.3.1 ETDRS Visus

Die Messung des bestkorrigierten Visus mittels ETDRS (Early Treatment Diabetic Retinopathy Study) Tafeln erfolgte in vier Metern Abstand zur standardisierten hintergrundbeleuchteten Tafel in einem verdunkelten Raum. Begonnen wurde mit der Tafel R um die Refraktion zu ermitteln, gefolgt von Tafel

1 zur Visusermittlung des rechten Auges und Tafel 2 für das linke Auge (Told et al 2013).

Pro Reihe befinden sich fünf Buchstaben, die Reihe musste vollständig gelesen werden, um die nächste Visusstufe zu erreichen, während bei der letzten gelesenen Visusstufe die Reihe mit mindestens drei erkannten Buchstaben den bestkorrigierten Visus definierte.

2.3.2 Messung der Hornhautkrümmung mittels IOL Master

Mittels IOL-Master (IOL Master 500, Zeiss, Oberkochen, Germany) wurden die Hornhautkrümmung (C-Kurven Werte) bestimmt, die für die genaue Skalierung der SD-OCT und Aufnahmen des hinteren Augenabschnitts notwendig waren (Delori et al 2011).

2.3.3 Farbsehprüfung

Bei allen Patienten wurden Farbsehprüfungen mittels HMC Anomaloskop, Farnsworth D15 und Lanthony D 15 Test durchgeführt.

Das HMC Anomalsoskop (OCULUS) testete Farbsehen im Rot/Grün-Bereich mittels der Rayleigh Gleichung und Grün/Blau-Bereich mittels der Moreland Gleichung. Zur Untersuchung blickte der Proband durch das Okular des Anomaloskops. Im oberen Halbkreis wurden mittels additiver Farbenmischung zwei spektrale Farbreize überlagert, sodass ein Mischlicht entstand, welches mit einem spektralen Farbreiz im unteren Halbkreis verglichen wurde. Durch Variierung des Mischverhältnisses des oberen Prüffeldes und durch Helligkeitsveränderungen des unteren Vergleichsfeldes konnte es zu Übereinstimmung des oberen und unteren Prüffeldes kommen. Ziel war es, dass der Beobachter Farbe und Helligkeit der beiden Felder als gleich wahrnahm. Aus den Einstellungen des Patienten konnte der Anomalquotient berechnet werden, der zwischen 0,7-1,4 als normal beurteilt wurde.

Der Lanthony D-15 bestand aus den gleichen Farben wie der Farnsworth D-15, unterschied sich aber in der Luminanz (Lanthony 1978). Jeder Test

bestand aus 15 Farbtöpfchen und einem Referenztopf, die vom Beobachter sortiert wurden. Die Farbttests wurden für jedes Auge separat durchgeführt. Eine Anfangsfarbe im Referenztopf war gegeben, die anderen Farbplatten wurden gemischt auf einem schwarzen, von oben beleuchtetem Tisch ausgelegt. Die Farben sollten so sortiert werden, dass die spektral nächstgelegene Farbe immer neben die bereits sortierte Farbe gelegt werden sollte. Wenn alle Farbtöpfchen gesetzt waren, konnte der Test mittels Zahlen auf der Rückseite der Töpfchen ausgewertet werden (Linksz 1966).

2.3.4 Statische Perimetrie

Die Gesichtsfelduntersuchung erfolgte mittels OCTOPUS 900 (Haag-Streit) im M-Makula Programm, welches zentrale und parazentrale Gesichtsfeldausfälle durch eine hohe Prüfpunktdichte in den zentralen 10° des Gesichtsfelds detektieren kann.

Die Untersuchung wurde monokular im abgedunkelten Raum durchgeführt. Dabei war auf die richtige Positionierung des Kopfes auf der Kinnstütze vor der Kupola mit zentraler Einstellung des zu untersuchenden Auges und die richtigen Korrekturgläser zu achten. Nach Erklärung der Untersuchung erhielt der Patient einen Antwortknopf, den er bei jedem gesehen Lichtpunkt betätigen sollte.

Während der Untersuchung wurde auf die konstante Fixation sowie die falsch positiven und falsch negativen Antworten geachtet.

2.3.5 Elektrophysiologie – multifokale Elektroretinographie

Mit der von Sutter und Tran 1992 entwickelten multifokalen Elektroretinographie (mfERG) lassen sich durch Anregung kleiner Areale lokale Funktionsdefekte der Retina darstellen (Sutter & Tran 1992).

Die Untersuchungen wurde binokular gemäß des überarbeiteten ISVEC (International Society for Clinical Electrophysiology of Vision) Leitlinie von 2011 durchgeführt (Hood et al 2012). Verarbeitung und Auswertung erfolgten durch

das RetiScan Programm von Roland Consult (Brandenburg an der Havel, Deutschland, RetiScan 6.16.3.8).

Mehrmaliges, beidseitiges Tropfen von 0.5% Tropicamid sowie 2.5% Phenylephrin führten zu Mydriasis (mindestens 6 mm). Um die optimale Ableitung der Elektroden zu gewährleisten, wurde die Haut mittels eines Peelings gereinigt. Zur retinalen Ableitung wurde eine Fadenelektrode in das Unterlid eingelegt. Die Untersuchung erfolgte nach korrektem Ausgleich der Refraktion und unter konstanter Beobachtung der Fixierung des Patienten. Durch zufällig abwechselndem, schwarz-weißen Muster aus 61 Hexagons erfolgte die retinale Stimulation, die durch die angelegten Elektroden abgeleitet wurde. Das Muster bestand aus Hexagons, welche nach außen hin größer werden und in den zentralen 60° des Gesichtsfelds liegen (Seeliger et al 2001).

Die Verarbeitung der Daten erfolgte durch das RetiScan System. Für jedes Feld kann eine Kurve mit negativer (N_1) und positiver Zacke (P_1) und Gipfelzeit erstellt werden. Die Ergebnisse wurden mit den im Gerät beinhaltenden Normwerten verglichen. Die einzelnen Waben wurden in konzentrischen Ringen (R 1-5) zusammengefasst. Die Wabengröße der Ringe nahm zum Zentrum hin mit dem Faktor vier ab. Dies bedeutete, dass die mittlere Wabe viermal kleiner war, als eine der Waben im äußeren Ring. Dies diente dem Ausgleich der Zapfendichte. In der anatomischen Projektion der Ringe auf die Retina stellt Ring 1 (zentrales Hexagon, 15,16 deg², also knapp 4x4 Grad) die Fovea dar, Ring 2 (Ringfläche 129,33 deg²) die Parafovea, Ring 3 (Ringfläche 377,86 deg²) die Perifovea, Ring 4 (Ringfläche 789,48 deg²) die nahe Peripherie und Ring 5 (Ringfläche 1402,72 deg²) die mittlere Peripherie (Kellner et al 2006).

2.3.6 Spectral domain Optische Kohärenztomographie

Mittels SD-OCT können nicht invasive, in vivo Aufnahmen retinaler Strukturen erstellt werden. Das Prinzip beruht auf Analyse der Amplitude und des Gangunterschieds von zurückgestreutem Infrarotlicht mit geringer Kohärenz

der Retina durch ein Interferometer (Drexler et al 2001). Geteiltes Licht wird in einem Arm von einer internen Referenz reflektiert, der andere Arm läuft in die Probe und wird dort von unterschiedlich Strukturen mit tiefenabhängiger, zeitlicher Verzögerung reflektiert. Reflektiertes Licht der Referenz und der Probe interferieren miteinander, werden durch ein Spektrometer aufgeteilt und von einem Detektor registriert. Die Analyse eines spektralen Lichts ergibt den A-Scan, durch nebeneinander durchgeführte A-Scans ergibt sich der B-Scan, eine Schnittbildgebung einer Ebene.

Die Untersuchungen wurden in Mydriasis an Spectralis Geräten der Firma Heidelberg Engineering durchgeführt (Einstellung: 6 mm horizontaler Makula scan, ART 35 frames, 49 B-scans, 20° x 20°). Simultan zur SD-OCT Aufnahme wurde eine Infrarotaufnahme („en face IR“) der Netzhaut aufgenommen. Dieses diente der Lokalisation der B-Scans und dem im Gerät integrierten „eye-tracking“, welches Augenbewegungen folgen konnte und ausglich.

Hyper- und hyporeflektive Banden entstehen durch die unterschiedlichen optischen Eigenschaften angrenzender Gewebe, wodurch sich verschiedene retinale Schichten abbilden lassen. Bedeutend für viele Erkrankungen der Netzhaut, wie auch der CQ/HCQ-Makulopathie, sind insbesondere die vier äußeren hyperreflektiven Bänder. Es herrscht Einigkeit über die Zuordnung des ersten Bandes zur externen limitierenden Membran, die Verbindungszone zwischen Müllerzellen und Photorezeptoren und die Zuordnung des vierten Bands zum retinalen Pigmentepithel (RPE). Spaide und Curcio gehen davon aus, dass das zweite hyperreflektive Band durch die Mitochondrien in der Ellipsoiden Zone entsteht. Das dritte hyperreflektive Band entspricht mit dem Kontaktzylinder dem distalen Teil der Zapfenaußensegmente (Spaide & Curcio 2011).

2.3.7 Multimodale Fundusaufnahmen am Heidelberg Engineering Spectralis HRA

Multimodale (Infrarot-, Rotfrei-, FAF488-, FAF787 und QAF-Aufnahmen) Fundusaufnahmen wurden in Mydriasis am Heidelberg Engineering Spectralis HRA durchgeführt. Für die Aufnahmen wurde ein modifiziertes 30° Objektiv mit einer internen Referenz zur Bestimmung der QAF verwendet. Zur genaueren Skalierung wurden die im Vorhinein mittels IOL-Master bestimmten C-Kurven-Werte angegeben. Beide Augen wurden nacheinander untersucht.

Der Proband legte seinen Kopf in die Kinn- und Stirnstütze. Die Höhe des Gerätes wurde angepasst, um eine möglichst bequeme Sitzposition zu ermöglichen. Das Gerät wurde langsam auf den Patienten zugefahren und der Augenhintergrund bestmöglich fokussiert. Bei allen Aufnahmen wurde auf eine gute Ausleuchtung ohne Lid- oder Wimperninteraktion und stabile Fixierung geachtet. Begonnen wurde mit der Infrarotaufnahme (815 nm), gefolgt von den FAF-Aufnahmen. Hierbei wurde der Patient auf das kommende helle, blendende Licht hingewiesen und die Möglichkeit gegeben, sich an das Licht zu gewöhnen. Für die FAF mit blauem Licht nutzt das Gerät eine Anregung von 488 nm und ein Emissionsspektrum von 500 bis etwa 750 nm.

Im Anschluss wurde eine Nahinfrarotaufnahme mit einem Licht der Wellenlänge 787nm und einer Emission von etwa 830 bis 1000 nm durchgeführt. Für die optimale Fokussierung der Augenhintergrundes passten wir den Fokus für diese Aufnahme erneut an.

2.3.7.1 Quantitative Fundusautofluoreszenz (QAF)

Die Aufnahmen wurden mit einem modifizierten HRA Gerät (Heidelberg Engineering, Anregung 488 nm, Emissionsspektrum von 500 nm bis 750 nm, 30° x 30°, 768 x 768 Pixel) mit einer internen Referenz durchgeführt (Hauptfluorophor der internen Referenz: fester Texas Red Farbstoff). Während der Autofluoreszenzaufnahme wurde die interne Referenz angeregt und ebenfalls aufgenommen. Die Signalintensitäten (Grey Levels, GL) der Pixel des

Probandenfundus konnten folglich zur internen Referenz kalibriert werden. Dabei wurden Veränderungen der Laserstärke und Detektorempfindlichkeit mit einbezogen. Die QAF Werte wurden nach der Aufnahme durch eine von Delori beschriebene Formel berechnet, welche unter anderem die Grey Level der internen Referenz (GL_R), des aufgenommenen Pixels (GL_F) und ein Nullsignal (GL_0 , durch den Hersteller gestellt) inkludiert, sowie einen Skalierungsfaktor, welcher die vorher berechnete C-Curve berücksichtigt (Delori et al 2011).

Der Proband wurde dazu aufgefordert, das Fadenkreuz zu fixieren, während das Gerät langsam auf den Patienten zugeschoben und die optimale Bildeinstellung (zentrale Position der Fovea) justiert wurde. Für die Aufnahme war eine gute Ausleuchtung des Fundus essentiell, weswegen sorgfältig auf eine gute Ausleuchtung und Aufnahmequalität geachtet wurde. Um die Absorption von Makulapigment zu reduzieren, wurden vor der eigentlichen QAF-Aufnahme die Photorezeptoren mit kurzwelligem Licht (488 nm) für mindestens 20 Sekunden gebleicht. Es wurden dann 12 einzelne QAF Bilder aufgenommen. Bei Übersättigung des Bildes musste bei Bedarf die Sensitivität des HRA Gerätes manuell nachjustiert werden. Bei jedem Probanden wurden mindestens zwei QAF Aufnahmesets (jeweils 12 QAF-Einzelbilder) beider Augen aufgenommen, wobei nach jeder Aufnahme die Kamera neu ausgerichtet wurde. Bei Bedarf wurde das Oberlid eleviert, um Interferenzen des Lids im Bild zu vermeiden.

Nach der Aufnahme wurde jedes der 12 QAF Bilder eines Aufnahmesets kontrolliert, um Bilder mit unscharfem Fokus, insuffizienter Ausleuchtung und Wimper- oder Lidüberlagerungen auszuschließen. Bis zu drei Bilder einer QAF-Aufnahme konnten bei schlechter Qualität gelöscht werden, sodass im Anschluss mindestens neun Bilder durch die geräteeigene Software gemittelt wurden (HEYEX; Heidelberg Engineering, Heidelberg). Aus den mindestens vier Aufnahmen (min. 2 Aufnahmen pro Auge) wurde die beste Aufnahme ausgesucht. Qualitätskriterien waren eine regelmäßige, gute Ausleuchtung des Augenhintergrunds, Fehlen von Interferenzen und ein scharfer Fokus auf die

Makula. Wenn für beide Augen qualitativ gleichwertige Aufnahmen bestanden, wurde das linke Auge für die weitere Auswertung ausgesucht.

Alle Aufnahmen wurden mit demselben Gerät, welches regelmäßig durch den Hersteller kalibriert und kontrolliert wurde, und durch dieselbe Person aufgenommen.

2.3.8 Komplette ophthalmologische Untersuchung

Nach Abschluss der oben beschriebenen Untersuchungen wurden die Patienten durch einen Facharzt der Augenklinik an der Spaltlampe und funduskopisch untersucht.

2.4 Auswertung

2.4.1 Auswertung der QAF

Zur weiteren Auswertung wurden die noch nicht prozessierten QAF-Rohdaten (inklusive Aufnahme der internen Referenz) und die weiteren Bilddaten der am HRA durchgeführten Aufnahmemodalitäten des ausgewählten Auges exportiert und mittels eines speziell zur Auswertung erstellten FIJI Plug-Ins (Codes erhältlich unter: <http://site.imagej.net/CreativeComputation>) weiter prozessiert und analysiert (Kleefeldt et al 2020, Schindelin et al 2012).

2.4.1.1 Erstellen des errechneten QAF Bildes

Hierzu wurde der Referenzkalibrierungsfaktor und das Patientenalter zur Berechnung der QAF durch das FIJI Plug-In (QAF XML Reader) angegeben. Dadurch entstand ein QAF Bild ohne die Aufnahme der internen Referenz in welchem jeder Pixel nach der Formel von Delori (Delori et al 2011) berechnet wurde. Dieses QAF Bild wurde im weiteren Prozess zur anschaulicheren Darstellung von QAF Werten zu einem 8bit QAF farbkodiert (Skala 0-511 arbitrary units (a.u.)), siehe Abbildung 2.

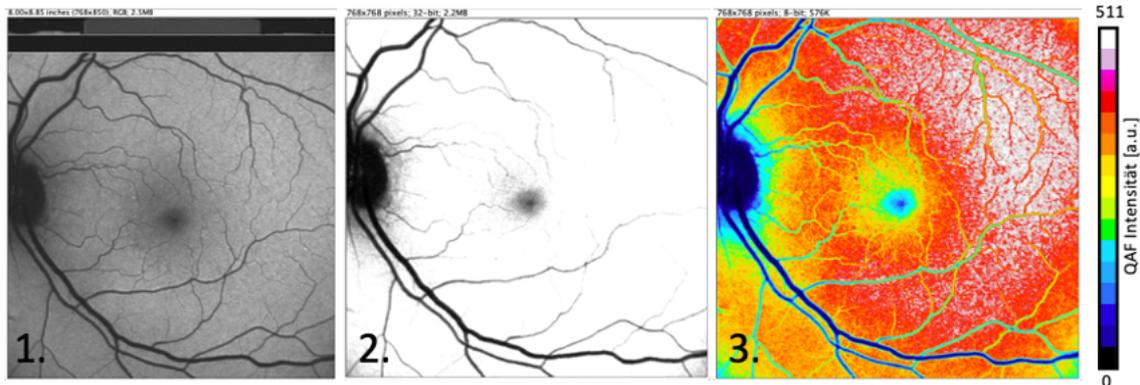


Abb. 2. Prozessieren des QAF Bildes 1. Exportiertes, durch HeyEX aus mindestens 9 Einzelbildern gemitteltes, QAF-Rohbild inklusive der internen Referenz (grauer Balken oben im Bild). 2. Das durch das FIJI Plug-In (QAF XML Reader) erstellte (errechnete) QAF Bild, ohne die interne Referenz 3. Farbcodiertes 8bit QAF Bild (0-511 a.u.= arbitrary units)

2.4.1.2 Erstellen eines multimodalen Bilderstapels

Jede aufgenommene Bildmodalität des HRA Gerätes wurde mithilfe der gleichzeitig zur OCT aufgenommenen Infrarotaufnahme übereinander gelegt, sodass sich Lokalisationen in der SD-OCT auf die Aufnahmen aus dem HRA Gerät übertragen ließen. Dazu wurden jeweils in der Infrarotaufnahme und in jeder weiteren Modalität (QAF, AF488 nm, AF787 nm, Infrarot und Rotfreiaufnahme) manuell zwei identische markante Punkte, beispielsweise Gefäßbifurkationen, markiert und durch eine Linie verbunden. Gleichzeitig wurde mittels OCT sowie in der dazugehörigen *en face* IR Aufnahme die exakte Position der Fovea und der Rand des Sehnervs bestimmt, welcher der Fovea am nächsten lag. Dadurch wurden die Bilder exakt übereinandergelegt und so Rotations- und Skalierungsunterschiede ausgeglichen. So konnte ein 2 D Koordinatensystem erstellt werden, welches für die spätere Berechnung der QAF mittels verschiedener Analysemuster (Grids) essentiell war. Für die Auswertung mittels FIJI Plug-In wurden alle Aufnahmen als linkes Auge dargestellt.

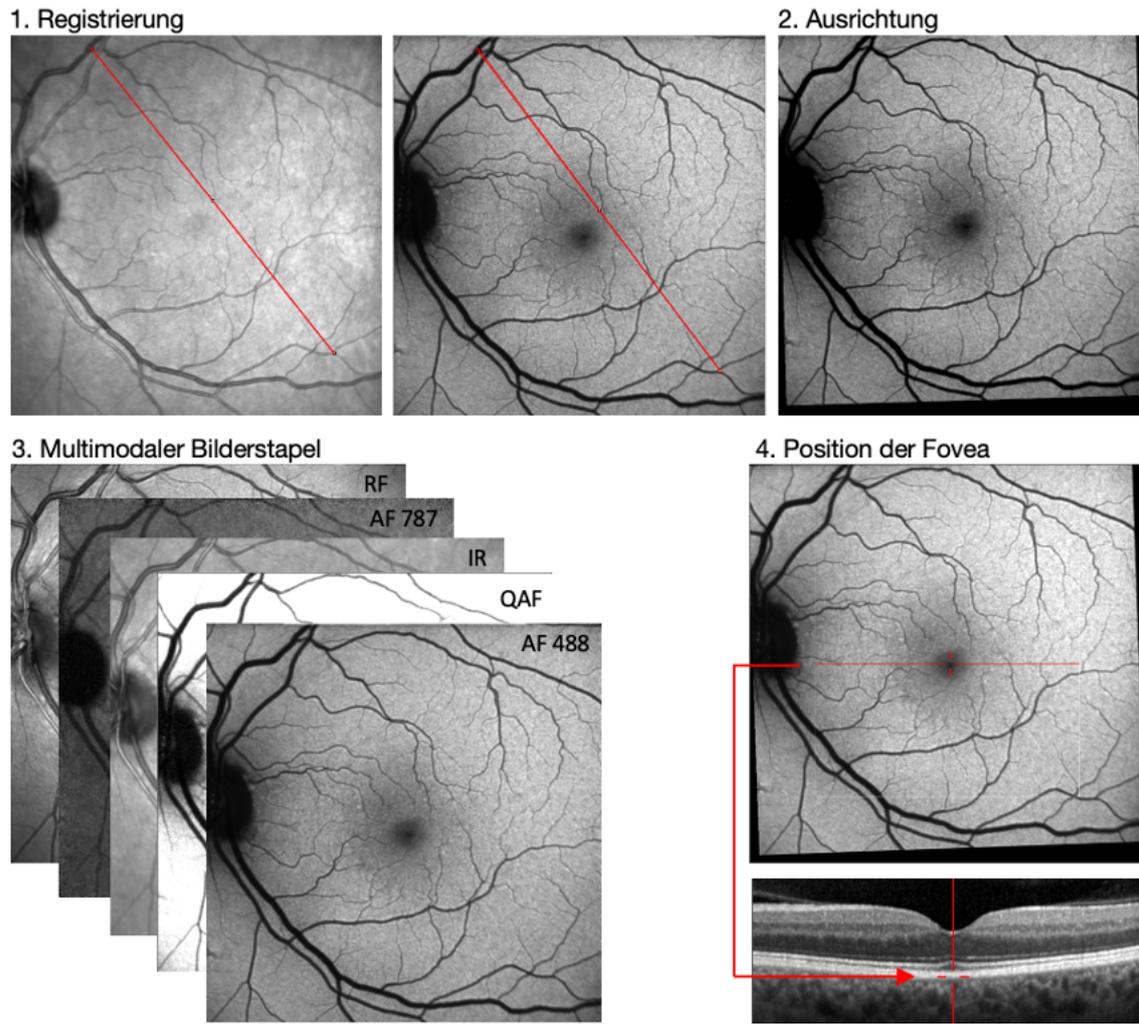


Abb. 3. Registrierung und Ausrichtung der multimodalen Aufnahmen zur Erstellung eines multimodalen Bilderstapels. 1. Im ersten Schritt wurden zwei markante Punkte (z.B. Gefäßaufzweigungen), welche in jeder Bildmodalität (hier: Infrarot links, Autofluoreszenz rechts) identisch und gut erkennbar waren, ausgesucht. Diese zwei Punkte wurden dann in jeder Bildmodalität exakt durch eine Linie verbunden. Jede Bildmodalität wurde gegen das *en face* Nahinfrarot (IR)-Bild ausgerichtet (2), sodass die Bilder exakt übereinander gelagert werden konnten. Dadurch entstand ein multimodaler Bilderstapel (Stack), in welchem alle Bilder gleich skaliert und rotiert waren (3). Durch die parallele Aufnahme von IR *en face* Bild und SD-OCT konnte schließlich im Stack die Position der Fovea bestimmt werden (4).

