

Aus der Augenklinik und Poliklinik der Universität Würzburg

Direktor Prof. Dr. Dr. h.c. F. Grehn

**Klassifikation von Frühstadien der
trockenen Makuladegeneration
mittels Fundusautofluoreszenz**

Inaugural - Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde der

Medizinischen Fakultät der

Julius-Maximilians-Universität zu Würzburg

vorgelegt von

Ilka Juliane Mlynski, geb. Zollmann

aus

Rostock

Würzburg, März 2011