2.4.1.3 QAF Analyse

Die QAF Analyse erfolgte mittels verschiedener Analysemuster („Grids“) (Abb. 4). Für das ETDRS-Analysemuster wurden Ringe in definiertem Durchmesser (1, 3, 6 mm) um die markierte Fovea (Segment 0) projiziert. Die beiden äußeren Ringe wurden in jeweils 4 Segmente unterteilt, sodass

insgesamt 9 Segmente entstanden (Segmente 0-8), in denen die QAF gemittelt wurde.

Das von Greenberg und Kollegen eingeführte (Greenberg et al 2013) Delori Analysemuster bestand aus 24 Segmenten (3 konzentrische Ringe um die Fovea, jeweils unterteilt in 8 Segmente), welche sich von der Fovea bis zur Grenze des Sehnervs erstreckten und folglich zwischen den Patienten in ihrer absoluten Größe leicht variierten. In bisherigen Studien wurde zur Auswertung QAF8 berechnet (Burke et al 2014, Duncker et al 2015, Gliem et al 2017), welche die gemittelten QAF Werte im mittleren dieser drei Ringe darstellt (7-9° um Fovea), siehe Abb. 4.B. Das QAF97-Grid unterteilte alle Ringe des originalen QAF Grids in kleinere Segmente (96 plus Fovea), wodurch eine genauere Analyse möglich war (Kleefeldt et al 2020).

Das FIJI Plug-In (Grids OCT) berechnete durch Projektion der Analysemuster QAF Maximum, Minimum, Mittelwerte, sowie Standardabweichung und Pixelanzahl für die jeweiligen Segmente und exportierte dieses Daten in eine tabellarische Wertedatei.

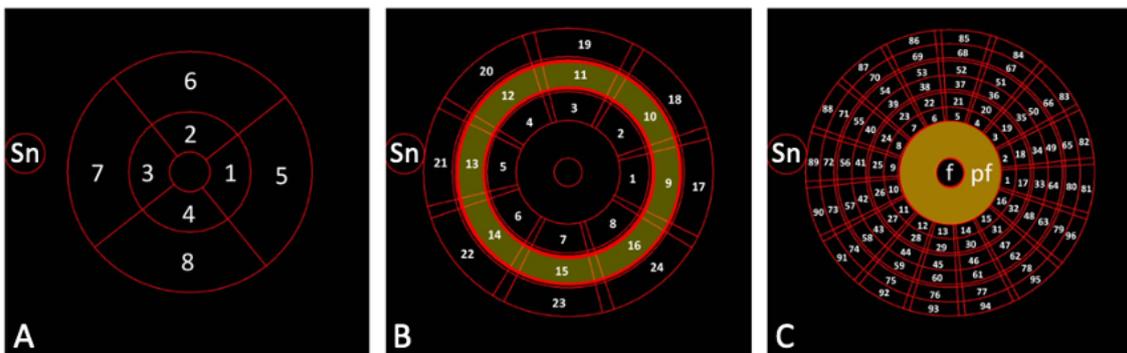


Abb. 4. ETDRS Grid (Grid=Analysemuster), Delori Grid und QAF97-Grid. Sn: Sehnerv, f: Fovea, pf: Perifovea A. ETDRS Grid, welches in definitiven Abständen um die Fovea projiziert wurde; B. Delori Grid. Das Delori Grid wurde zwischen manuell gesetzter Markierung der Fovea und der markierten Stelle des Sehnervs positioniert. Beide Stellen wurden manuell markiert (die Fovea mit Hilfe des zentralen SD-OCT Schnitt) und orientieren sich an rein optischen Merkmalen. Der mittlere, gelb markierte Ring wurde zur Berechnung der QAF8 verwendet. C. QAF97-Grid mit Unterteilung der Segmente des Delori Grids in kleinere Einheiten. Das QAF97-Grid projizierte sich ebenfalls zwischen Fovea-Markierung und Rand des Sehnervs.

2.4.1.4 Erstellen gemittelter QAF Standardretinae

Zur Erstellung der Standardretinae wurde mittels FIJI Plug-In (Add to Standard Retina OCT) die errechneten QAF Bilder übereinandergelegt. Hierzu waren die vorher durchgeführte Markierung der Fovea und der Rand des Sehnervs notwendig, um die Bilder zu skalieren und Rotationsunterschiede auszugleichen. Durch das Übereinanderlegen der QAF Bilder wurden die QAF Werte gemittelt. Das neu entstandene Bild der Standardretina stellt den Mittelwert für jedes Pixel (berechnet aus allen Einzelwerten an der jeweiligen Stelle) der zur Standardretina hinzugefügten QAF Bilder dar.

Standardretinae wurden von allen Patienten unter CQ/HCQ Therapie ohne Makulopathie sowie von den Patienten mit Makulopathie erstellt. Auf die Standardretina konnten ebenfalls die verschiedenen Grids (FIJI Plug-In „Grids Standard Retina“) angewendet und somit berechnet werden, wo sich die Segmente mit höchster und niedrigster Intensität für die unterschiedlichen Subgruppen befinden.

2.4.2 Struktur-Funktions-Korrelation

2.4.2.1 Auswertung der SD-OCT

Für die Analyse wurde die Dicke der gesamten Retina (Interne Limitierende Membran (ILM) zur Bruch Membran (BM)), der inneren Retina (ILM zur externen limitierenden Membran (ELM)) und der äußeren Retina (ELM zur BM) gemessen. Die Auswertung der SD-OCT zur Messung der retinalen Dicken erfolgte über zwei unterschiedliche Methoden.

Zum einem wurden durch die geräteeigene Software (Heyex, Heidelberg Engineering) die oben genannten Schichten der 49 Scans automatisch segmentiert, siehe Abbildung 5.A. Diese konnten, falls nötig, manuell nachbearbeitet werden. Daraus errechnete die Software die Mittelwerte der Dicken innerhalb des ETDRS-Anlysemusters, welche mit den QAF Werten des ETDRS-Anlysemusters korreliert wurden.

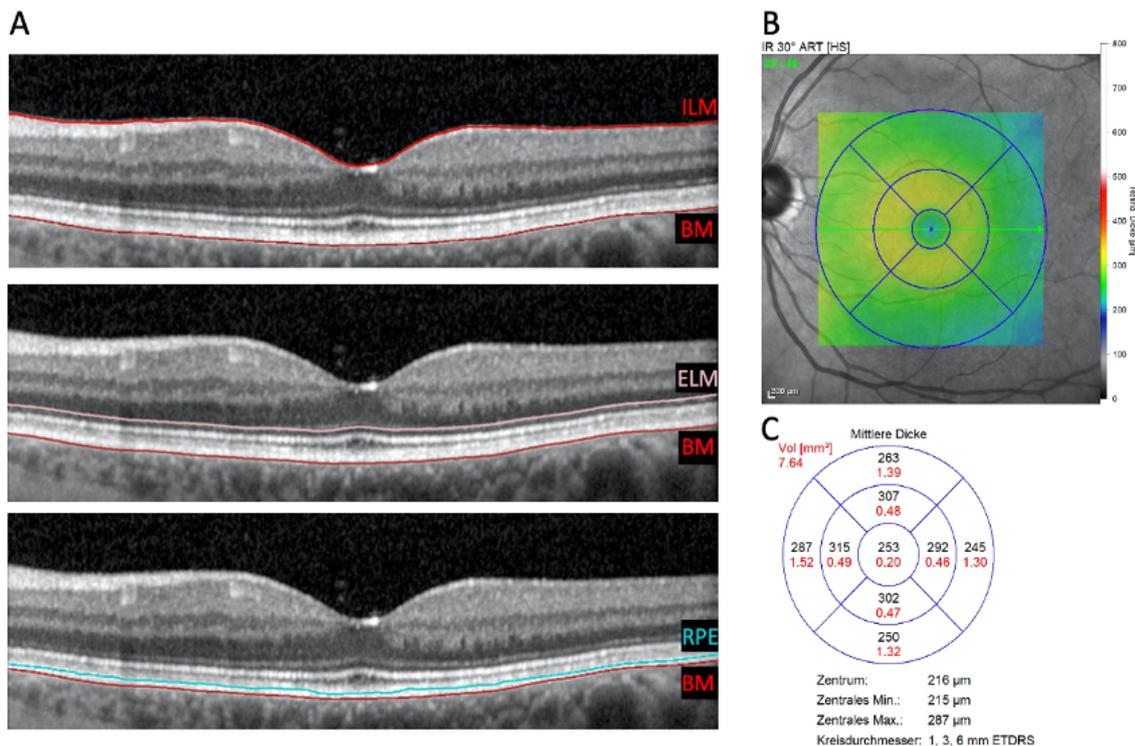


Abb. 5. Bestimmung unterschiedlicher Retina-Dicken mittels HEYEX innerhalb des ETDRS Grids. In A ist ein fovealer SD-OCT Schnitt dargestellt. Hier wurden durch die interne Software die interne limitierende Membran (ILM), externe limitierende Membran (ELM), das retinale Pigmentepithel (RPE) und die Bruch Membran (BM) automatisch für jeden der 49 Scans erkannt (hier nur beispielhaft für den fovealen Schnitt). Bei Bedarf (fehlerhafter Zuordnung durch die Software, insbesondere nötig bei CQ/HCQ Makulopathie) konnte manuell nachjustiert werden. B. Durch die Software wurde eine farbkodierte Dickenkarte erstellt, welche auf das IR *En-Face* Bild und das ETDRS Grids projiziert wurde. Der grüne Pfeil markierte den aktuellen Schnitt in der SD-OCT. C. Die HEYEX-Software (Heidelberg Engineering) ermittelte für jedes Segment des ETDRS Grids die mittlere Dicke und das Volumen (hier beispielhaft für die gesamte Retina dargestellt, dies wird auch für innere und äußere Retina ermittelt).

Zum anderen wurden an 11 Punkten des horizontal zentralen, fovealen 6 mm SD-OCT Schnitts die SD-OCT Dicken mittels FIJI Plug-In (Annotate LRP XML) berechnet, siehe Abbildung 6. Dabei wurde manuell an 11 Punkten dieses fovealen Schnittes (Fovea und jeweils in 0,5 mm Abständen horizontal nach nasal und temporal) die interne limitierende Membran (ILM), externe limitierende Membran (ELM) und das RPE in der OCT markiert (Abb. 6). Für die exakte Markierung der Schichten wurde das Reflektionsmuster des A-Scans zur Hilfe genommen (Abb. 6.3). Das FIJI Plug-In (Grids OCT) ermöglichte die zusätzlich

die Bestimmung der QAF Werte an diesen 11 Punkten (5x5 Pixel), siehe Abbildung 6.1.

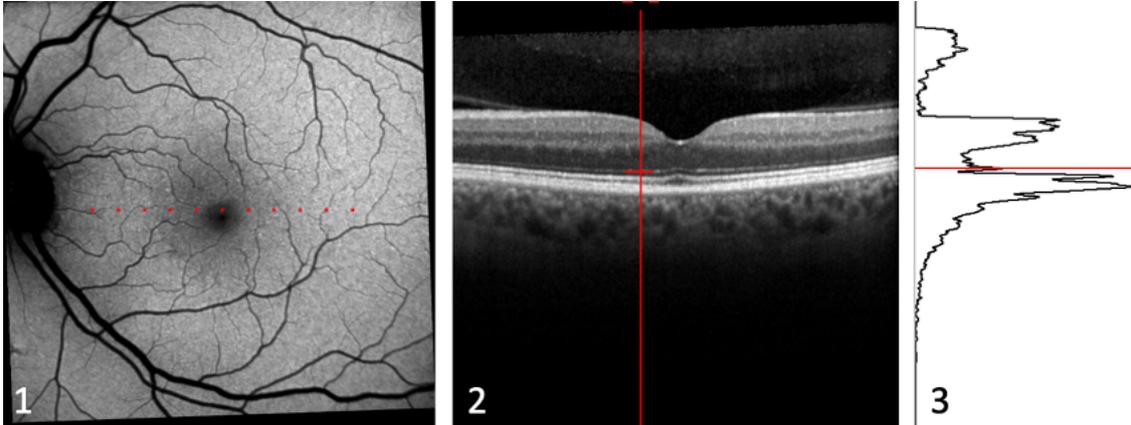


Abb. 6 Bestimmung der SD-OCT Dicken und QAF Werte mittels FIJI Plug-In. 1. An 11 Punkten (rote Markierungen), in definiertem Abstand zur Fovea, wurden die QAF Werte sowie die Netzhautdicken im zentralen (fovealen) SD-OCT Schnitt bestimmt. 2. Beispielhafter vertikaler Schnitt 0,5 mm nasal der Fovea im horizontal zentralen, fovealen SD-OCT Schnitt. 3. Markierung der ELM mittels Hilfe des A-Scans.

2.4.3 Statistische Analyse

Die Daten wurden mittels Excel und SPSS (IBM SPSS 25.0; IBM Corporation, Armonk, NY, USA) gesammelt und analysiert. Zahlenwerte wurden als Mittelwert \pm Standardabweichung dargestellt. Mittels Quantil-Quantil Diagramm, Kolmogorov-Smirnov und Shapiro-Wilk Test (Kontrollen $p=0,939$ und CQ/HCC $p=0,286$) wurden die Daten auf Normalverteilung geprüft. Nach Anwendung des Levene-Tests konnten gleiche Varianzen angenommen werden ($p=0,806$). T-Test für unabhängige Stichproben wurde für die jeweiligen Mittelwerte verwendet. Ein P Wert $< 0,05$ wurde als statistisch signifikant angesehen. Die Assoziation zwischen Alter und QAF wurde mittels Rangkorrelationskoeffizient nach Spearman (r_s) berechnet. Die Korrelation zwischen Netzhautdicke und QAF mittels Pearson-Produkt-Moment-Korrelationskoeffizient (r).

2.4.4 Normalgruppe der quantitativen Autofluoreszenz

Als vergleichende Normalgruppe wurden von 09.2016 bis 04.2019 an der Augenklinik Würzburg gesunde Patienten (ohne jegliche Pathologie oder Medikamenteneinnahme mit Auswirkungen auf die Autofluoreszenz) mittels QAF aufgenommen. Zweiunddreißig dieser gesunden Probanden wurden entsprechend nach Alter und Geschlecht ausgewählt und als vergleichende Normalgruppe verwendet. Da die Gruppe der Patienten mit BEM einen höheren Altersdurchschnitt hat, wurden für die Patienten mit BEM eine weitere Normalgruppe mit entsprechendem Altersdurchschnitt bestimmt. Ebenfalls wurden für die Patienten bis 60 Jahre mit/ohne BEM weitere Normalgruppen mit ähnlichem Altersdurchschnitt und Altersverteilung erstellt. Die Aufnahmen wurden mit demselben Gerät durchgeführt und identisch mittels FIJI Plug-In ausgewertet.

3 Ergebnisse

3.1 Patientenkohorte

3.1.1 Gesamte Kohorte

In der Zeit von September 2017 bis April 2019 wurden 44 Patienten untersucht. Aufgrund schlechter Bildqualität mussten 6 Patienten ausgeschlossen werden, sodass für die folgenden Analysen der Daten 38 Patienten eingeschlossen wurden. Die demographischen Daten sind in Tabelle 1 zusammengefasst.

36 Patienten (94,7 %) waren Frauen, 2 Patienten waren Männer. 63% der analysierten Augen waren linke Augen. Der häufigste Grund für die Einnahme war eine Erkrankung an systemischem Lupus erythematodes (SLE). Acht (21 %) der Patienten wurden aufgrund einer Einnahme von CQ eingeschlossen, 33 (86 %) von HCQ. Drei (7,9 %) Patienten haben im Verlauf beide Medikamente eingenommen (siehe Tabelle 1).

Das mittlere Alter aller 38 Patienten lag bei $48,4 \pm 13,9$ Jahren (Spannweite 22 bis 68 Jahre, Median 53 Jahre), die mittlere kumulative Dosis lag bei $737,4 \pm 603,8$ g (Spannweite 6,4 g bis 2171 g, Median 587 g). Die mittlere Einnahmedauer betrug $7,8 \pm 6,4$ Jahre (Spannweite 0,5 bis 28 Jahre; Median 6,8 Jahre; siehe Tabelle 2).

Keiner der Patienten gab an, an einem Kurzdarmsyndrom oder einer manifesten Niereninsuffizienz zu leiden, welches die Medikamentenaufnahme oder Ausscheidung beeinflussen könnte.

3.1.2 CQ/HCQ induzierte Makulopathie

5 der 38 Patienten (13,2 %) zeigten Auffälligkeiten aufgrund einer CQ/HCQ induzierten Makulopathie in allen Screeningmodalitäten (Perimetrie, mfERG, SD-OCT, AF). Das mittlere Alter dieser Patienten lag bei $53,5 \pm 10,5$ Jahren (Spannweite 35 bis 61 Jahre, Median 58 Jahre), die mittlere kumulative

Dosis bei $1224,4 \pm 466,6$ g (Spannweite 730 bis 1733 g, Median 1095 g). Alle Patienten mit Makulopathie haben CQ eingenommen, eine Patientin nahm zeitweise HCQ ein.

3.1.3 Patienten ohne Makulopathie

Die übrigen 33 Patienten zeigten in den durchgeführten Screeningmethoden und in der ophthalmologischen Untersuchung keine CQ/HCQ induzierten retinalen Auffälligkeiten. Insbesondere ergaben sich in den von der AAO empfohlenen Screeninguntersuchungen wie Fundusautofluoreszenz, mfERG, Gesichtsfeld- und Visusprüfungen keine pathologischen Veränderungen. Das mittlere Alter dieser Patienten lag bei $47,6 \pm 14,3$ Jahre (Spannweite 22 bis 68 Jahre, Median 52 Jahre), die mittlere kumulative Dosis bei $663,7 \pm 593,1$ g (Spannweite 6,4 bis 2171 g, Median 511 g). Der bestkorrigierte Visus (BCVA) betrug bei allen gesunden Patienten ohne Makulopathie für das eingeschlossene Auge $>20/25$, mit einer Ausnahme eines Patienten aufgrund einer Amblyopie.

3.1.4 Patienten bis 60 Jahre

Aufgrund des in der Einleitung beschriebenen Abfalls der QAF Werte ab dem 60. Lebensjahr wurde eine Subgruppe geformt, die alle Patienten bis zum 60. Lebensjahr einschloss. Diese Patientengruppe mit insgesamt 29 Patienten ist in Tabelle 1 durch eine Linie getrennt. In dieser Gruppe waren 27 (93,1%) Frauen und 2 Patienten männlich. Es wurden 19 linke Augen und 10 rechte Augen eingeschlossen. 86,2% nahmen HCQ ein, 24,1% CQ und 10,3% haben im Verlauf beide Präparate eingenommen. 4 Patienten zeigten eine Makulopathie. Tabelle 2 zeigt Alter und kumulative Dosis \pm SD und Spannweite für die jeweiligen Subgruppen (Alle/bis zu 60 Jahren mit jeweils BEM und ohne BEM) und deren Kontrollgruppen.

Alter	Geschlecht	Einnahmegrund	CQ	HCQ	kumulative Dosis [g]	Einnahmedauer [J]	eingeschlossenes Auge	BCVA	
22	w	Sjögren-Syndrom		+	402	6,5	OS	20/13	
24	w	Kollagenose		+	24	0,5	OS	20/13	
24	w	Kollagenose		+	693	5,5	OD	20/20	
27	w	R.A.		+	168	2,5	OD	20/16	
31	w	SLE		+	18,6	0,5	OD	20/20	
32	w	R.A.		+	176,7	1,5	OS	20/16	
33	w	R.A.		+	401	5,5	OS	20/13	
34	w	SLE		+	754	9,5	OD	20/13	
34	w	SLE		+	608	8,5	OD	20/16	
35	w	SLE		+	912	9,0	OS	20/16	
35	w	SLE	+		867	9,0	OS	20/100	BEM
40	m	SLE		+	365	4,0	OS	20/16	
40	w	SLE		+	511	7,0	OD	20/16	
41	w	SLE		+	1045	10,0	OS	20/20	
45	w	kutaner Lupus		+	219	2,0	OS	20/16	
45	w	R.A.		+	36	0,5	OD	20/20	
50	w	R.A.	+		2007	22,0	OD	20/20	
52	w	SLE		+	511	4,0	OS	20/13	
53	m	R.A.		+	566	4,0	OS	20/16	
53	w	kutaner Lupus		+	238	2,5	OS	20/16	
54	w	CREST Syndrom	(+)	+	635	8,5	OS	20/20	
54	w	Lichen ruber follikularis		+	657	5,5	OS	20/16	
56	w	SLE	+	(+)	1697	10,0	OD	20/200	BEM
57	w	kutaner Lupus		+	1602,5	13,0	OS	20/16	

57	w	Sjögren-Syndrom		+	45	1,0	OS	20/16	
58	w	Kollagenose		+	2171	10,5	OS	20/16	
58	w	R.A.		+	1733	19,0	OS	20/20	BEM
58	w	R.A.		+	730	8,0	OD	20/20	BEM
59	w	SLE		+	(+) 1244	28,0	OS	20/20	
61	w	R.A.		+	1277	17,5	OS	20/40*	
61	w	R.A.		+	1095	12,0	OS	20/40	BEM
63	w	kutaner Lupus		+	365	7,0	OD	20/20	
63	w	Kollagenose		+	1652,5	19,0	OD	20/20	
63	w	SLE		+	522,5	6,5	OS	20/20	
64	w	Dermatomyositis		+	6,4	0,5	OS	20/20	
67	w	Kollagenose		+	1533	11,0	OD	20/20	
68	w	kutaner Lupus		+	147	2,0	OS	20/20	
68	w	Raynaud-Syndrom		+	425	4,0	OD	20/16	

Tabelle 1. Demographische Daten aller Patienten. Die durchgezogene Linie trennt die Gruppe aller Patienten von der Patientengruppe unter 60 Jahren. Erläuterungen: w: weiblich, m: männlich, R.A.: rheumatoide Arthritis; SLE: systemischer Lupus erythematoses, *:Visusreduktion aufgrund von Amblyopie; BEM: Bull's-eye-Makulopathie, BCVA: bestkorrigierter Visus. Bei Einnahme von CQ und HCQ ist das Präparat, welches im geringeren Maße zur kumulativen Gesamtdosis beigetragen hat, in Klammern gesetzt (+).

Alle Patienten (n)	Mittleres Alter [Jahre]	SD	Spannweite	Mittlere kum. Dosis [g]	SD	Spannweite
Alle (38)	48,4	± 13,9	22 - 68	737,5	± 603,9	6,4 - 2171
ohne BEM (33)	47,6	± 14,3	22 - 68	663,7	± 593,1	6,4 - 2171
mit BEM (5)	53,6	± 10,6	35 - 61	1224,4	± 466,6	730 - 1733
Kontrollen (32)	47	± 14,1	23-69			
Kontrollen BEM (22)	53,8	± 10,0	37 - 69			

Subgruppe unter 60 Jahren (n)	Mittleres Alter [Jahre]	SD	Spannweite	Mittlere kum. Dosis [g]	SD	Spannweite
Alle (29)	43,5	± 12,2	22 - 59	724,2	± 610,4	18,6 - 2171
ohne BEM (25)	42,2	± 12,0	22 - 59	639,0	± 586,9	18,6 - 2172
mit BEM (4)	51,8	± 11,2	35 - 58	1256,8	± 532,3	730 - 1733
Kontrollen (25)	42,0	± 11,7	23 - 60			
Kontrollen BEM (10)	51,8	± 5,0	45 - 58			

Tabelle 2. Alter und kumulative Dosis (Standardabweichung (SD) und Spannweite) für die Gruppe aller eingeschlossenen Patienten, für die Subgruppe bis 60 Jahre und für die jeweiligen, altersadaptierten Kontrollgruppen (mit/ohne BEM und über/bis 60 Jahre), sowie Unterteilung in Patienten mit und ohne BEM. Patienten mit BEM hatten ein höheres Alter und eine höhere kumulative Dosis, als Patienten ohne Makulopathie. Aufgrund des höheren Alters wurde für die bis und über 60-Jährigen mit BEM eine altersadaptierte Kontrollgruppe erstellt.

3.2 Quantitative Fundusautofluoreszenz

3.2.1 Farbkodierte Quantitative Fundusautofluoreszenz und weitere Modalitäten

Bei der Analyse der farbkodierten quantitativen Fundusautofluoreszenz fielen höhere Werte bei Patienten unter CQ/HCQ Einnahme (Abb. 7, B) verglichen mit einem circa gleichaltrigen Patientenkollektiv (Abb. 7, A) auf. Dies konnte auch beobachtet werden, obwohl keine Veränderungen in den weiteren Modalitäten, wie FAF 488, SD-OCT, Perimetrie und mfERG zu erkennen waren (Abb. 7, B).

Bei Patienten mit BEM (Abb. 7, C-E) war in der AF 488 das bisher beschriebene Muster aus hypoautofluoreszierender Atrophiezone (dunkelblau in der farbkodierten QAF Aufnahme) und hyperautofluoreszierenden Ring (weiß in der farbkodierten QAF Aufnahme) gut zu erkennen. Dies zeigte sich auch in der farbkodierten QAF. Besonders bei Patient D und E (Abb. 7) fielen hohe QAF Werte temporal und auch inferior der Atrophiezone auf. Entsprechend der Veränderungen, welche in der farbkodierten QAF als BEM zu erkennen waren, zeigten sich bei diesen Patienten eine Atrophie der äußeren Netzhautschichten in der SD-OCT. In den funktionellen Untersuchungen der Perimetrie und des mfERG ergaben sich ebenfalls Zeichen eines parafovealen Visus- und Funktionsverlusts.

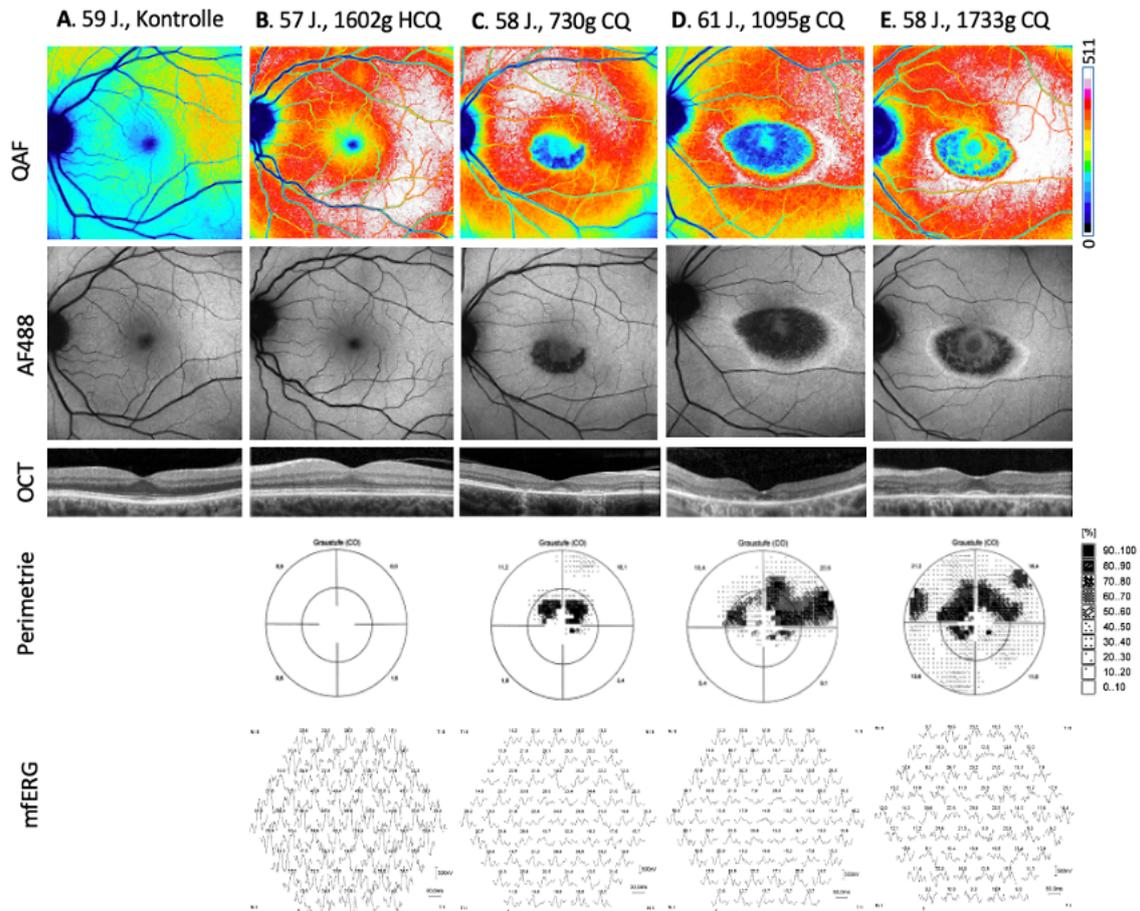


Abb. 7. Farbkodierte QAF und weitere funktionelle/strukturelle Bildgebung. A. QAF, AF488 und SD-OCT einer gesunden Kontrolle, es zeigten sich normale QAF Werte mit hoher Intensität superotemporal. B. Aufnahmen eines Patienten mit HCQ Einnahme und hoher QAF, jedoch keinen Auffälligkeiten in den weiteren Modalitäten. C-E. Patienten mit Makulopathie zeigten ebenfalls hohe QAF Intensitäten und Zeichen der Makulopathie in den weiteren strukturellen (SD-OCT und FAF) und funktionellen (Perimetrie und mfERG) Screeningmodalitäten.

3.2.2 Analyse mittels Delori Grid; QAF8

Die QAF8 Werte (gemittelte QAF Werte der 8 Segmente des mittleren Rings des Delori Grids; siehe Abb. 4B) aller untersuchten Patienten waren signifikant höher als die der alters- und geschlechtsspezifischen Kontrollgruppe (siehe Tabelle 3). Dies galt für alle Patienten ($305,7 \pm 68,7$ [QAF a.u.], $p=0,011$), wie auch für die Subgruppe bis 60 Jahre ($303,7 \pm 77,5$ [QAF a.u.], $p=0,013$). Vergleicht man nur die Patienten ohne BEM mit der Kontrollgruppe zeigte sich ebenfalls für beide Subgruppen (bis/über 60 Jahren) ein signifikanter Unterschied (siehe Tabelle 3). Die Gruppe der Bull's eye Makulopathien wurde

aufgrund der Altersdifferenz zur Normalgruppe gegen eine andere, altersadaptierte Kontrollgruppe verglichen. Hier ergab sich bei den fünf Patienten mit BEM inklusive der Patientin über 60 Jahre ein signifikanter Unterschied zur altersadaptierten Kontrollgruppe ($361,0 \pm 55,2$ [QAF a.u.], $p=0,033$), während sich bei den Patienten mit BEM bis 60 Jahre ($n=4$) kein signifikanter Unterschied zur altersadaptierten Kontrollgruppe zeigte ($359,0 \pm 66,1$ [QAF a.u.], $p=0,183$).

Alle Patienten					
Subgruppe	Mittleres Alter [Jahre]	Mittelwert QAF8 [a.u.]	SD	Spannweite	Signifikanz [t-test]
Alle	48,39	305,65	$\pm 68,71$	161,30 - 505,76	$p=0,011$
ohne BEM	47,61	297,26	$\pm 67,29$	161,30 - 505,77	$p=0,042$
mit BEM	53,60	360,98	$\pm 55,20$	269,28 - 419,20	$p=0,033$
Kontrollen	47,00	260,41	$\pm 76,72$	99,71 - 386,97	
Kontrollen BEM	53,80	286,40	$\pm 63,58$	166,12 - 386,97	
Unter 60 J.					
Subgruppe	Mittleres Alter [Jahre]	Mittelwert QAF8 [a.u.]	SD	Spannweite	Signifikanz [t-test]
alle	43,48	303,71	$\pm 77,47$	161,30 - 505,76	$p=0,013$
ohne BEM	42,16	294,87	$\pm 76,86$	161,30 - 505,77	$p=0,043$
mit BEM	51,75	358,96	$\pm 63,53$	269,28 - 419,20	$p=0,183$
Kontrollen	41,96	249,50	$\pm 77,49$	99,71 - 386,97	
Kontrollen BEM	51,8	386,97	$\pm 66,09$	191,53 - 386,97	

Tabelle 3. QAF8 für unterschiedliche Subgruppen. Mittleres Alter und QAF8 (Mittelwert (a.u.=arbitrary units), SD (=Standardabweichung) und Spannweite) sowie Signifikanz im Vergleich zur Normalgruppe. Patienten mit BEM wurden mit einer separaten, altersadaptierten Normalgruppe verglichen.

3.2.3 Analyse mittels modifiziertem Delori Grid (QAF97-Grid); QAF 97

Das bisher publizierte und für Berechnungen der QAF herangezogene Delori Grid mit Ermittlung der QAF8, deckte bei Anwendung auf Fundusaufnahmen von Patienten mit Makulopathie diese nicht komplett ab. Zur weiteren Unterteilung des Gitters und genaueren Berechnung von QAF Werten in bestimmten Bereichen wendeten wir ein modifiziertes Delori Grid (QAF97-Grid) an, welches aus 97 Segmenten bestand (96 Segmente der Ringe plus Fovea; siehe Abb. 8).

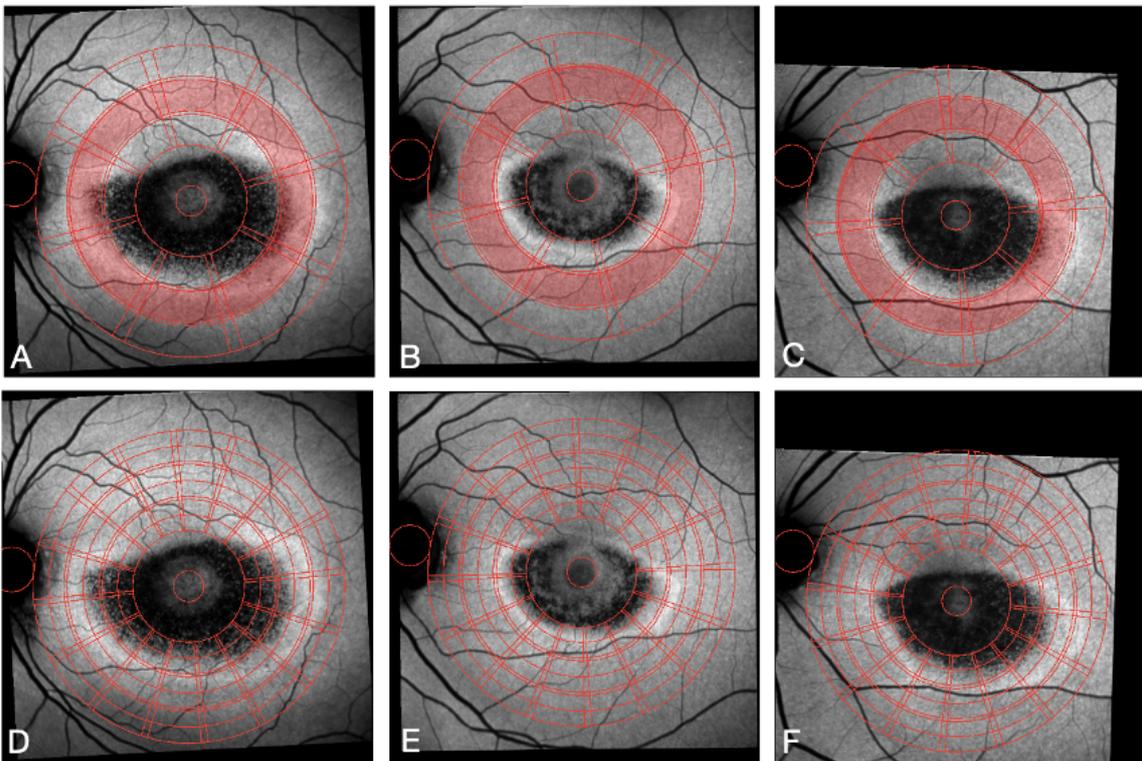


Abb. 8. Delori Grid (QAF8) und QAF97-Grid bei Patienten mit BEM. Erste Reihe: Der mittlere Ring des Delori Grids ist rot markiert. Aus den Mittelwerten dieser acht markierten Segmente berechnete sich QAF8 (A,B,C). Dieser Bereich lag außerhalb der Atrophiezone und deckte die Makulopathie nicht mit ab. Zweite Reihe: Hier sind für dieselben Aufnahmen die jeweiligen QAF97-Grids (D,E,F) dargestellt, aus denen sich durch Mitteln aller 96 Segmente QAF97 berechnen ließ. Dieser Wert bildete die Atrophiezone teilweise mit ab. Durch die niedrige Autofluoreszenz in der Atrophiezone war bei den Patienten mit BEM der QAF97 Wert geringer als der QAF8 Wert.

QAF97 Werte aller Patienten (A) und der Patienten bis 60 Jahre (B) sind in Abbildung 9 graphisch dargestellt. Der Abfall der QAF Werte ab dem sechzigsten

Lebensjahr führte zu einer stärkeren Steigung der Trendlinie der Subgruppe bis 60 Jahre für die CQ/HCQ Gruppe. Durch den Wegfall dieser Datenpunkte stieg r^2 von 0,34 (alle CQ/HCQ Patienten) auf 0,57 (Ausschluss der über 60-Jährigen), während es für die Kontrollen gleich blieb ($r^2=0,31$).

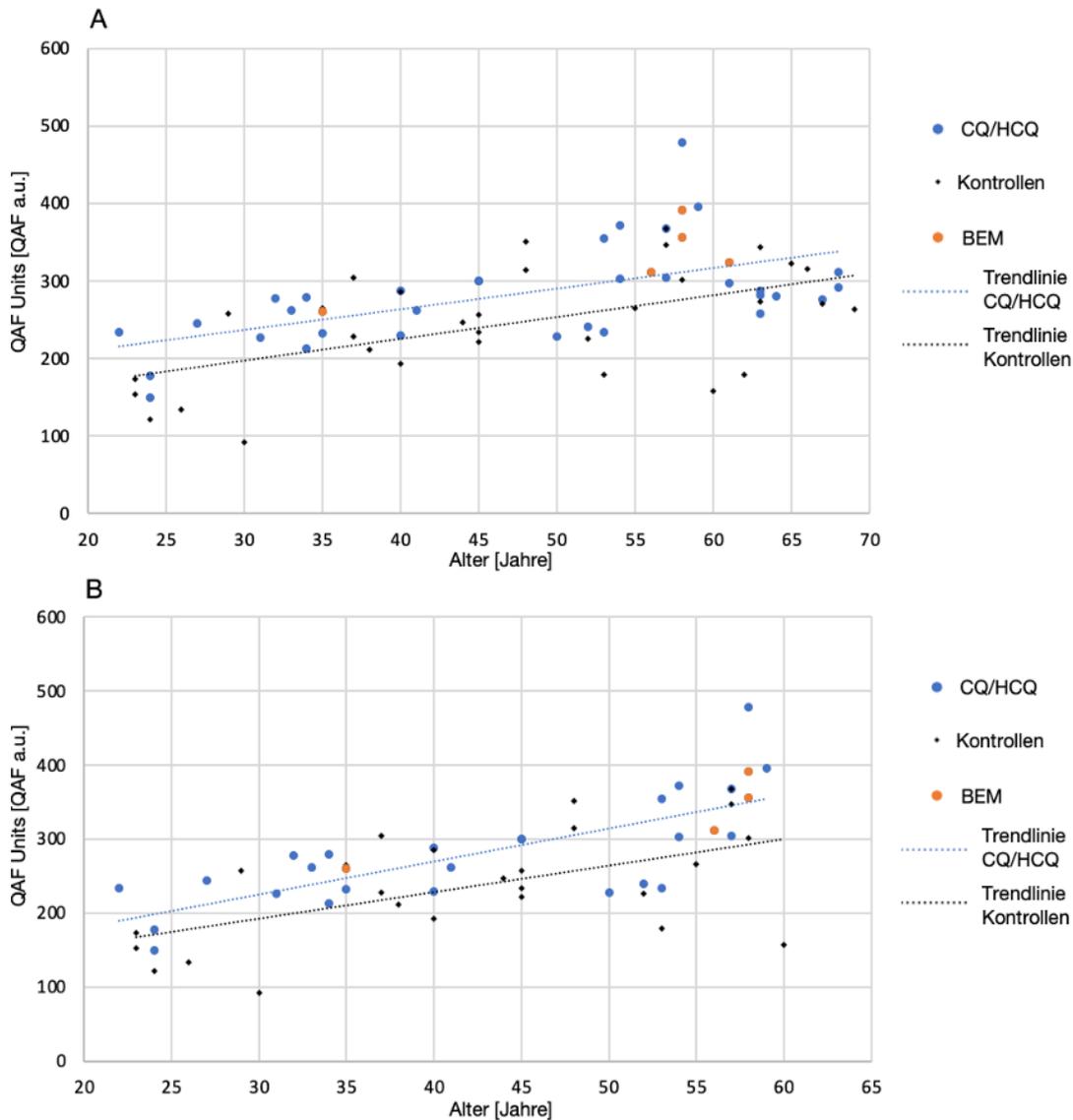


Abb. 9. QAF97 der CQ/HCQ Patienten und Kontrollen. Es zeigte sich eine Zunahme der QAF97 Werte mit dem Alter bei allen Subgruppen. Patienten mit CQ/HCQ Einnahme (blaue Punkte) hatten höhere QAF97 Werte als die Kontrollgruppe (schwarze Punkte). Wie auch für QAF8 war ein Abfall der QAF97 nach dem sechzigsten Lebensjahr zu beobachten (A). In B sind Patienten über 60 Jahre nicht dargestellt, die Trendlinie der CQ/HCQ Patienten (blaue Linie) hat sich im Vergleich mit der in Abb. A eine höhere Steigung. Durch Berechnung der linearen Regression für die einzelnen Gruppen, ergab sich ein höheres r^2 für die Gruppe bis 60 Jahre ($r^2=0,57$) im Vergleich zur Gruppe aller Patienten ($r^2=0,34$), welches durch Abstinken

der QAF nach dem 60ten Lebensjahr erklärt wurde. Für die Kontrollgruppe (schwarze Linie) ergab sich für die unter und über 60-Jährigen $r^2=0,31$.

Die QAF97 Werte aller Patienten (QAF97: $286,2 \pm 63,3$ [QAF a.u.]; $p=0,014$) waren signifikant höher als die der Kontrollen ($245,4 \pm 71,8$). Dies galt auch für Patienten ohne BEM ($279,8 \pm 63,4$ [QAF a.u.]; $p=0,044$). Schließt man Patienten über 60 Jahren aus, ergaben sich ähnliche Mittelwerte und Signifikanzniveaus, siehe Tabelle 4. Für Patienten mit BEM zeigten sich höhere QAF97 Werte als bei den Patienten ohne BEM (QAF97: $328,3 \pm 49,0$ [QAF a.u.]), verglichen zur altersadaptierten Kontrollgruppe bestand allerdings keine Signifikanz.

Alle Patienten					
Subgruppe	Mittleres Alter [Jahre]	Mittelwert QAF97 [a.u.]	SD	Spannweite	Signifikanz [t-test]
alle	48,4	286,2	$\pm 63,3$	150,0 - 478,6	$p=0,014$
ohne BEM	47,6	279,8	$\pm 63,4$	150,0 - 478,6	$p=0,044$
mit BEM	53,6	328,2	$\pm 49,0$	260,4 - 390,9	$p=0,054$
Kontrollen	47,0	245,4	$\pm 71,8$	92,1 - 368,1	
Kontrollen BEM	53,8	269,7	$\pm 59,6$	157,5 - 368,1	
Unter 60 J.					
Subgruppe	Mittleres Alter [Jahre]	Mittelwert QAF97 [a.u.]	SD	Spannweite	Signifikanz [t-test]
alle	43,5	285,2	$\pm 72,0$	150,0 - 478,6	$p=0,015$
ohne BEM	42,2	278,1	$\pm 72,6$	150,0 - 478,6	$p=0,045$
mit BEM	51,8	329,5	$\pm 56,5$	260,4 - 390,9	$p=0,228$
Kontrollen	42,0	235,4	$\pm 73,8$	92,1 - 368,1	
Kontrollen BEM	51,8	283,0	$\pm 63,5$	178,6 - 368,1	

Tabelle 4. QAF97 für unterschiedliche Subgruppen. Mittleres Alter und QAF97 (Mittelwert (a.u.=arbitrary units), SD (=Standardabweichung) und Spannweite) sowie Signifikanz im Vergleich zur Normalgruppe für alle Patienten und Patienten bis 60 Jahre. Patienten mit BEM wurden zu einer separaten, altersadaptierten Normalgruppe verglichen.

Wie bereits in Abbildung 9 graphisch dargestellt, war eine Zunahme der QAF97, ähnlich der QAF8, mit dem Alter zu beobachten. Für die Gruppe aller

Patienten war die Korrelation von QAF97 und Alter $r_s = 0,6$ ($p < 0,0001$), für die Patienten ohne BEM $r_s = 0,6$ ($p < 0,0001$), für die Patienten mit BEM $r_s = 0,6$ ($p = 0,1$), für die Kontrollen $r_s = 0,5$ ($p = 0,001$). Für die Gruppe bis 60 Jahre bestand eine signifikante und durch den Ausschluss der über 60-Jährigen, mit sinkenden QAF Werten, stärkere Korrelation (alle Patienten: $r_s = 0,8$ ($p < 0,0001$), ohne BEM $r_s = 0,7$ ($p < 0,0001$), mit BEM $r_s = 0,9$ ($p = 0,051$), Kontrollen $r_s = 0,5$ ($p = 0,009$)).

Mittelwerte, Signifikanzen und Alterskorrelation von QAF8 und QAF97 unterschieden sich nur geringfügig. Vergleicht man die QAF8 und QAF97 Werte aller Patienten, zeigte sich eine signifikante Korrelation $r_s = 0,9$ ($p < 0,0001$). Wie oben bereits beschrieben deckte das QAF97-Grid mit Berechnung der QAF97 die Makulopathie besser ab, sodass im Bereich der strukturellen Veränderungen QAF Werte genauer bestimmt werden konnten. Bei Patienten mit Makulopathie führte dies beim Vergleich von QAF8 und QAF97 zu geringeren QAF97 Werten und einer geringeren und nicht signifikanten Korrelation $r_s = 0,7$ ($p = 0,188$) von QAF8 und QAF97. Der Vorteil des QAF97- Grids lag daher vor allem in der Möglichkeit zu detaillierten Analysen durch die kleineren Segmente, wie beispielsweise in Abbildung 10 und 12 dargestellt.

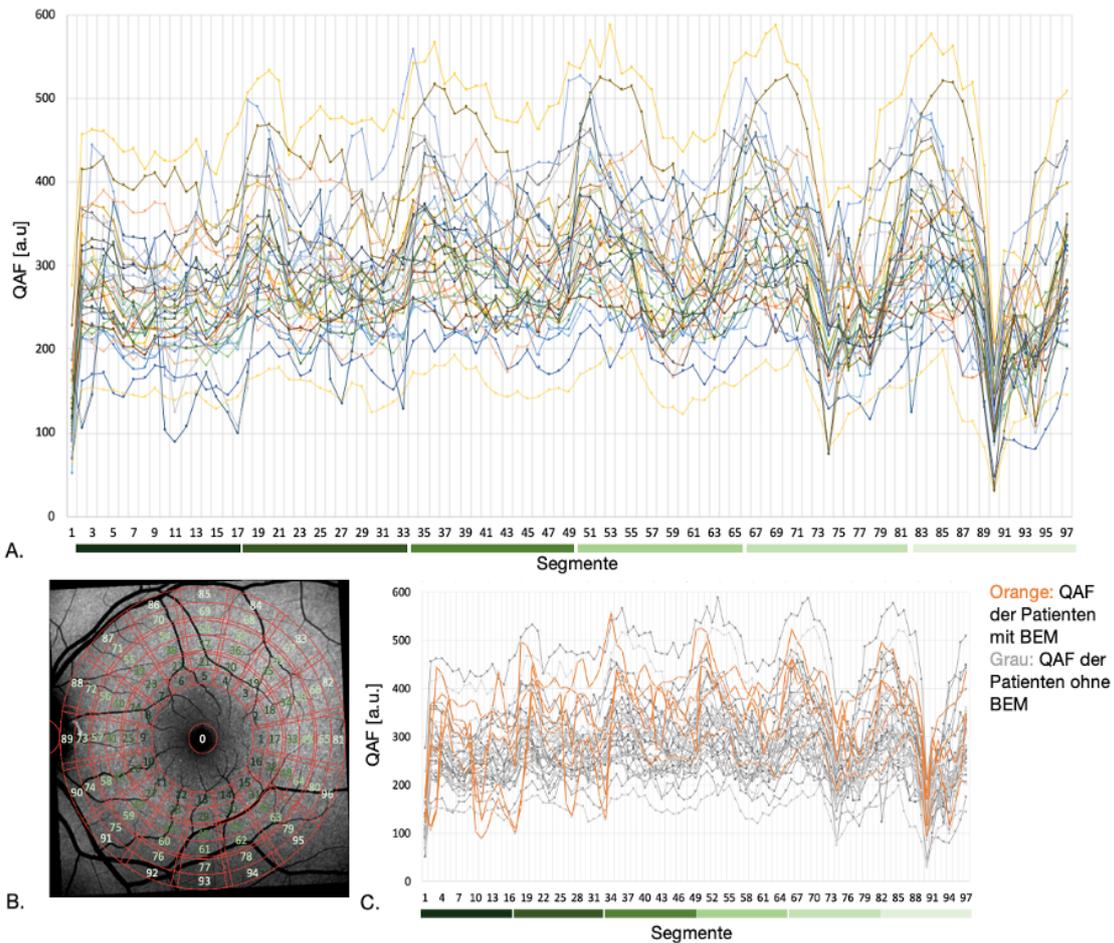


Abb. 10. Anwendung des QAF97-Grid bei allen Patienten unter CQ/HCQ Therapie. Darstellung aller QAF Segmente des QAF97-Grids. Einzelne Patienten sind jeweils durch eine Linie dargestellt. Beim Betrachten eines einzelnen Patienten (eine Linie) oder auch die Gesamtheit, fiel ein wiederkehrendes Muster der QAF Werte im Verlauf der Segmente mit hohen QAF Werten superotemporal und niedrigen QAF Werten medial auf. Die QAF Werte waren für jeden Ring im superotemporalen Bereich am höchsten, wodurch innerhalb jedes Rings (farbliche Grünabstufungen) ein Maximum entstand. Ein eindeutiges Minimum war im Bereich des Sehnervs erkennbar. Dieses Muster wurde durch die Patienten mit BEM (orange) durch die Atrophiezone in den inneren beiden Ringen durchbrochen (C), in den äußeren Ringen, entsprach der Kurvenverlauf der Patienten mit BEM denen ohne strukturelle Veränderungen durch CQ/HCQ. Für diese und weitere Analysen und Abbildungen wurde aufgrund des Abfalls der QAF Werte nach dem 60 Lebensjahr nur die Patienten bis 60 Jahre eingeschlossen.

3.2.4 QAF der Fovea und Parafovea

Mittels Delori Grid war ebenfalls eine Messung der QAF der Fovea und der Parafovea möglich (siehe Methoden Abb. 4). QAF Werte der Fovea bei CQ/HCQ Patienten (Mittelwert 133,2; Median: 124,5; SD: 48,3; Spannweite: 64,8

– 276,5 QAF a.u.) zeigten keinen signifikanten Unterschied ($p=0,08$) zur Kontrollgruppe (Mittelwert: 110,7; Median: 105,4; SD: 41,5; Spannweite: 31,5 – 206,2 QAF a.u.).

In der Parafovea zeigte sich ein stärkerer Trend zu erhöhten QAF Werten der CQ/HCQ Patienten (Mittelwert 206,6; Median: 191,1; SD: 59,4; Spannweite: 112,3 – 366,3 QAF a.u.) verglichen zur Normalgruppe ($p=0,055$) (Normalgruppe: Mittelwert 176,0; Median: 176,5; SD: 55,3; Spannweite: 61,6 – 281,58 QAF a.u.). Patienten mit BEM zeigten aufgrund der Atrophie geringere QAF Werte in der Parafovea. Exkludierte man die Patienten mit BEM und verglich nun die Gruppe der CQ/HCQ Patienten ohne BEM (Mittelwert 209,9; Median: 188,7; SD: 61,0; Spannweite: 112,3 – 366,3 QAF a.u.) zur Kontrollgruppe, ergab sich ein signifikanter Unterschied ($p=0,04$) zu höheren QAF Werten bei Patienten unter CQ/HCQ Therapie ohne BEM.

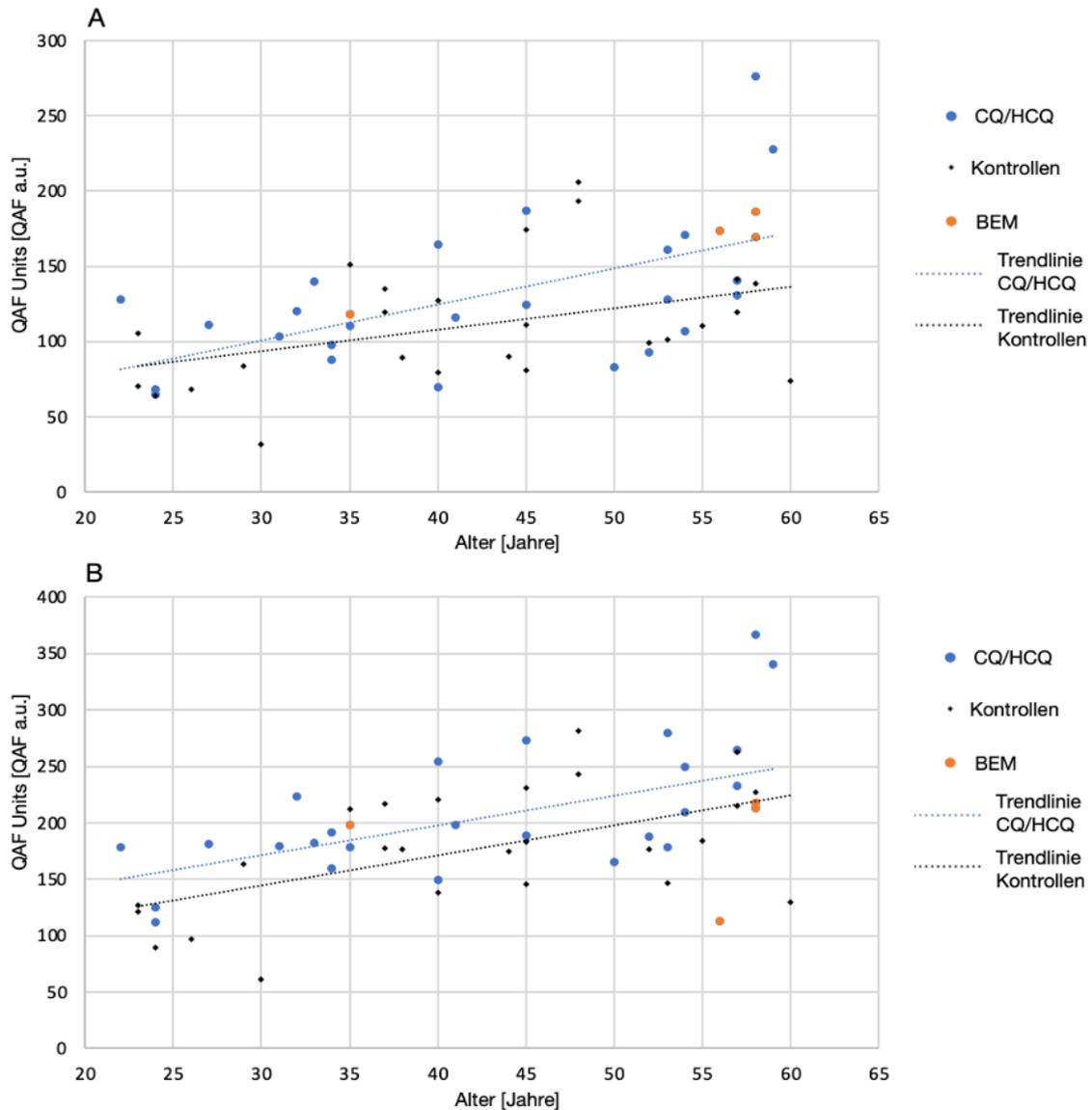


Abb. 11. QAF Werte der Fovea (A) und Perifovea (B). QAF Werte der Fovea waren aufgrund des lichtblockierenden Makulapigments und der geringen Anzahl an Lipofuszingranula in RPE Zellen der Fovea (Bermond et al 2020) deutlich niedriger als in der Peripherie und zeigten im Vergleich zu den Kontrollen keinen signifikanten Unterschied. In der Perifovea ergaben sich höhere QAF Werte. QAF Werte der Patienten mit BEM (orange Punkte) zeigten im Vergleich zu den QAF Werten der Perifovea geringere Werte aufgrund der Atrophie in diesem Bereich.

3.2.5 Analyse der höchsten QAF Segmente

Das FIJI Plug-In „Add to Standard Retina OCT“ ermöglicht ein Übereinanderlagern von QAF Bildern ausgerichtet an der fovealen Position und der markierten Position des Sehnervs, welche sich am nächsten zur Fovea befindet (siehe Methodik). Auf das neu entstandene gemittelte QAF Bild konnten

ebenfalls Grids projiziert werden. Dadurch konnte analysiert werden, welche Segmente im Mittel die höchste QAF Intensität zeigen (siehe Abb. 12). Diese befanden sich bei allen Patienten unter CQ/HCQ Therapie (unabhängig von Alter und BEM) im superotemporalen Bereich. Es fielen jedoch kleine Unterschiede auf. Bei Patienten mit BEM lagen die Segmente mit höchster Intensität temporaler (weniger superior) als bei Patienten ohne BEM. Ebenfalls fiel auf, dass Segmente mit hoher QAF Intensität außerhalb des für die QAF8 in Berechnung gezogenen Bereichs lagen (dieser wäre (Analog zu Abb. 4 und 8) in Abb. 12 der dritte und vierte Ring der sechs Ringe). Bei Patienten ohne Pathologie waren hohe Intensitäten eher peripherer (Abb.12 B und C), bei Patienten mit Pathologie eher zentraler (Abb. 12 D und E) des für die Berechnung der QAF8 genutzten Rings zu finden.

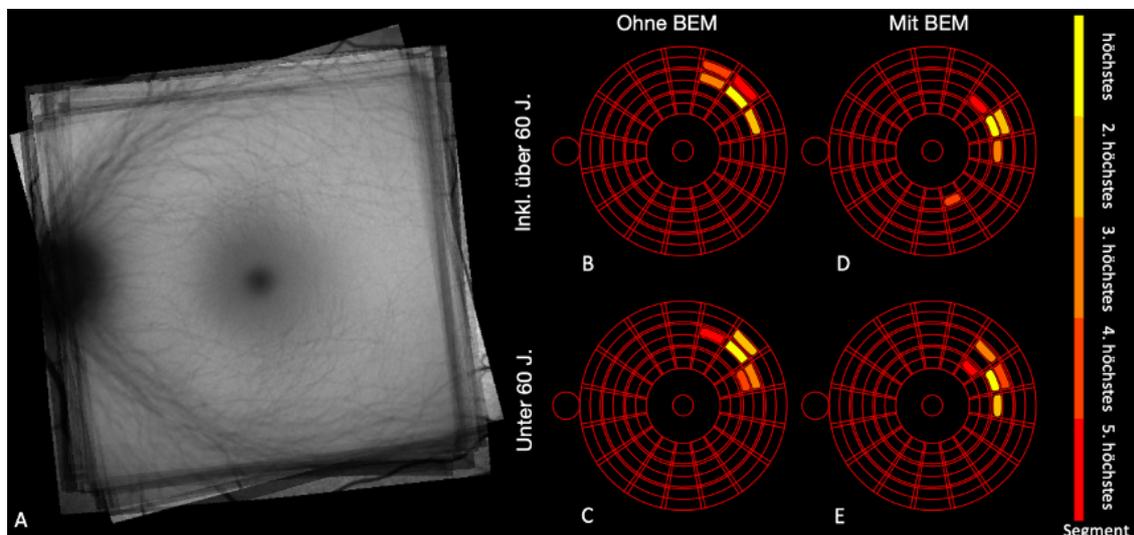


Abb. 12. Analyse der höchsten QAF Segmente des QAF97-Grid. Durch Anwendung der Grids auf die zur Standardretina gemittelten QAF Bilder (A) konnten die höchsten Segmente ermittelt werden (farblich abgestuft). Ohne BEM lagen die Segmente mit den höchsten QAF Intensitäten superotemporal, durch Ausschluss der Patienten über 60 Jahre waren minimale Veränderungen mit geringfügiger Verschiebung der Segmente mit hohen Intensitäten Richtung Fovea zu erkennen (B: alle Patienten ohne BEM, C: Patienten bis 60 Jahre ohne BEM). Abbildung D und E stellten die höchsten Segmente der Patienten mit BEM dar. Im Vergleich zur Gruppe ohne BEM zeigte sich eine Verschiebung der Segmente mit hoher Intensität Richtung Fovea und nach temporal.

3.2.6 QAF und kumulative Dosis/Einnahmedauer

Patienten, welche eine kumulative Dosis von über 1000 g CQ/HCQ eingenommen haben, zeigten signifikant höhere QAF Werte verglichen zu Patienten mit einer Gesamtdosis von unter 1000 g ($p=0,001$). Allerdings bestand zwischen den Gruppen (unter/über 1000 g kumulative Dosis) ein Altersunterschied (Gruppe unter 1000 g: Mittleres Alter: 40 J. Median: 37,5 J. Range: 22-58 J. SD: $\pm 11,6$; Gruppe über 1000 g: Mittleres Alter: 54 J. Median: 57 J. Range: 41-59 J. SD: $\pm 6,5$), sodass die erhöhten QAF Werte ebenfalls auf das höhere Alter zurückzuführen sein könnten.

Um die altersabhängige Variable herauszurechnen, wurde für jeden CQ/HCQ Patienten ein Quotient aus seinem QAF96 Wert zu einem Mittelwert von 3 Kontrollpatienten in ähnlichen Alter (Altersdifferenz der gemittelten Kontrollen zu den CQ/HCQ Patienten im Mittel $\pm 0,7$ Jahre, Spannweite 0-5 Jahre) berechnet, siehe Abbildung 13.

Hierbei zeigte sich für die meisten Patienten ein Quotient über 1, das heißt höhere QAF Werte im Vergleich zu den jeweiligen drei, altersähnlichen Kontrollpatienten. Dieser Quotient stand allerdings in keinem positiven Zusammenhang mit steigender kumulativer Dosis, siehe Abb. 13. Vielmehr kam es bei Patienten mit hoher kumulativer Dosis verglichen mit Patienten mit niedriger kumulativer Dosis zu geringeren Quotienten.

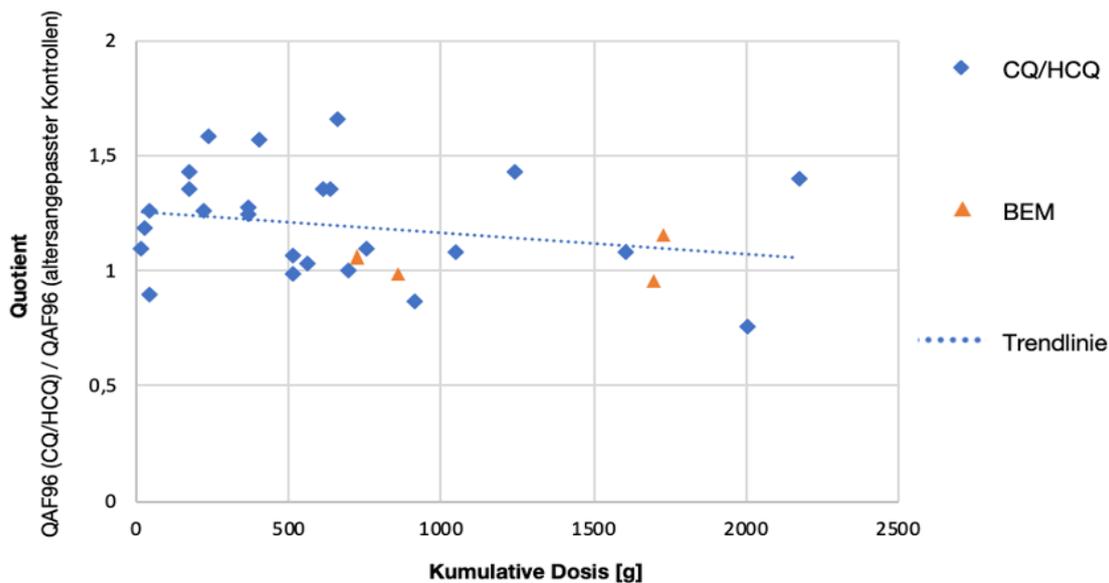


Abb. 13. QAF und kumulative Dosis. Steigende kumulative Dosis führte nicht zu steigender QAF. Der Graph zeigt die Relation des Quotienten der QAF97 Werte einzelner CQ/HCQ Patienten mit dem gemittelten QAF97 Wert von 3 altersangeglichenen Kontrollpatienten zur kumulativen Dosis der CQ/HCQ Patienten. Ein Quotient von 1 bedeutet, dass der QAF97 Wert des CQ/HCQ Patienten identisch mit dem der Kontrollpatienten ist. Generell zeigte sich ein Quotient über 1, dieser war eher in einen negativen Zusammenhang mit steigender kumulativer Dosis.

Betrachtet man die Einnahmedauer aller Patienten, welche über/unter 5 Jahre CQ/HCQ einnahmen ergab sich kein signifikanter Unterschied der QAF Werte beider Gruppen ($p=0,15$).

3.2.7 Multimodale Fundusaufnahmen und farbkodierte QAF bei Patienten mit BEM

Beim Betrachten der Fundusaufnahmen der Patienten mit BEM zeigten sich bei den Patienten mit fortgeschrittener, zirkulärer Makulopathie (Abb. 14. A-C) typische Verteilungsmuster. Um die hypoautofluoreszente, parafoveale Atrophiezone (dunkelblau) war in den farbkodierten QAF Aufnahme ein weiterer Ring zu erkennen (grün), darum wiederum ein hyperautofluoreszierender Ring (rot bis weiß). In Abbildung 14 war bei Fall D und E die Makulopathie mit Aussparung superior der Fovea noch nicht bis zur kompletten, zirkulären BEM fortgeschritten. An den betroffenen Stellen ließ sich allerdings das typische, oben beschriebene Atrophiemuster in den herkömmlichen Fundusaufnahmen

erkennen. In den AF788 nm Aufnahmen zeigte sich ebenfalls ein hyperautofluoreszierender Ring um die Atrophiezone, welcher sich im Vergleich zur AF488 nm Aufnahme am Rande des dort sichtbaren hyperautofluoreszierenden Rings befand. Das größte Ausmaß der Makulopathie schien in der Rotfreiaufnahme erkennbar zu sein. Insbesondere bei der kompletten Ausprägung der BEM waren in dieser Modalität Veränderungen bis weit in die Perifovea erkennbar.

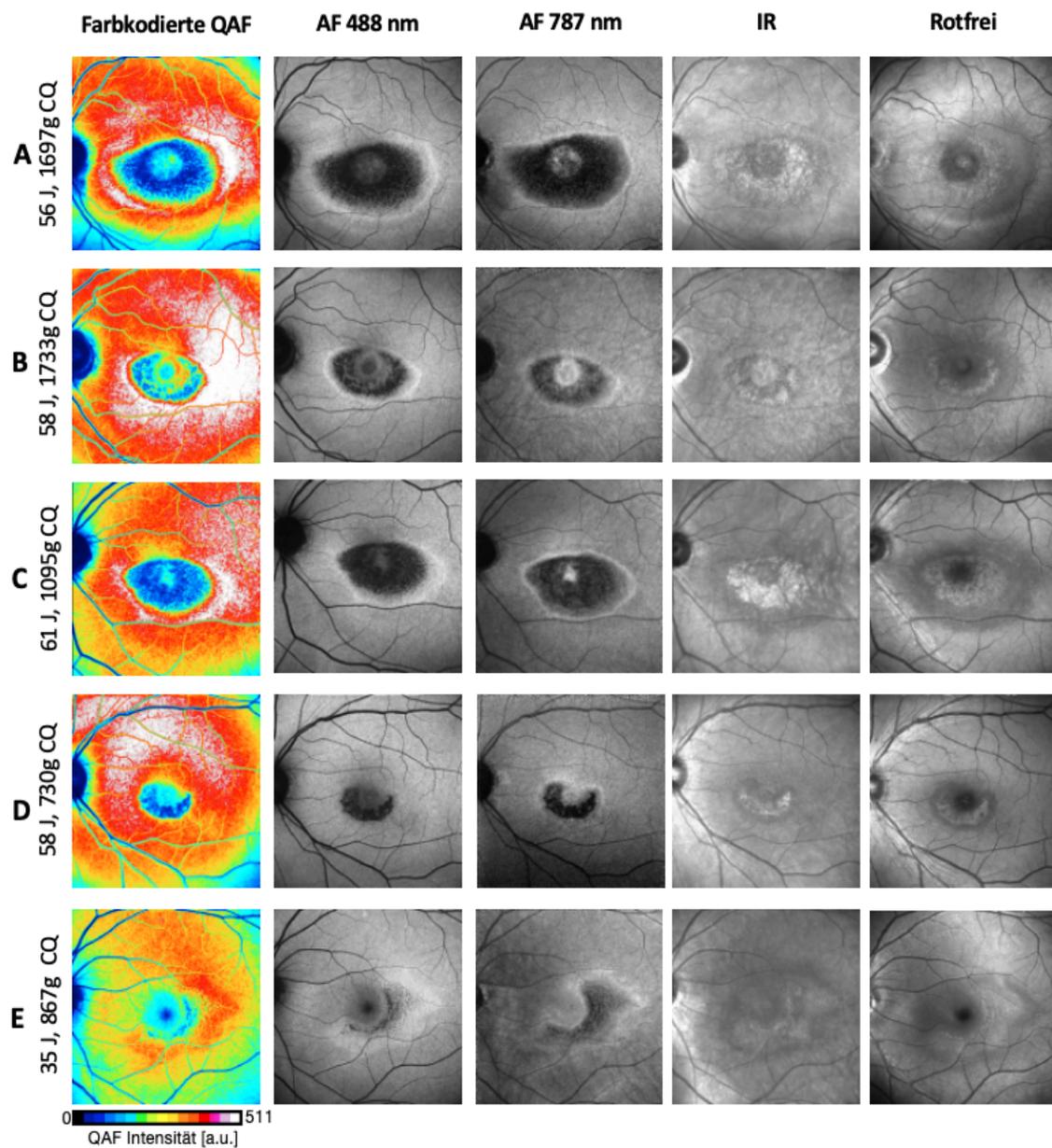


Abb. 14. Farbkodierte QAF und multimodale Fundusaufnahmen (AF 488 nm, AF787 nm, Infrarotaufnahme (IR) und Rotfreiaufnahme (Rotfrei)) der Patienten mit BEM. Patienten A-C zeigten in

allen Modalitäten eine fortgeschrittene, komplette BEM mit typischem Atrophiemuster. Bei Patienten D und E war noch keine zirkuläre BEM zu erkennen, die Atrophie spart den Bereich superior der Fovea in den abgebildeten Modalitäten aus.

3.3 SD-OCT

3.3.1 SD-OCT bei Patienten mit BEM

Bei allen Patienten wurde vor der QAF Aufnahme eine SD-OCT durchgeführt. Bei den Patienten mit BEM waren typische Veränderungen mit Untergang der äußeren Netzhautschichten zu erkennen. Bei drei der fünf Patienten (Abb. 15. B,D,E) zeigte sich im fovealen SD-OCT Schnitt das „flying saucer“ Zeichen (Brown et al 2010). Die Struktur der Netzhaut war foveal noch erhalten, während sich parafoveal ein Verlust der äußeren Netzhautschichten zeigte. Bei zwei weiteren Patienten (Abb. 15. A,C) mit fortgeschrittener BEM war eine komplette Atrophie äußerer Netzhautschichten, inklusive Fovea, zu erkennen.

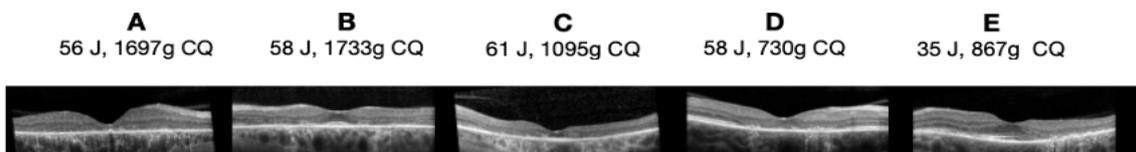


Abb. 15. Fovealer SD-OCT Schnitt der Patienten mit BEM. Die Bezeichnung der Patienten ist analog zu Abbildung 14. Eine teilweise Atrophie der äußeren Netzhautschichten war bei allen Patienten zu erkennen. Bei drei der fünf Patienten (B,D,E) war die foveale Struktur teilweise erhalten, welches in der Literatur als „flying saucer“ Zeichen (Brown et al 2010) beschrieben wird.

3.3.2 SD-OCT ETDRS Dicken und QAF ETDRS Grid

Mittels geräteeigener Software der Heidelberg Engineering SD-OCT (HEYEX) ließen sich die gemittelten Dicken einzelner Netzhautschichten (gesamte Netzhautdicke, innere Netzhaut (ILM-ELM) und äußere Netzhaut (ELM-BM) innerhalb des ETDRS Grid (Abb. 4, A) bestimmen. Das ETDRS Grid konnte ebenso über das QAF Bild projiziert werden, wobei das FIJI Plug-In (Grids OCT) die gemittelten QAF Werte für die unterschiedlichen Segmente des Grids berechnet. Durch Korrelation der Netzhautdicken der Patienten ohne BEM mit den gemittelten QAF Werten zeigte sich in den Segmenten 4 (innerer Ring,

inferior), 5 (äußerer Ring, temporal) und 7 (äußerer Ring, nasal; zur Lage der Segmente, siehe Abb. 4 A) eine moderate und signifikante Korrelation zwischen QAF Wert und gesamter Netzhautdicke. Für die innere Netzhaut ließen sich ebenfalls signifikante Korrelationen der Netzhautdicken zwischen ILM und ELM und der QAF in den Segmenten 4, 5 und 7 des ETDRS Grids nachweisen. Für die äußere Netzhaut (ELM-BM) ergaben sich keine signifikanten Korrelationen, sodass die Korrelation auf die innere Netzhaut zurückzuführen war.

Vergleicht man die Netzhautdicken der Patienten mit BEM mit den Patienten ohne BEM, zeigten sich aufgrund der Atrophie signifikant geringere Netzhautdicken (siehe Tabelle 6).

Gesamte Netzhautdicke (ILM-BM)

EDTRS Seg.	QAF [a.u.]	SD	Netzhautdicke ± SD [µm]	Korrelationskoeffizient	P Wert
0	147,1	± 53,3	279,7 ± 18,1	0,041	0,845
1	238,7	± 67,0	329,3 ± 16,3	-0,239	0,251
2	219,5	± 64,3	344,7 ± 18,4	-0,362	0,075
3	213,8	± 62,8	346,7 ± 19,0	-0,389	0,055
4	224,1	± 64,1	340,3 ± 16,9	-0,445	0,026
5	308,4	± 84,9	283,8 ± 16,1	-0,409	0,043
6	297,0	± 82,0	301,6 ± 18,5	-0,362	0,075
7	274,2	± 70,8	315,5 ± 22,2	-0,521	0,008
8	271,9	± 68,9	290,8 ± 20,0	-0,324	0,114

Äußere Netzhaut (ELM-BM)

EDTRS Seg.	QAF [a.u.]	SD	Netzhautdicke ± SD [µm]	Korrelationskoeffizient	P Wert
0	147,1	± 53,3	91,1 ± 4,2	-0,212	0,308
1	238,7	± 67,0	82,8 ± 3,5	-0,27	0,191
2	219,5	± 64,3	82,2 ± 3,1	-0,139	0,508
3	213,8	± 62,8	83,2 ± 3,6	-0,248	0,232
4	224,1	± 64,1	80,6 ± 3	-0,357	0,08
5	308,4	± 84,9	79,0 ± 2,6	-0,123	0,559
6	297,0	± 82,0	79,6 ± 2,9	-0,179	0,393
7	274,2	± 70,8	79,0 ± 3,4	-0,293	0,155

8	271,9	± 68,9	77,4	± 2,8	-0,168	0,421
---	-------	--------	------	-------	--------	-------

Innere Netzhaut (ILM-ELM)

EDTRS Seg.	QAF [a.u.]	SD	Netzhautdicke ± SD [µm]	Korrelationskoeffizient	P Wert
0	147,1	± 53,3	188,6 ± 18,3	0,09	0,67
1	238,7	± 67,0	246,5 ± 12,8	-0,206	0,323
2	219,5	± 64,3	262,5 ± 16,9	-0,368	0,07
3	213,8	± 62,8	263,5 ± 17,4	-0,373	0,066
4	224,1	± 64,1	259,8 ± 15,7	-0,411	0,041
5	308,4	± 84,9	204,8 ± 14,8	-0,423	0,035
6	297,0	± 82,0	221,9 ± 17,7	-0,349	0,087
7	274,2	± 70,8	236,5 ± 20,7	-0,511	0,009
8	271,9	± 68,9	213,4 ± 18,7	-0,321	0,118

Tabelle 5. Korrelation zwischen Netzhautdicke und QAF im ETDRS Grid bei Patienten ohne

BEM. In Segmenten (Seg.) 4, 5, und 7 zeigte sich eine signifikante Korrelation zwischen QAF (a.u. = arbitrary units) und Netzhautdicke der gesamten und der inneren Netzhaut.

Gesamte Netzhautdicke (ILM-BM) [µm]

ETDRS Segment	ohne BEM	SD	mit BEM	SD	P Wert
0	279,7	± 18,1	199,0	± 31,5	< 0,001
1	329,3	± 16,3	238,0	± 14,7	< 0,001
2	344,7	± 18,4	266,8	± 15,6	< 0,001
3	346,7	± 19,0	265,5	± 22,6	< 0,001
4	340,3	± 16,9	254,5	± 16,3	< 0,001
5	283,8	± 16,1	217,5	± 27,3	< 0,001
6	301,6	± 18,5	268,8	± 13,5	= 0,002
7	315,5	± 22,2	255,0	± 15,8	< 0,001
8	290,8	± 20,0	232,5	± 27,1	< 0,001

Äußere Netzhaut (ELM-BM) [µm]

ETDRS Segment	ohne BEM	SD	mit BEM	SD	P Wert
0	91,1	± 4,2	54,3	± 22,5	< 0,001
1	82,8	± 3,5	32,3	± 8,8	< 0,001
2	82,2	± 3,1	53,3	± 7,6	< 0,001
3	83,2	± 3,6	39,8	± 18,0	< 0,001
4	80,6	± 3,0	33,8	± 11,7	< 0,001
5	79,0	± 2,6	49,8	± 16,5	< 0,001

6	79,6	± 2,9	71,3	± 2,2	< 0,001
7	79,0	± 3,4	60,3	± 9,6	< 0,001
8	77,4	± 2,8	61,7	± 9,7	< 0,001
Innere Netzhaut (ILM-ELM) [μm]					
ETDRS Segment	ohne BEM	SD	mit BEM	SD	P Wert
0	188,6	± 18,3	144,8	± 9,1	< 0,001
1	246,5	± 12,8	205,8	± 14,9	< 0,001
2	262,5	± 16,9	213,5	± 14,2	< 0,001
3	263,5	± 17,4	225,8	± 15,7	< 0,001
4	259,8	± 15,7	220,8	± 10,0	< 0,001
5	204,8	± 14,8	167,8	± 15,2	< 0,001
6	221,9	± 17,7	197,5	± 13,8	= 0,01
7	236,5	± 20,7	194,8	± 15,0	< 0,001
8	213,4	± 18,7	174,3	± 20,9	< 0,001

Tabelle 6. Netzhautdicken in Segmenten des ETDRS Grids bei Patienten ohne und mit BEM.

Gesamte, innere und äußere Netzhaut waren bei Patienten mit BEM signifikant dünner als bei Patienten ohne BEM. (SD: Standardabweichung)

3.3.3 Netzhautdicken und QAF im fovealen Schnitt

Mittels FIJI Plug-In (Annotate LRP XML) konnten, wie in Abbildung 6 dargestellt, die Netzhautdicken im fovealen Schnitt an 11 Punkten mit definierten Abständen zur Fovea bestimmt werden. In Abbildung 16 sind die Dicken der gesamten (ILM-RPE), äußeren (ELM-RPE) und inneren (ILM-ELM) Netzhaut, sowie die QAF Werte dargestellt. Es zeigte sich eine deutliche Reduktion der Netzhautdicke bei Patienten mit BEM (rot). Dies war insbesondere für die äußere Netzhaut zu beobachten.

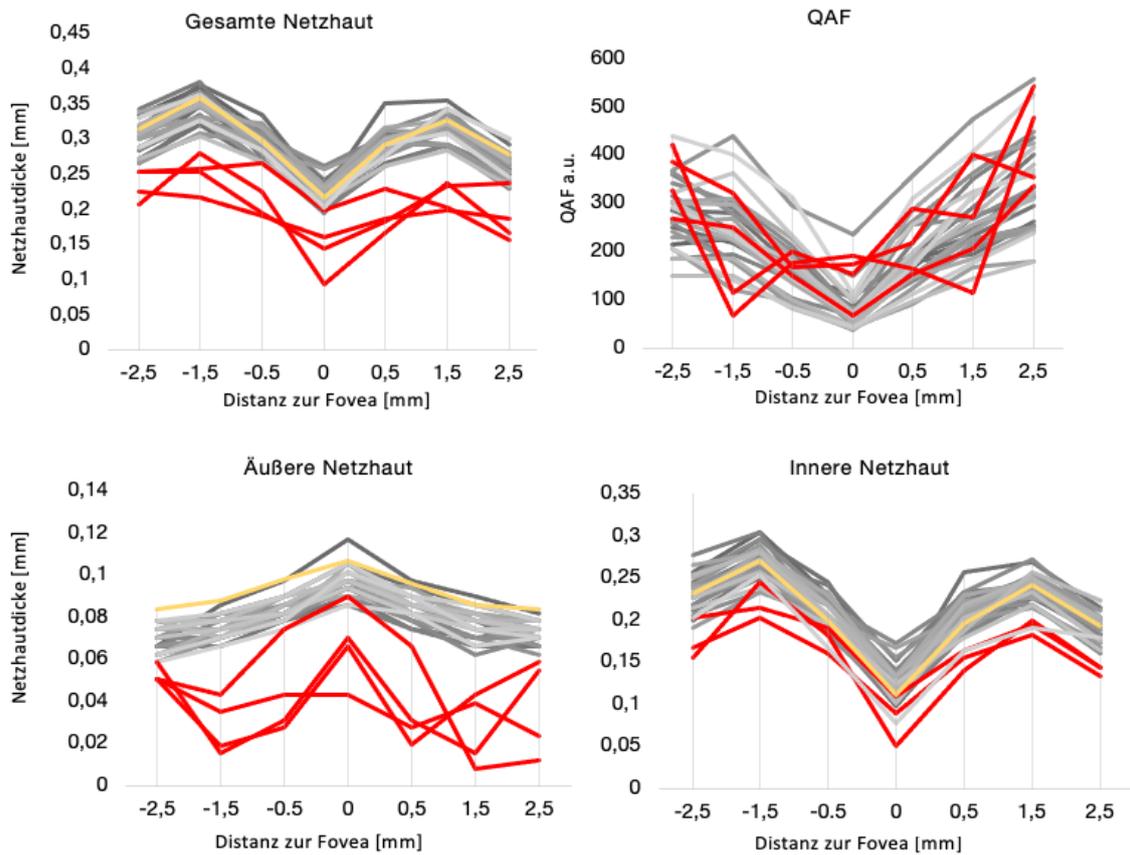


Abb. 16. Netzhautdicken und QAF im fovealen, horizontalen Schnitt. Patienten ohne BEM sind grau dargestellt, mit BEM rot, der Mittelwert der Kontrollgruppen gelb. Es zeigten sich geringere Netzhautdicken der Patienten mit BEM, dies ist besonders auf den Strukturverlust der äußeren Netzhaut zurückzuführen. Der Dickenverlust der inneren Netzhaut zeigte sich vergleichsweise gering. QAF der Patienten mit BEM war besonders in der Peripherie (-/+ 2,5) und foveal hoch. In zwei Fällen waren geringere QAF Werte der Parafovea (+/- 1,5) zu beobachten.

4 Diskussion

Diese Arbeit untersucht erstmals quantitative Fundusautofluoreszenz bei Patienten unter CQ/HCQ Therapie und befasst sich mit der Frage, ob die QAF ein mögliches Screening Tool in der Früherkennung retinaler Veränderungen bei Patienten unter systemischer CQ/HCQ Therapie darstellt. Es konnte gezeigt werden, dass die Patienten unter aktueller oder stattgehabter CQ/HCQ Therapie höhere QAF Werte aufweisen, als gesunde, alters- und geschlechterentsprechende Kontrollpatienten ohne Therapie. Diese höheren QAF Werte korrelierten mäßig und nicht in allen Segmenten mit der Netzhautdicke. Bereits nach kurzer Einnahmedauer zeigten sich erhöhte QAF Werte verglichen zur Kontrollgruppe, sodass die aktuellen Daten noch keine Aussage über die QAF als Screening Methode in der Entwicklung einer BEM zulassen. Vielmehr kann sie als Biomarker der tatsächlichen CQ/HCQ Einnahme genutzt werden. Für die weitere Evaluation der Entwicklung der QAF bei Patienten mit CQ/HCQ Therapie ist die Weiterführung der Studie mit regelmäßigen Folgeuntersuchungen nötig.

4.1 Screening Untersuchungen und Methodik

Die Entwicklung einer Makulopathie durch die Einnahme von CQ/HCQ ist eine bekannte Nebenwirkung, die mit steigender Einnahmedauer häufiger auftritt und nach 20 Jahren Einnahmedauer bis zu 20% der Patienten betrifft (Melles & Marmor 2014). Die Folgen einer fortgeschrittenen Makulopathie stellen für den Patienten durch den irreversiblen Visusverlust eine gravierende Nebenwirkung dar. In der Langzeittherapie werden diese Medikamente bei Erkrankungen des rheumatologischen Formenkreises angewandt, es wird aber auch über die Erweiterung des Einsatzgebiets von CQ/HCQ als antineoplastische Therapie, bei Diabetes Mellitus, Herz-Kreislauf Erkrankungen und antivirale Effekte diskutiert (Al-Bari 2015, Plantone & Koudriavtseva 2018, Shippey et al 2018). Ein weiterer großer Vorteil ist die unbedenkliche Anwendung auch in der Schwangerschaft

(Plantone & Koudriavtseva 2018). Während der ersten Phase der Coronapandemie wurde kontrovers über CQ und HCQ als antivirale Substanz in der Therapie von COVID-19 debattiert (Gao et al 2020, Touret & de Lamballerie 2020). Durch diese Entwicklungen kam es zu einer drastisch steigenden Zahl von Patienten unter CQ- und HCQ-Therapie (Vaduganathan et al 2020), was bei lang andauernder Einnahme zu mehr Patienten mit Risiko zur Entwicklung einer CQ/HCQ induzierten Makulopathie führt (Ruamviboonsuk et al 2020).

Regelmäßige Screening Untersuchungen sind zur frühzeitigen Entdeckung von Nebenwirkungen essentiell und sollten dem Patienten immer angeboten werden. Dabei sollten die Empfehlungen der AAO mit Durchführung struktureller und funktioneller Tests eingehalten werden (Marmor et al 2016).

Zu diesen Screening Untersuchungen gehört unter anderem die Durchführung der FAF. Diese wurde in den letzten Jahren zur QAF weiterentwickelt, welche eine interne Referenz nutzt, um Autofluoreszenzsignale zu quantifizieren (Delori et al 2011). Seitdem wurden multiple Studien an gesunden und erkrankten Augen mittels QAF durchgeführt (Duncker et al 2014, Greenberg et al 2013, Sparrow et al 2020, Sparrow et al 2016).

4.2 QAF bei Patienten unter CQ/HCQ Therapie

4.2.1 Erhöhter QAF Werte unter CQ/HCQ Therapie und mögliche Ursachen

Diese Arbeit zeigt für Patienten unter CQ/HCQ Therapie bis 67 Jahren aber auch für die Patientengruppe bis 60 Jahren signifikant höherer QAF Werte im Vergleich zur alters- und geschlechteradaptierten Normalgruppe.

Dies war unabhängig von der Auswertungsmethode der angewendeten Grids (QAF8 oder QAF97 Grid). Durch Korrelation der Patienten unter CQ/HCQ Therapie mit altersähnlichen Kontrollpatienten ließ sich eine erhöhte QAF bereits nach kurzer Einnahmedauer von CQ/HCQ beobachten (siehe Abbildung 13). Für

erhöhte Autofluoreszenz bei Patienten unter CQ/HCQ Therapie lassen sich verschiedene Ursachen diskutieren.

Die erhöhte Autofluoreszenz könnte auf Ablagerungen von CQ/HCQ oder deren Metaboliten zurückzuführen sein, welche direkt selber fluoreszieren (Sauer et al 2019). In Tierexperimenten konnte gezeigt werden, dass sich CQ/HCQ in pigmentierten Geweben des Auges ablagert. Betroffen sind insbesondere RPE, Iris und Choroidea, während nicht pigmentierte Zellen weniger und Zellen von Albino Ratten weniger bis keine Ablagerungen aufweisen (Bernstein et al 1963, Gleiser et al 1969, McChesney 1983). Diese Ablagerungen konnten auch nach Absetzen der Medikamente nachgewiesen werden (Bernstein et al 1963, Rosenthal et al 1978). Ebenso kann CQ Jahre nach der letzten Einnahme bei Patienten mit BEM in Blut und Urin nachgewiesen werden (RUBIN et al 1963). Diese Ergebnisse sind vereinbar mit den weiterhin erhöhten QAF Werten nach Absetzen von CQ/HCQ. Ein weiteres unterstützendes Argument hierfür ist, dass die QAF in dem gemessenen Bereich gleichmäßig erhöht ist und dabei das typische Autofluoreszenzmuster mit niedriger Intensität foveal sowie hoher Intensität parafoveal, insbesondere superotemporal erhalten bleibt. In tierexperimentellen Studien an Hasen zeigten sich CQ Ablagerungen bereits nach einmaliger intravenöser Injektion und ließen sich noch einen Monat später nachweisen (Bernstein et al 1963). Auch beim Menschen war CQ/HCQ nach einmaliger oraler oder intravenöser Verabreichung über Wochen in Urin und Plasma nachweisbar (Gustafsson et al 1983). Diese Erkenntnisse liefern eine mögliche Erklärung für die erhöhten QAF Werte nach kurzer Einnahmedauer, wie sie bei unserer Patientengruppe zu finden sind (siehe Abbildung 13).

Erhöhte QAF Werte bei Patienten unter CQ/HCQ Therapie könnten ebenfalls auf erhöhten Metabolismus in der äußeren Netzhaut zurückzuführen sein. RPE Zellen sind physiologischerweise in engem Kontakt mit Zapfen und Stäbchen. Sie bauen unter anderem die Fotorezeptor Außensegmente ab und akkumulieren nicht abbaubares Lipofuszin (Katz & Robison Jr 2002, Kevany &

Palczewski 2010). Lipofuszingranula beinhalten eine Reihe Fluorophore (Sparrow et al 2012), welche sich mittels QAF durch ihre Möglichkeit zur Emission darstellen lassen (Delori et al 2011). Die normale Verteilung der FAF folgt eher dem Verteilungsmuster der Stäbchen (Curcio et al 1993, Delori et al 2001), obwohl auch die Zapfen zum FAF Signal beitragen. Die erhöhten QAF Werte über die gesamte gemessene Fläche des hinteren Augenpols weist auf eine Beteiligung sowohl der Stäbchen als auch der Zapfen hin.

Auch in Tierexperimenten ließen sich Veränderungen der Stäbchen und Zapfen durch die Einnahme von CQ nachweisen (Wetterholm & Winter 1964). Diese können zu einer Verkürzung der Fotorezeptor-Außensegmente führen. Durch die damit verbundene verminderte Absorption des Lichtes (durch einen veränderten Photopigmentanteil in den Fotorezeptoren) kann dies schließlich in erhöhter Autofluoreszenz enden (Freund et al 2013).

Bei Patienten mit Retinitis Pigmentosa wurden erhöhte QAF Werte innerhalb der Ringe, welche sich durch eine sichtbar erhöhte Autofluoreszenz abgrenzen, festgestellt. Dies konnte jedoch nicht bei allen Patienten mit Retinitis Pigmentosa, trotz sichtbaren Veränderungen der äußeren Netzhaut, in der SD-OCT festgestellt werden. Deswegen gehen die Autoren nicht davon aus, dass Strukturverlust der äußeren Retina durch oben beschriebenen Mechanismus von fehlender Absorption durch die Neuroretina zwingend zu erhöhter Autofluoreszenz führt (Jorge et al 2018). Vielmehr vermuten Schuerch und Kollegen, dass der Untergang der Photorezeptoren selbst zu vermehrter Bildung von Lipofuszin und so zu erhöhter Autofluoreszenz führt (Schuerch et al 2017).

In Studien zur akuten zonalen okkulten äußeren Retinopathie (AZOOR) konnte gezeigt werden, dass QAF Werte an den Stellen erhöht sind, an denen in der SD-OCT Läsionen der äußeren Netzhaut, insbesondere der ellipsoiden Zone zu erkennen sind (Boudreault et al 2017).

Auch bei unseren Patienten mit BEM nach CQ/HCQ-Therapie ergab sich bei voller Ausprägung ein hyperautofluoreszenter Ring um die Makulopathie.

Durch das exakte Übereinanderlegen von SD-OCT und Fundusaufnahmen mittels FIJI Plug-In zeigte sich, dass dieser hyperautofluoreszente Ring ebenfalls mit dem Rückgang der äußeren retinalen Bänder („ellipsoide zone“ und „interdigitation zone“) zusammenfällt. Allerdings konnten wir keine signifikante Reduktion der Dicke der äußeren Netzhaut in der SD-OCT bei den Patienten unter CQ/HCQ Therapie mit erhöhter QAF, außer bei Patienten mit BEM, nachweisen oder diese mit zunehmender Autofluoreszenz korrelieren.

Eine weitere Erklärung für die erhöhte Autofluoreszenz bei Patienten unter CQ/HCQ Therapie ist die bereits beschriebene Eigenschaft der Medikamente, den lysosomalen pH im RPE anzuheben und die Autophagie zu beeinflussen (Yoon et al 2010). Dies könnte durch verminderten Abbau zu vermehrter Akkumulation von Lipofuszin führen (Jorge et al 2018) und so zu erhöhter Autofluoreszenz über den gesamten posterioren Pol. Dies könnte auch bei Patienten ohne Makulopathie die erhöhten QAF Werte von der Parafovea bis in die Perifovea erklären.

Weiterhin kann nicht geklärt werden, wieso Fotorezeptoren und RPE im Rahmen der BEM so stark betroffen sind und welche Schicht initial für die Veränderungen verantwortlich ist. Das Muster der BEM mit Beginn der strukturellen Veränderungen in der Parafovea könnte in Verbindung mit der Verteilung der Photorezeptoren stehen - mit einer hohen Stäbchendichte 3 bis 5 mm um die Fovea (Curcio et al 1990), ähnlich dem zirkulären BEM Ring. Dies liefert allerdings keine Erklärung für die erhöhten QAF Werte auch außerhalb der Atrophiezone der BEM über den gesamten posterioren Pol bei Patienten mit BEM.

4.2.2 QAF bei Patienten mit Bull's-eye-Makulopathie

Sehr eindrücklich zeigt sich das Bild der BEM in den farbcodierten QAF Aufnahmen (siehe Abbildung 14). Die zentralen hypoautofluoreszierenden Areale um die Fovea entstehen durch den Strukturverlust der äußeren

Netzhautschichten, insbesondere des RPEs (Kellner et al 2008, Marmor 2012). Diese Atrophie ist im fortgeschrittenen Stadium häufig bereits funduskopisch sichtbar. In der QAF Aufnahme zeigten sich folglich bei Patienten mit BEM parafoveal erniedrigte QAF Werte. Durch die QAF kann dies nun erstmals quantifiziert werden, aufgrund der offensichtlichen Hypoautofluoreszenz in der FAF488 Aufnahme war dieses Ergebnis zu erwarten.

Betrachtet man die fovealen QAF Werte der Patienten mit BEM, unterschieden sich diese nicht signifikant mit den Kontrollen. Auch dies steht in Einklang mit den Beobachtungen, dass die BEM die Fovea ausspart, sodass zentrales Sehen vorerst nicht eingeschränkt ist.

Interessanter wird es bei Analyse der QAF bei Patienten mit BEM in der Perifovea außerhalb der Atrophiezone, welche sich in den konventionellen, multimodalen Bildgebungen darstellt. Hier ergaben sich in der Arbeit, je nach Patientenkollektiv, unterschiedliche Aussagen. Inkludiert man Patienten bis 67 Jahre waren die QAF8 Werte für Patienten mit BEM signifikant höher verglichen zur altersadaptierten Kontrollgruppe ($p=0,033$, siehe Tabelle 3), bei Patienten unter dem sechzigsten Lebensjahr konnte diese Signifikanz nicht mehr nachgewiesen werden. Ursächlich dafür könnte die zu geringe Anzahl der Patienten mit BEM sein, ebenso wie die unterschiedliche Zusammensetzung der Kontrollgruppen, welches in den Limitationen ausführlicher diskutiert wird. Die QAF97 Werte waren bei Patienten mit BEM unabhängig vom Alter nicht signifikant im Vergleich zur Kontrollgruppe erhöht. Dies lässt sich durch die unterschiedliche Größe des Grids erklären (siehe Abbildung 8). Das QAF97 Grid bildet einen größeren Anteil der hypoautofluoreszierenden Makulopathie mit ab und führt so im Mittel zu geringeren QAF97 Werten, verglichen zu QAF8 (geringere und nicht signifikante Korrelation $r_s=0,7$ ($p=0,188$) von QAF8 und QAF97 bei Patienten mit BEM).

4.2.3 Entwicklung der QAF im Alter

Wie bereits in einigen Studien zur QAF berichtet (Greenberg et al 2013, Kleefeldt et al 2020, Wang et al 2019), stieg auch bei den Patienten unter CQ/HCQ Einnahme die QAF mit dem Alter (siehe Abbildung 9).

Dies lässt sich auf eine Akkumulation von Lipofuszin zurückführen, wie sie auch bei Gesunden zu beobachten ist (Feeney 1978, Feeney-Burns et al 1984, Greenberg et al 2013, Kleefeldt et al 2020, Wing et al 1978). Mit dem Alter steigende QAF Werte werden in unterschiedlichen Studien bis zu einer bestimmten Altersgrenze beobachtet. Kleefeldt schließt Patienten bis zur achten Dekade mit ein und berichtet für gesunde Patienten eine Zunahme der QAF bis zur vierten Dekade mit anschließenden Plateau für die vierte und fünfte Dekade und darauf folgenden Anstieg der QAF ab der sechsten Dekade (Kleefeldt et al 2020). Diese Ergebnisse decken sich mit histologischen Untersuchungen, bei denen eine Zunahme von Lipofuszin im RPE in den ersten Lebensdekaden und ab der fünften Lebensdekade zu beobachten ist (Feeney-Burns et al 1984, Wing et al 1978). In einer weiteren Studie zur Auswirkung von Tabakkonsum auf die QAF werden ebenfalls Probanden bis 78 Jahre eingeschlossen. Hier ist ein Abflachen der Trendlinie im Zusammenhang von steigender QAF und steigenden Alter zu erkennen (Wang et al 2019). In der Arbeit von Greenberg werden Patienten nur bis zum sechzigsten Lebensjahr eingeschlossen, um den Effekt der altersbedingten Veränderungen der Dichte der optischen Medien zu verringern (Greenberg et al 2013), da eine erhöhte Dichte bei beginnender Katarakt die QAF verringert. Delori berichtet von steigender Lipofuszin autofluoreszenz bis zum siebzigsten Lebensjahr mit anschließender Abnahme der Fluoreszenz (Delori et al 2001). Ebenfalls wird in histologischen Studien eine Abnahme von Lipofuszin in den RPE Zellen bei älteren AMD Patienten beschrieben (Ach et al 2015).

Es wird darüber diskutiert, wie aussagekräftig die QAF bei Patienten über 60 Jahren ist und ob ein Abfall der QAF bei Patienten in diesem Alter eine

physiologische Abnahme der Lipofuszin autofluoreszenz darstellt, oder durch eine Dichtezunahme optischer Medien im Rahmen einer Katarakt bedingt ist. Die in dieser Studie eingeschlossenen Probanden zeigten in der klinischen Untersuchung keine Anzeichen einer Dichtezunahme der optischen Medien. Im Gegensatz zur oben beschriebenen Beobachtung einer erneuten Zunahme der QAF bei gesunden Patienten ab dem sechzigsten Lebensjahr (Kleefeldt et al 2020) zeigt sich bei den untersuchten Probanden ein minimaler Abfall der QAF ab dem sechzigsten Lebensjahr. Ob dies allerdings nur auf das Alter zurückzuführen ist oder auch im Zusammenhang mit der bei höherem Alter größeren kumulativen Dosis von CQ/HCQ steht, lässt sich nicht differenzieren.

In unterschiedlichen Studien zu QAF wird die Ungewissheit der Entwicklung der QAF im Alter thematisiert. In einer Studie zur Wiederholbarkeit der QAF bei Patienten mit AMD wurden ältere Patienten eingeschlossen (Reiter et al 2019). Hier wurden die QAF Werte allerdings nicht mit gesunden Probanden verglichen. Es zeigt sich lediglich, dass die Wiederholbarkeit unabhängig vom Alter und Vorliegen einer Katarakt gut ist. In weiteren Studien wird die diskutierte Altersgrenze von 60 Jahren teilweise überschritten und die QAF zu gesunden Probanden verglichen. Gliem und Schuerch schließen in ihren Studien Patienten bis zum 65ten beziehungsweise 64ten Lebensjahr mit ein (Gliem et al 2017, Schuerch et al 2017). Andere Studien schließen Patienten über 60 Jahre aus (Duncker et al 2015, Greenstein et al 2020).

Ab welchem Alter die Aussagekraft der QAF limitiert ist, lässt sich endgültig noch nicht sagen. Möglicherweise könnte in Zukunft eine exakte Messung der Dichte der optischen Medien in die Berechnung der QAF mit einbezogen werden und so die Aussagekraft verbessert werden (Reiter et al 2019).

4.2.4 Vorteile der Auswertung mittels QAF97 Grid

Für die Auswertung und Berechnung der QAF ist ein genaues Wissen über Auswertung und Analysemöglichkeiten essentiell. Das herkömmliche Delori Grid mit Berechnung der QAF8 (Burke et al 2014, Gliem et al 2016) bildete die Makulopathie nicht komplett ab (siehe Abbildung 8). Die Anwendung des QAF97-Grids ermöglicht hingegen einerseits weitere Subanalysen auch kleinerer Segmente (Kleefeldt et al 2020), andererseits das Berechnen der QAF97, welche einen größeren Bereich verglichen zur QAF8 abdeckt. In den hier untersuchten Patienten waren sich jedoch QAF8 und QAF97 Werte sehr ähnlich ($r_s=0,9$; $p<0,0001$). Dies galt allerdings nur für die Patienten ohne strukturelle Veränderungen. Da das QAF97 Grid die Makulopathie besser abbildet (siehe Abbildung 8) wurde die QAF auch an Stellen der, durch die BEM bedingten, hypoautofluoreszenten Atrophie berechnet. Dies führte bei Patienten mit BEM zu geringeren QAF Werten der QAF97, verglichen zu QAF8. Im Gegensatz zu den Patienten ohne BEM zeigt sich keine signifikante Korrelation zwischen QAF8 und QAF97 ($r_s=0,7$; $p=0,188$).

Ein weiterer Vorteil der Auswertung mittels QAF97 war die einfache Berechnung der Segmente mit höchster QAF für einzelne Subgruppen. Bereits bekannt war, dass die QAF superotemporal am höchsten ist (Delori et al 2011, Greenberg et al 2013). Wahrscheinlich ist dies teilweise auf Verteilung der Photorezeptoren zurückzuführen, welche eine höhere Dichte an Stäbchen in der Perifovea aufweist (Curcio et al 1990, Delori et al 2001). Hohe QAF Werte im superotemporalen Bereich konnten in dieser Studie bei den Patienten ohne Makulopathie bestätigt werden, welches unter anderem als Qualitätskriterium der Aufnahmen inklusive guter Ausleuchtung des Fundus gesehen werden kann.

Bei den Patienten ohne Makulopathie fiel jedoch auf, dass die Segmente mit hoher QAF teilweise weiter peripher des Bereichs liegen, welcher in der QAF8 abgebildet wird. Dies unterstreicht die Bedeutung des QAF97 Grids und wird ebenfalls für gesunde Patienten ohne CQ/HCQ Einnahme beschrieben (Kleefeldt

et al 2020). Werden die Patienten über 60 Jahren in diese Auswertung eingeschlossen, fielen Segmente mit hohen QAF Werten weiter peripher auf. Dies stimmt mit den Beobachtungen von Kleefeldt et al. überein, bei denen die Segmente höchster QAF Intensität mit steigendem Alter nach peripher wandern.

Bei den Patienten mit Makulopathie ergab sich im Vergleich zu Patienten ohne Makulopathie eine Verschiebung der Segmente mit hoher QAF Intensität nach zentral und temporal. Dies könnte auf den hyperautofluoreszierenden Ring um die Makulopathie zurückzuführen sein. Dieser wurde bereits in herkömmlichen FAF Aufnahmen (Kellner et al 2008) beschrieben und ist ebenso gut in den farbkodierten QAF Aufnahmen erkennbar.

4.3 Stellenwert der SD-OCT

Die SD-OCT wird als eine wichtige Screening-Methode in der Erkennung CQ/HCQ-induzierter Veränderungen eingeschätzt (Cukras et al 2015) und aktuell von Jauregui und Kollegen als wichtigstes, sowie der FAF und NIA überlegenes diagnostisches Mittel beschrieben (Jauregui et al 2020). Als erste, sichtbare Veränderungen werden insbesondere strukturelle Alterationen in der äußeren Netzhaut beschrieben. Es werden Verlust der äußeren Körnerschicht, der inneren („ellipsoide zone“) und äußeren („interdigitation zone“) Segmente der Photorezeptoren sowie im fortgeschrittenen Stadium des RPEs berichtet (Jauregui et al 2020, Kellner et al 2009, Rodriguez-Padilla et al 2007, Stepien et al 2009), welche auch bei den hier untersuchten Patienten zu erkennen waren (siehe Abbildung 15). Kontrovers diskutiert wird eine Beteiligung der inneren Netzhautschichten, insbesondere eine messbare Dickenreduktion der Nervenfaserschichtdicke (RNFL) (Bonanomi et al 2006, Pasadhika & Fishman 2010).

Bei den hier untersuchten Probanden ohne Makulopathie konnte weder eine signifikant messbare Reduktion der Dicke der gesamten, inneren oder äußeren Netzhaut an 11 Punkten in der horizontalen fovealen Ebenen gefunden

werden (Reichel et al 2020). Für die Korrelation der Dicke der gesamten Netzhaut in der SD-OCT mit den QAF Werten im ETDRS Grid fielen mäßig signifikante Korrelationen für einzelne Segmente auf. Diese Korrelation war auf die innere Netzhaut zurückzuführen, für die äußere Netzhaut zeigten sich keine signifikanten Korrelationen. Allerdings bezog sich diese Berechnung nur auf die jeweiligen Netzhautdicken und die QAF. Entscheidende Faktoren, wie das Patientenalter, welches die QAF Werte beeinflusst, waren hier nicht mit einbezogen. Ebenfalls zeigte sich diese Korrelation nicht in allen Segmenten und nur in mäßiger Stärke, sodass hier keine definitive Aussage getroffen werden kann.

Bei den Patienten mit BEM hingegen waren die typischen Veränderungen sichtbar. Drei der fünf Patienten zeigten ein „flying saucer“ Zeichen (Brown et al 2010), hier war die foveale Struktur noch erhalten, während sich paravofeal der Verlust der äußeren Netzhautschichten erkennen ließ. Bei zwei weiteren Patienten mit BEM war auch die foveale Struktur nicht mehr erhalten. Bei allen fünf Patienten war eine signifikante Reduktion der Netzhautdicke in allen Segmenten des ETDRS Grids messbar.

Die Bildgebung mittels SD-OCT ist eine wichtige Screeninguntersuchung in der Erkennung von CQ/HCCQ induzierten Netzhautschäden. Bei den Studienpatienten ohne BEM konnten wir keine Veränderungen zur Normalgruppe und keine Korrelation der Netzhautdicke zu erhöhten oder verminderten QAF Werten nachweisen.

4.4 Zusammensetzung der Studienpopulation

Die Zusammensetzung der Studienpopulation ist vergleichbar mit anderen Studien zu CQ/HCCQ induzierten Makulopathien.

CQ/HCCQ gehören zur Gruppe der DMARDs (disease modifying anti-rheumatic drugs) in der Behandlung der rheumatoiden Arthritis. Epidemiologisch sind Frauen von rheumatoider Arthritis deutlich häufiger betroffen als Männer

(2:1 bis 3:1) (Alamanos & Drosos 2005). Ähnliche Geschlechterverteilungen werden für den systemischen Lupus erythematoses berichtet (Stojan & Petri 2018), auch hier spielen CQ und HCQ eine Rolle in der medikamentösen Therapie. Folglich werden CQ und HCQ vor allem Frauen verschrieben. Dies spiegelt sich in der Geschlechterverteilung in der hier untersuchten Patientenkohorte (93% Frauen) wider. Da von Frauen höhere QAF Werte berichtet werden (Greenberg et al 2013), wurde die Kontrollgruppe geschlechterentsprechend angepasst. Mit einer Studienteilnehmerzahl von 38 eingeschlossenen Probandinnen und Probanden bewegt sich die Fallzahl der Arbeit im Bereich vergleichbarer Studien (Cakir et al 2019, Garrity et al 2019, Jauregui et al 2020).

Es fällt auf, dass die Patienten mit retinalen Veränderungen durch die Medikamenteneinnahme ausschließlich CQ eingenommen haben. Es wird davon ausgegangen, dass CQ häufiger zur Entwicklung einer BEM führt, weshalb heutzutage vor allem HCQ verschrieben wird (Finbloom et al 1985). In dieser Arbeit wurden die Einnahmen von HCQ und CQ gleichgesetzt und bei Einnahme beider Medikamente im Therapieverlauf die kumulativen Dosen addiert. Es ist allerdings unklar, ob die Effekte von CQ und HCQ auf die QAF tatsächlich identisch sind. Die Stichprobe von 5 Patienten, respektive 4 Patienten bei der Gruppe bis 60 Jahre, ist klein und weicht stark von der Gruppengröße der Patienten unter CQ/HCQ Therapie ohne Makulopathie ab. Eine größerer Patientenkohorte wäre für aussagekräftige Ergebnisse wichtig, welches ausführlicher im Abschnitt der Limitationen diskutiert wird.

4.5 Limitationen der Studie

4.5.1 Limitationen der Methodik

Die QAF ist weiterhin eine experimentelle Aufnahmetechnik und wird noch nicht in der klinischen Routine angewendet. Die Aufnahmen sind stark abhängig von klaren optischen Medien und guter Aufnahmequalität. Fehler können

allerdings durch einen geschulten und geübten Untersucher minimiert werden (alle Aufnahmen dieser Studie wurden von einem erfahrenen Untersucher angefertigt). Dazu kann die Wiederholbarkeit berechnet werden. Die Variabilität der QAF liegt in unterschiedlichen Studien zwischen 6-11 % (Delori et al 2011, Duncker et al 2014, Reiter et al 2019). Für die Kohorte, aus der die Kontrollgruppe ausgewählt wurde, lag sie bei 8% (Kleefeldt et al 2020). Für die CQ/HCQ Patientengruppe ergab sich für eine kleine Untergruppe von 5 der 25 gesunden Patienten bis 60 Jahre eine Variabilität von 7%.

Eine weitere Limitation der Methodik ist die Erfragung von kumulativer Dosis/Einnahmedauer und Begleiterkrankungen durch den Patienten. Die kumulative Dosis wurde durch die vom Patienten erfragte Einnahmedauer und Dosierung berechnet. Insbesondere bei Patienten mit langer Einnahmedauer und folglich schlechterer Erinnerung an den Beginn und mögliche Unterbrechung der Therapie kann so die berechnete kumulative Dosis von der tatsächlichen kumulativen Dosis abweichen. Ebenfalls wurden Begleiterkrankungen der Leber und Niere, welche den Metabolismus der Medikamente betreffen, lediglich anamnestisch erfasst. Es erfolgte keine Blutabnahme oder Erfassen ältere Blutwerte zur genauen Einschätzung der Leber und Nierenfunktion.

4.5.2 Limitationen in der untersuchten Studienpopulation

Die Stichprobe von 5 Patienten mit BEM, respektive 4 Patienten bei der Gruppe bis 60 Jahre, war klein und weicht stark von der Gruppengröße der Patienten unter CQ/HCQ Therapie ohne Makulopathie ab.

Durch diese geringe Anzahl von Patienten mit BEM ergaben sich teilweise widersprüchliche, nicht aussagekräftige Ergebnisse. Für die Signifikanzberechnungen der QAF bei Patienten mit BEM wurde die Kontrollgruppe altersentsprechend angepasst, sodass für die QAF Werte der Patienten mit BEM unter und über 60 Jahren mit unterschiedlichen

Kontrollgruppen verglichen wurden. Hierfür ergaben sich bei den über 60-Jährigen mit BEM signifikant höhere QAF Werte, bei den bis 60-Jährigen war dies nicht der Fall. Für aussagekräftigere Ergebnisse wäre für die Patienten mit BEM eine größere Fallgruppe und Kontrollgruppe notwendig.

Betrachtet man allerdings andere Studien zur CQ/HCQ Makulopathie, ist der Anteil der Patienten mit BEM ähnlich niedrig, verglichen mit der Gesamtzahl der Probanden (Greenstein et al 2020, Maturi et al 1999, Missner & Kellner 2012, Pasadhika & Fishman 2010, Penrose et al 2003).

Eine weitere Limitation der Studie ist, dass die Patienten unter CQ/HCQ Therapie aufgrund einer rheumatologischen Erkrankung lediglich gegen gesunde Probanden ohne jegliche rheumatologische Vorerkrankung verglichen wurden. So konnte ein möglicher Effekt der rheumatologischen Grunderkrankung auf die Autofluoreszenz nicht weiter untersucht werden.

Bei den Patienten mit BEM ergaben sich keine Hinweise auf eine andere Genese der Makulopathie. Allerdings wurden sie nicht auf genetische Variationen des ABCA4 Gens untersucht. Das Vorhandensein solcher Variationen wird je nach Ausprägung mit erhöhten Risiko (Shroyer et al 2001) oder geringerem Risiko (Grassmann et al 2015) zur Entwicklung einer CQ/HCQ Makulopathie diskutiert. Aktuell wird dieser Zusammenhang in klinischen Studien weiter untersucht und ist daher nicht abschließend geklärt (Greenstein et al 2020).

Des Weiteren wurden Patienten eingeschlossen, die aktuell unter Therapie mit CQ/HCQ sind, als auch Patienten, welche die Therapie mit CQ/HCQ aufgrund der Entwicklung einer BEM oder Therapieumstellung der rheumatologischen Erkrankung bereits beendet haben. Auffällig ist, dass die QAF bei diesen Patienten ebenfalls erhöht war, unabhängig dem Vorliegen einer BEM. Für Patienten mit BEM wird ein Fortschreiten der Makulopathie nach dem Absetzen von CQ/HCQ berichtet (Kellner et al 2014, Marmor & Hu 2014, Michaelides et al 2011). Um eine Aussage darüber zu treffen, wie sich die QAF

bei Patienten mit und ohne BEM nach Absetzen der Medikamente entwickelt, sind weitere Follow-Up Untersuchungen notwendig.

4.6 Ausblick

Aktuell werden neue, experimentelle Methoden untersucht, um Veränderungen durch die Einnahme von CQ und HCQ früher zu erkennen. Dazu gehört die QAF, welche neben dieser Arbeit auch in einer weiteren Studie an Patienten unter CQ/HCQ Therapie erprobt wurde (Greenstein et al 2020). Greenstein beschreibt im Bezug zur Normalgruppe QAF Werte der Patienten unter CQ/HQ Therapie sowohl mit als auch ohne BEM im 95% Konfidenzintervall der Normalgruppe. Vielmehr fällt eine Umverteilung der Regionen mit höchster Intensität bei Patienten mit BEM nach inferior, nasal und temporal der Fovea auf. Sie empfiehlt in Zukunft ein größeres Augenmerk auf Unterschiede zwischen dem superioren und inferioren Bereich bei Entwicklung einer BEM zu legen.

Eine weitere neue Bildgebung der Fundusautofluoreszenz ist die „Fluorescence lifetime imaging ophthalmoscopy“ (FLIO), welche *in vivo* Intensität und Metabolismus von Fluorophoren darstellt. Hier zeigen sich auch bei einigen Patienten ohne strukturelle Veränderungen in den herkömmlichen Screening Untersuchungen verlängerte Lebenszeiten retinaler Fluorophore „FLIO lifetimes“ (Sauer et al 2019). Die Lebenszeit eines Fluorophors (zum Beispiel Lipofuszin) ist die Zeit, in der sich das Fluorophor in einem angeregten Zustand befindet, bevor es durch die Abgabe eines Photons in den Ausgangsstatus zurückkehrt (Dysli et al 2017). Solberg konnte diese Verlängerung der FLIO bei Patienten unter CQ/HCQ Therapie ohne weitere strukturelle Veränderung nicht finden, berichtet aber von lokaler Veränderung der FLIO Lifetime bei nur geringem Verlust der äußeren Körnerschicht in der SD-OCT und ohne Nachweis von Änderungen in der FAF (Solberg et al 2019).

Zur frühzeitigen Erkennung werden aktuell aber nicht nur neue Bildgebungsverfahren erprobt. Petri und Kollegen untersuchten an einer großen

Kohorte von Patienten mit systemischem Lupus erythematoses unter HCQ-Therapie den Einfluss des Medikamentenspiegels im Blut als Risikofaktor zur Entwicklung einer BEM. Sie postulieren, dass hohe Medikamentenspiegel im Blut zu einer Entwicklung einer Makulopathie im späteren Verlauf führen können und empfehlen regelmäßige Spiegelkontrollen, um bei Patienten mit hohem Medikamentenspiegel im Blut gegebenenfalls die Dosis zu reduzieren oder häufigere augenärztliche Kontrollen zu initiieren (Petri et al 2020).

Weiterhin gibt es Patienten unter CQ/HCQ Therapie, die trotz regelmäßigen Screeninguntersuchungen irreversible Schäden durch die Medikamente erleiden. Um diesen Patienten zu helfen, werden verschiedene neuartige Screening Tools wie die QAF oder FLIO getestet, um die Veränderungen frühzeitig erkennen und um Patienten mit hohem Risiko detektieren zu können. Derzeit lässt sich leider noch keine Aussage darüber treffen, wie sensitiv und valide neue Aufnahmetechniken in der Entdeckung früher Veränderungen durch CQ/HCQ sind. Hierzu bedarf es weiterer Studien und Verlaufsbeobachtungen. Für die weitere Evaluation der QAF als Screeningmethode bei Patienten unter CQ/HCQ Therapie ist die Weiterführung der Studie mit regelmäßigen Folgeuntersuchungen nötig.

5 Zusammenfassung

Ziel dieser Arbeit war es, den Einfluss von CQ- und HCQ-Einnahme auf die quantitative Fundusautofluoreszenz (QAF) zu untersuchen. Untersucht wurde, ob sich die QAF als Screening Methode in der Früherkennung von CQ/HCQ induzierten retinalen Veränderungen eignet.

Dazu wurden erstmalig in einer prospektiven Querschnittsstudie 38 Patienten unter CQ/HCQ Therapie eingeschlossen und mittels multimodaler Bildgebung (FAF, QAF, SD-OCT) sowie weiteren funktionellen Test (mfERG und Perimetrie) untersucht. QAF Aufnahmen wurden mittels FIJI Plug-Ins analysiert und gegen eine alters- und geschlechtsadaptierte Kontrollgruppe verglichen. Bei 5 der 38 Patienten zeigten sich für die CQ/HCQ Makulopathie typische Veränderungen in allen Modalitäten. Aufgrund der kontrovers diskutierten Aussagekraft der QAF im Alter über 60 Jahren formten wir eine Subpopulation der Patienten bis 60 Jahre, bei denen in 4 von 29 Fällen CQ/HCQ induzierte Veränderungen sichtbar waren. Unabhängig vom Alter zeigt sich bei Patienten ohne BEM, verglichen zur Kontrollgruppe, signifikant erhöhte QAF Werte. Diese fallen bereits nach kurzer Einnahmedauer auf und bleiben Jahre nach Absetzen der Therapie bestehen. Die erhöhten QAF Werte treten, mit Ausnahme der Patientin mit ausgeprägter BEM, in Abwesenheit von Pathologien in den anderen Untersuchungsmethoden und Veränderungen der äußeren Netzhaut in der SD-OCT auf. Bei Patienten mit BEM sind in den QAF Aufnahmen das typische parafoveale Autofluoreszenzmuster, sowie hohe QAF Werte außerhalb der Atrophiezone in der Perifovea zu erkennen.

Erhöhte QAF Werte, bereits nach kurzer Einnahme, könnten auf Einlagerungen von CQ/HCQ oder deren Metaboliten zurückzuführen sein. Inwieweit sich Intensitäten und Muster der QAF im Verlauf der Medikamenteneinnahme verändern und so Hinweise auf mögliche frühe Netzhautschäden durch die Medikamente geben können, ist durch diese Arbeit nicht geklärt. Ob die QAF ein mögliches Screening Instrument zur frühen

Detektion einer BEM sein kann, muss in weiteren Verlaufsstudien untersucht werden.

6 Literaturverzeichnis

- Ach T, Tolstik E, Messinger JD, Zarubina AV, Heintzmann R, Curcio CA. 2015. Lipofuscin redistribution and loss accompanied by cytoskeletal stress in retinal pigment epithelium of eyes with age-related macular degeneration. *Investigative ophthalmology & visual science* 56: 3242-52
- Al-Bari MAA. 2015. Chloroquine analogues in drug discovery: new directions of uses, mechanisms of actions and toxic manifestations from malaria to multifarious diseases. *J. Antimicrob. Chemother.* 70: 1608-21
- Alamanos Y, Drosos AA. 2005. Epidemiology of adult rheumatoid arthritis. *Autoimmunity reviews* 4: 130-36
- Ben-Zvi I, Kivity S, Langevitz P, Shoenfeld Y. 2012. Hydroxychloroquine: from malaria to autoimmunity. *Clin Rev Allergy Immunol* 42: 145-53
- Bergholz R, Schroeter J, Rütger K. 2010. Evaluation of risk factors for retinal damage due to chloroquine and hydroxychloroquine. *British Journal of Ophthalmology* 94: 1637-42
- Bermond K, Wobbe C, Tarau I-S, Heintzmann R, Hillenkamp J, et al. 2020. Autofluorescent granules of the human retinal pigment epithelium: phenotypes, intracellular distribution, and age-related topography. *Investigative ophthalmology & visual science* 61: 35-35
- Bernstein H, Zvaifler N, Rubin M, MANSOUR AM. 1963. The ocular deposition of chloroquine. *Investigative Ophthalmology & Visual Science* 2: 384-92
- Bernstein HN, Ginsberg J. 1964. The pathology of chloroquine retinopathy. *Archives of Ophthalmology* 71: 238-45
- Bonanomi MT, Dantas NC, Medeiros FA. 2006. Retinal nerve fibre layer thickness measurements in patients using chloroquine. *Clinical & experimental ophthalmology* 34: 130-36
- Boudreault K, Schuerch K, Zhao J, Lee W, Cabral T, et al. 2017. Quantitative autofluorescence intensities in acute zonal occult outer retinopathy vs healthy eyes. *JAMA ophthalmology* 135: 1330-38
- Boya P, Gonzalez-Polo R-A, Poncet D, Andreau K, Vieira HL, et al. 2003. Mitochondrial membrane permeabilization is a critical step of lysosome-initiated apoptosis induced by hydroxychloroquine. *Oncogene* 22: 3927
- Brandao LM, Palmowski-Wolfe AM. 2016. A possible early sign of hydroxychloroquine macular toxicity. *Doc Ophthalmol* 132: 75-81
- Brown DM, s Benz M, Wong TP, Major JC. 2010. Spectral domain optical coherence tomography as an effective screening test for hydroxychloroquine retinopathy (the “flying saucer” sign). *Clinical Ophthalmology* 4: 1151-58
- Bull-Otterson L, Gray EB, Budnitz DS, Strosnider HM, Schieber LZ, et al. 2020. Hydroxychloroquine and Chloroquine Prescribing Patterns by Provider Specialty Following Initial Reports of Potential Benefit for COVID-19 Treatment—United States, January–June 2020. *Morbidity and Mortality Weekly Report* 69: 1210

- Burke TR, Duncker T, Woods RL, Greenberg JP, Zernant J, et al. 2014. Quantitative Fundus Autofluorescence in Recessive Stargardt Disease. *Investigative ophthalmology & visual science* 55: 2841-52
- Cakir A, Ozturan ŞG, Yildiz D, Erden B, Bolukbasi S, et al. 2019. Evaluation of photoreceptor outer segment length in hydroxychloroquine users. *Eye*: 1
- Cohen AS, Calkins E. 1958. A controlled study of chloroquine as an antirheumatic agent. *Arthritis & Rheumatism: Official Journal of the American College of Rheumatology* 1: 297-312
- Colson P, Rolain J-M, Lagier J-C, Brouqui P, Raoult D. 2020. Chloroquine and hydroxychloroquine as available weapons to fight COVID-19. *Int. J. Antimicrob. Agents* 105932
- Cukras C, Huynh N, Vitale S, Wong WT, Ferris FL, 3rd, Sieving PA. 2015. Subjective and objective screening tests for hydroxychloroquine toxicity. *Ophthalmology* 122: 356-66
- Curcio C, Millican CL, Allen K, Kalina R. 1993. Aging of the human photoreceptor mosaic: evidence for selective vulnerability of rods in central retina. *Investigative ophthalmology & visual science* 34: 3278-96
- Curcio CA, Sloan KR, Kalina RE, Hendrickson AE. 1990. Human photoreceptor topography. *J. Comp. Neurol.* 292: 497-523
- de Sisternes L, Hu J, Rubin DL, Marmor MF. 2015. Localization of damage in progressive hydroxychloroquine retinopathy on and off the drug: inner versus outer retina, parafovea versus peripheral fovea. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 56: 3415-26
- Delori F, Greenberg JP, Woods RL, Fischer J, Duncker T, et al. 2011. Quantitative measurements of autofluorescence with the scanning laser ophthalmoscope. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 52: 9379-90
- Delori FC, Goger DG, Dorey CK. 2001. Age-related accumulation and spatial distribution of lipofuscin in RPE of normal subjects. *Investigative ophthalmology & visual science* 42: 1855-66
- Ding HJ, Denniston AK, Rao VK, Gordon C. 2016. Hydroxychloroquine-related retinal toxicity. *Rheumatology* 55: 957-67
- Drexler W, Morgner U, Ghanta RK, Kärtner FX, Schuman JS, Fujimoto JG. 2001. Ultrahigh-resolution ophthalmic optical coherence tomography. *Nat. Med.* 7: 502
- Duncker T, Greenberg JP, Ramachandran R, Hood DC, Smith RT, et al. 2014. Quantitative fundus autofluorescence and optical coherence tomography in best vitelliform macular dystrophy. *Investigative ophthalmology & visual science* 55: 1471-82
- Duncker T, Tsang SH, Lee W, Zernant J, Allikmets R, et al. 2015. Quantitative Fundus Autofluorescence Distinguishes ABCA4-Associated and Non-ABCA4-Associated Bull's-Eye Maculopathy. *Ophthalmology* 122: 345-55
- Dysli C, Wolf S, Zinkernagel MS. 2017. The lowdown on fluorescence lifetime imaging ophthalmoscopy. *Retin. Today* 6: 58-60
- Easterbrook M. 1999. Detection and prevention of maculopathy associated with antimalarial agents. *Int. Ophthalmol. Clin.* 39: 49-57

- Feeney L. 1978. Lipofuscin and melanin of human retinal pigment epithelium. Fluorescence, enzyme cytochemical, and ultrastructural studies. *Investigative ophthalmology & visual science* 17: 583-600
- Feeney-Burns L, Hilderbrand E, Eldridge S. 1984. Aging human RPE: morphometric analysis of macular, equatorial, and peripheral cells. *Investigative ophthalmology & visual science* 25: 195-200
- Finbloom D, Silver K, Newsome D, Gunkel R. 1985. Comparison of hydroxychloroquine and chloroquine use and the development of retinal toxicity. *The Journal of rheumatology* 12: 692-94
- Freedman A. 1956. Chloroquine and rheumatoid arthritis: a short-term controlled trial. *Annals of the rheumatic diseases* 15: 251
- Freedman A, Steinberg V. 1960. Chloroquine in rheumatoid arthritis: a double blindfold trial of treatment for one year. *Annals of the rheumatic diseases* 19: 243
- Freund KB, Mrejen S, Jung J, Yannuzzi LA, Boon CJ. 2013. Increased fundus autofluorescence related to outer retinal disruption. *Jama Ophthalmology* 131: 1645-49
- Furst DE. 1996. Pharmacokinetics of hydroxychloroquine and chloroquine during treatment of rheumatic diseases. *Lupus* 5: 11-15
- Gao J, Tian Z, Yang X. 2020. Breakthrough: Chloroquine phosphate has shown apparent efficacy in treatment of COVID-19 associated pneumonia in clinical studies. *Biosci. Trends*
- Garrity ST, Jung JY, Zambrowski O, Pichi F, Su D, et al. 2019. Early hydroxychloroquine retinopathy: optical coherence tomography abnormalities preceding Humphrey visual field defects. *British Journal of Ophthalmology* 103: 1600-04
- Gleiser CA, Dukes TW, Lawwill T, Read WK, Bay WW, Brown RS. 1969. Ocular changes in swine associated with chloroquine toxicity. *American journal of ophthalmology* 67: 399-405
- Gliem M, Müller PL, Birtel J, McGuinness MB, Finger RP, et al. 2017. Quantitative Fundus Autofluorescence in Pseudoxanthoma Elasticum. *Investigative Ophthalmology & Visual Science* 58: 6159-65
- Gliem M, Müller PL, Finger RP, McGuinness MB, Holz FG, Issa PC. 2016. Quantitative fundus autofluorescence in early and intermediate age-related macular degeneration. *JAMA ophthalmology* 134: 817-24
- Grassmann F, Bergholz R, Mändl J, Jägle H, Ruether K, Weber BH. 2015. Common synonymous variants in ABCA4 are protective for chloroquine induced maculopathy (toxic maculopathy). *BMC Ophthalmol.* 15: 18
- Greenberg JP, Duncker T, Woods RL, Smith RT, Sparrow JR, Delori FC. 2013. Quantitative fundus autofluorescence in healthy eyes. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 54: 5684-93
- Greenstein VC, Lima de Carvalho JR, Jr., Parmann R, Amaro-Quireza L, Lee W, et al. 2020. Quantitative Fundus Autofluorescence in HCQ Retinopathy. *Investigative Ophthalmology & Visual Science* 61: 41-41

- Gustafsson LL, Walker O, Alvan G, Beermann B, Estevez F, et al. 1983. Disposition of chloroquine in man after single intravenous and oral doses. *Br. J. Clin. Pharmacol.* 15: 471-9
- Hobbs H, Sorsby A, Freedman A. 1959. Retinopathy following chloroquine therapy. *The Lancet* 274: 478-80
- Hood DC, Bach M, Brigell M, Keating D, Kondo M, et al. 2012. ISCEV standard for clinical multifocal electroretinography (mfERG)(2011 edition). *Documenta Ophthalmologica* 124: 1-13
- Huang D, Swanson EA, Lin CP, Schuman JS, Stinson WG, et al. 1991. Optical coherence tomography. *Science* 254: 1178-81
- Jauregui R, Parmann R, Nuzbrokh Y, Tsang SH, Sparrow JR. 2020. Spectral-Domain Optical Coherence Tomography Is More Sensitive for Hydroxychloroquine-Related Structural Abnormalities Than Short-Wavelength and Near-Infrared Autofluorescence. *Translational Vision Science & Technology* 9: 8-8
- Jorge A, Ung C, Young LH, Melles RB, Choi HK. 2018. Hydroxychloroquine retinopathy—implications of research advances for rheumatology care. *Nature Reviews Rheumatology* 14: 693-703
- Katz ML, Robison Jr WG. 2002. What is lipofuscin? Defining characteristics and differentiation from other autofluorescent lysosomal storage bodies. *Arch. Gerontol. Geriatr.* 34: 169-84
- Kellner S, Weinitz S, Farmand G, Kellner U. 2014. Cystoid macular oedema and epiretinal membrane formation during progression of chloroquine retinopathy after drug cessation. *Br J Ophthalmol* 98: 200-6
- Kellner S, Weinitz S, Kellner U. 2009. Spectral domain optical coherence tomography detects early stages of chloroquine retinopathy similar to multifocal electroretinography, fundus autofluorescence and near-infrared autofluorescence. *British Journal of Ophthalmology* 93: 1444-47
- Kellner U, Kellner S, Weinitz S. 2008. Chloroquine retinopathy: lipofuscin-and melanin-related fundus autofluorescence, optical coherence tomography and multifocal electroretinography. *Documenta Ophthalmologica* 116: 119-27
- Kellner U, Renner AB, Tillack H. 2006. Fundus autofluorescence and mfERG for early detection of retinal alterations in patients using chloroquine/hydroxychloroquine. *Investigative ophthalmology & visual science* 47: 3531-38
- Kevany BM, Palczewski K. 2010. Phagocytosis of retinal rod and cone photoreceptors. *Physiology* 25: 8-15
- Kleefeldt N, Bermond K, Tarau I-S, Hillenkamp J, Berlin A, et al. 2020. Quantitative Fundus Autofluorescence: Advanced Analysis Tools. *Translational Vision Science & Technology* 9: 2-2
- Korthagen NM, Bastiaans J, van Meurs JC, van Bilzen K, van Hagen PM, Dik WA. 2015. Chloroquine and Hydroxychloroquine Increase Retinal Pigment Epithelial Layer Permeability. *J Biochem Mol Toxicol* 29: 299-304

- Krafts K, Hempelmann E, Skórska-Stania A. 2012. From methylene blue to chloroquine: a brief review of the development of an antimalarial therapy. *Parasitol. Res.* 111: 1-6
- Lai TY, Ngai JW, Chan W-M, Lam DS. 2006. Visual field and multifocal electroretinography and their correlations in patients on hydroxychloroquine therapy. *Documenta ophthalmologica* 112: 177-87
- Lanthon P. 1978. The desaturated panel D-15. *Documenta Ophthalmologica* 46: 185-89
- Levy GD, Munz SJ, Paschal J, Cohen HB, Pince KJ, Peterson T. 1997. Incidence of hydroxychloroquine retinopathy in 1,207 patients in a large multicenter outpatient practice. *Arthritis Rheum.* 40: 1482-6
- Linksz A. 1966. The Farnsworth panel D-15 test. *Am. J. Ophthalmol.* 62: 27-37
- Mahon G, Anderson H, Gardiner T, McFarlane S, Archer D, Stitt A. 2004. Chloroquine causes lysosomal dysfunction in neural retina and RPE: implications for retinopathy. *Current eye research* 28: 277-84
- Marmor MF. 2012. Comparison of screening procedures in hydroxychloroquine toxicity. *Archives of ophthalmology* 130: 461-69
- Marmor MF, Hu J. 2014. Effect of disease stage on progression of hydroxychloroquine retinopathy. *JAMA Ophthalmol* 132: 1105-12
- Marmor MF, Kellner U, Lai TY, Melles RB, Mieler WF. 2016. Recommendations on screening for chloroquine and hydroxychloroquine retinopathy (2016 revision). *Ophthalmology* 123: 1386-94
- Marshall E, Robertson M, Kam S, Penwarden A, Riga P, Davies N. 2021. Prevalence of hydroxychloroquine retinopathy using 2018 Royal College of Ophthalmologists diagnostic criteria. *Eye* 35: 343-48
- Maturi RK, Folk JC, Nichols B, Oetting TT, Kardon RH. 1999. Hydroxychloroquine retinopathy. *Arch. Ophthalmol.* 117: 1262-3
- Mavrikakis I, Sfikakis PP, Mavrikakis E, Rougas K, Nikolaou A, et al. 2003. The incidence of irreversible retinal toxicity in patients treated with hydroxychloroquine: a reappraisal. *Ophthalmology* 110: 1321-26
- McChesney EW. 1983. Animal toxicity and pharmacokinetics of hydroxychloroquine sulfate. *The American journal of medicine* 75: 11-18
- McChesney EW, Banks Jr WF, Sullivan DJ. 1965. Metabolism of chloroquine and hydroxychloroquine in albino and pigmented rats. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 7: 627-36
- Melles RB, Marmor MF. 2014. The risk of toxic retinopathy in patients on long-term hydroxychloroquine therapy. *JAMA ophthalmology* 132: 1453-60
- Michaelides M, Stover NB, Francis PJ, Weleber RG. 2011. Retinal toxicity associated with hydroxychloroquine and chloroquine: risk factors, screening, and progression despite cessation of therapy. *Archives of Ophthalmology* 129: 30-39
- Missner S, Kellner U. 2012. Comparison of different screening methods for chloroquine/hydroxychloroquine retinopathy: multifocal electroretinography, color vision, perimetry, ophthalmoscopy, and fluorescein angiography. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 250: 319-25

- Nassif N, Cense B, Park BH, Yun SH, Chen TC, et al. 2004. In vivo human retinal imaging by ultrahigh-speed spectral domain optical coherence tomography. *Optics letters* 29: 480-82
- Neubauer AS, Samari-Kermani K, Schaller U, Welge-Lubetaen U, Rudolph G, Berninger T. 2003. Detecting chloroquine retinopathy: electro-oculogram versus colour vision. *Br J Ophthalmol* 87: 902-8
- Nika M, Blachley TS, Edwards P, Lee PP, Stein JD. 2014. Regular examinations for toxic maculopathy in long-term chloroquine or hydroxychloroquine users. *JAMA Ophthalmol* 132: 1199-208
- Orellana-Rios J, Yokoyama S, Agee JM, Challa N, Freund KB, et al. 2018. Quantitative fundus autofluorescence in non-neovascular age-related macular degeneration. *Ophthalmic Surgery, Lasers and Imaging Retina* 49: S34-S42
- Pasadhika S, Fishman G. 2010. Effects of chronic exposure to hydroxychloroquine or chloroquine on inner retinal structures. *Eye* 24: 340-46
- Penrose PJ, Tzekov RT, Sutter EE, Fu AD, ALLEN JR AW, et al. 2003. Multifocal electroretinography evaluation for early detection of retinal dysfunction in patients taking hydroxychloroquine. *Retina* 23: 503-12
- Petri M, Elkhalfa M, Li J, Magder LS, Goldman DW. 2020. Hydroxychloroquine blood levels predict hydroxychloroquine retinopathy. *Arthritis & Rheumatology* 72: 448-53
- Pham BH, Marmor MF. 2019. Sequential changes in hydroxychloroquine retinopathy up to 20 years after stopping the drug: implications for mild versus severe toxicity. *Retina* 39: 492-501
- Plantone D, Koudriavtseva T. 2018. Current and future use of chloroquine and hydroxychloroquine in infectious, immune, neoplastic, and neurological diseases: a mini-review. *Clin. Drug Investig.* 38: 653-71
- Rainsford K, Parke AL, Clifford-Rashotte M, Kean W. 2015. Therapy and pharmacological properties of hydroxychloroquine and chloroquine in treatment of systemic lupus erythematosus, rheumatoid arthritis and related diseases. *Inflammopharmacology* 23: 231-69
- Reichel C, Berlin A, Radun V, Tarau I-S, Hillenkamp J, et al. 2020. Quantitative fundus autofluorescence in systemic chloroquine/hydroxychloroquine therapy. *Translational Vision Science & Technology* 9: 42-42
- Reiter GS, Told R, Baratsits M, Hecht A, Schlanitz FG, et al. 2019. Repeatability and reliability of quantitative fundus autofluorescence imaging in patients with early and intermediate age-related macular degeneration. *Acta ophthalmologica* 97: e526-e32
- Rickmann A, Al-Nawaiseh S, Ramirez L, Röhrig S, Ladewig M, et al. 2019. Progressive maculopathy despite discontinuation of chloroquine treatment-multimodal imaging and review of the literature. *Der Ophthalmologe: Zeitschrift der Deutschen Ophthalmologischen Gesellschaft*
- Rodriguez-Padilla JA, Hedges TR, Monson B, Srinivasan V, Wojtkowski M, et al. 2007. High-speed ultra-high-resolution optical coherence tomography

- findings in hydroxychloroquine retinopathy. *Archives of ophthalmology* 125: 775-80
- Rosenthal A, Kolb H, Bergsma D, Huxsoll D, Hopkins J. 1978. Chloroquine retinopathy in the rhesus monkey. *Investigative ophthalmology & visual science* 17: 1158-75
- Ruamviboonsuk P, Lai TY, Chang A, Lai C-C, Mieler WF, Lam DS. 2020. Chloroquine and hydroxychloroquine retinal toxicity consideration in the treatment of COVID-19. *Asia-Pacific journal of ophthalmology (Philadelphia, Pa.)*
- RUBIN M, BERNSTEIN HN, ZVAIFLER NJ. 1963. Studies on the pharmacology of chloroquine: Recommendations for the treatment of chloroquine retinopathy. *Archives of Ophthalmology* 70: 474-81
- Sauer L, Calvo CM, Vitale AS, Henrie N, Milliken CM, Bernstein PS. 2019. Imaging of Hydroxychloroquine Toxicity with Fluorescence Lifetime Imaging Ophthalmoscopy. *Ophthalmology Retina* 3: 814-25
- Schindelin J, Arganda-Carreras I, Frise E, Kaynig V, Longair M, et al. 2012. Fiji: an open-source platform for biological-image analysis. *Nature methods* 9: 676-82
- Schrezenmeier E, Dörner T. 2020. Mechanisms of action of hydroxychloroquine and chloroquine: implications for rheumatology. *Nature Reviews Rheumatology* 16: 155-66
- Schroeder RL, Gerber JP. 2014. Chloroquine and hydroxychloroquine binding to melanin: Some possible consequences for pathologies. *Toxicol Rep* 1: 963-68
- Schuerch K, Woods RL, Lee W, Duncker T, Delori FC, et al. 2017. Quantifying Fundus Autofluorescence in Patients With Retinitis Pigmentosa. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 58: 1843-55
- Seeliger M, Jurklies B, Kellner U, Palmowski A, Bach M, Kretschmann U. 2001. Multifokale Elektroretinographie (mfERG). *Der Ophthalmologe* 98: 1112-30
- Shippey E, Wagler VD, Collamer AN. 2018. Hydroxychloroquine: An old drug with new relevance. *Cleve. Clin. J. Med.* 85: 459-67
- Shroyer NF, Lewis RA, Lupski JR. 2001. Analysis of the ABCR (ABCA4) gene in 4-aminoquinoline retinopathy: is retinal toxicity by chloroquine and hydroxychloroquine related to Stargardt disease? *American journal of ophthalmology* 131: 761-66
- So SC, Hedges TR, Schuman JS, Quireza ML. 2003. Evaluation of hydroxychloroquine retinopathy with multifocal electroretinography. *Ophthalmic Surg. Lasers Imaging* 34: 251-8
- Solberg Y, Dysli C, Möller B, Wolf S, Zinkernagel MS. 2019. Fluorescence Lifetimes in Patients With Hydroxychloroquine Retinopathy. *Investigative ophthalmology & visual science* 60: 2165-72
- Spaide RF, Curcio CA. 2011. Anatomical correlates to the bands seen in the outer retina by optical coherence tomography: literature review and model. *Retina (Philadelphia, Pa.)* 31: 1609

- Sparrow JR, Duncker T, Schuerch K, Paavo M, de Carvalho Jr JRL. 2020. Lessons learned from quantitative fundus autofluorescence. *Prog. Retin. Eye Res.* 74: 100774
- Sparrow JR, Duncker T, Woods R, Delori FC. 2016. Quantitative fundus autofluorescence in best vitelliform macular dystrophy: RPE lipofuscin is not increased in non-lesion areas of retina In *Retinal Degenerative Diseases*, pp. 285-90: Springer
- Sparrow JR, Gregory-Roberts E, Yamamoto K, Blonska A, Ghosh SK, et al. 2012. The bisretinoids of retinal pigment epithelium. *Prog. Retin. Eye Res.* 31: 121-35
- Stepien KE, Han DP, Schell J, Godara P, Rha J, Carroll J. 2009. Spectral-domain optical coherence tomography and adaptive optics may detect hydroxychloroquine retinal toxicity before symptomatic vision loss. *Trans. Am. Ophthalmol. Soc.* 107: 28
- Stojan G, Petri M. 2018. Epidemiology of systemic lupus erythematosus: an update. *Curr. Opin. Rheumatol.* 30: 144
- Strauss O. 2005. The retinal pigment epithelium in visual function. *Physiol. Rev.* 85: 845-81
- Sundelin SP, Terman A. 2002. Different effects of chloroquine and hydroxychloroquine on lysosomal function in cultured retinal pigment epithelial cells. *APMIS* 110: 481-9
- Sutter EE, Tran D. 1992. The field topography of ERG components in man—I. The photopic luminance response. *Vision Res.* 32: 433-46
- Told R, Baratsits M, Garhöfer G, Schmetterer L. 2013. ETDRS (Early Treatment Diabetic Retinopathy Study)-Visus. *Der Ophthalmologe* 110: 960-65
- Touret F, de Lamballerie X. 2020. Of chloroquine and COVID-19. *Antiviral Res.:* 104762
- Vaduganathan M, van Meijgaard J, Mehra MR, Joseph J, O'Donnell CJ, Warraich HJ. 2020. Prescription Fill Patterns for Commonly Used Drugs During the COVID-19 Pandemic in the United States. *JAMA* 323: 2524-26
- Wang Y, Tran T, Firl K, Huang N, Yasin O, et al. 2019. Quantitative fundus autofluorescence in smokers compared to non-smokers. *Exp. Eye Res.* 184: 48-55
- Wetterholm DH, Winter FC. 1964. Histopathology of chloroquine retinal toxicity. *Archives of ophthalmology* 71: 82-87
- Wing GL, Blanchard GC, Weiter JJ. 1978. The topography and age relationship of lipofuscin concentration in the retinal pigment epithelium. *Investigative ophthalmology & visual science* 17: 601-07
- Xu C, Zhu L, Chan T, Lu X, Shen W, et al. 2016. Chloroquine and hydroxychloroquine are novel inhibitors of human organic anion transporting polypeptide 1A2. *J. Pharm. Sci.* 105: 884-90
- Yoon YH, Cho KS, Hwang JJ, Lee SJ, Choi JA, Koh JY. 2010. Induction of lysosomal dilatation, arrested autophagy, and cell death by chloroquine in cultured ARPE-19 cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 51: 6030-7

DANKSAGUNG

Ich möchte mich an dieser Stelle bei allen bedanken, die mit ihrer Unterstützung und Engagement zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben.

Ich danke Prof. Hillenkamp für die Möglichkeit meine Doktorarbeit an der Augenklinik Würzburg durchführen zu können.

Ein besonderer Dank geht an Priv. Doz. Dr. Thomas Ach. Vielen Dank, dass du mir diese Arbeit, meine erste Kongressteilnahme und das Paper ermöglicht hast, mir die Freude an Wissenschaft vermittelt hast und so viel Geduld mit mir hattest. Danke auch an Andreas für die gute Zusammenarbeit in der Klinik und beim Erstellen des Papers und die ständige Unterstützung in der Klinik.

Ebenfalls möchte ich mich bei den Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern der Augenklinik Würzburg bedanken. Den Assistenzärztinnen und Assistenzärzten, den Mitarbeiterinnen der Funktionsdiagnostik, insbesondere Barbara Serhijenko und den Mitarbeiterinnen der Studienambulanz Caroline Kümmer und Sonja Zobel.

Ich danke auch Maurice und meiner Familie für die Unterstützung im Studium, bei der Doktorarbeit und darüber hinaus.

LEBENS LAUF

Persönliche Daten

Name Reichel
Vorname Clara

Bildungsweg

06/2020 Approbation als Ärztin
seit 02/2017 Doktorandin Arbeitsgruppe Priv.-Doz. Dr. Ach, Augenklinik Würzburg
10/2013 – 06/2020 Studium der Humanmedizin, Julius-Maximilians-Universität Würzburg
09/2004-07/2012 Heinrich-Suso-Gymnasium, Konstanz

Publikation

Reichel, C., Berlin, A., Radun, V., Tarau, I.-S., Hillenkamp, J., Kleefeldt, N., Sloan, K., Ach, T. (2020). Quantitative fundus autofluorescence in systemic chloroquin/hydroxychloroquin therapy. *Translational Vision Science & Technology*, 9(9), 42-42

Kongressteilnahme

ARVO 2019, Vancouver Canada - Postervorstellung
Quantified fundus autofluorescence (QAF) in patients with systemic chloroquin/hydroxychloroquin (CQ/HCQ) intake
C Reichel, IS Tarau, N Kleefeldt, J Hillenkamp, KR Sloan, T Ach
Investigative Ophthalmology & Visual Science 60 (9), 1585-1585

Die Daten wurden ebenfalls vorgestellt

ARVO 2020, digital
Victoria Radun, Andreas Berlin, Clara Reichel, Nikolai Kleefeldt, Ioana-Sandra Tarau, Jost Hillenkamp, KENNETH R SLOAN, Thomas Ach; Quantitative fundus autofluorescence (QAF) in chloroquine/hydroxychloroquine (CQ/HCQ) patients: one-year follow-up.. Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 2020;61(7):5262.

DOG 2019, Berlin

Quantitative Fundusautofluoreszenz (QAF) bei Patienten mit systemischer Chloroquin/Hydroxychloroquin (CQ/HCQ)-Einnahme
Andreas Berlin, Clara Reichel, Ioana-Sandra Tarau, Nikolai Kleefeldt, Jost Hillenkamp (Würzburg), Kenneth R. Sloan (Birmingham, USA), Thomas Ach (Würzburg)

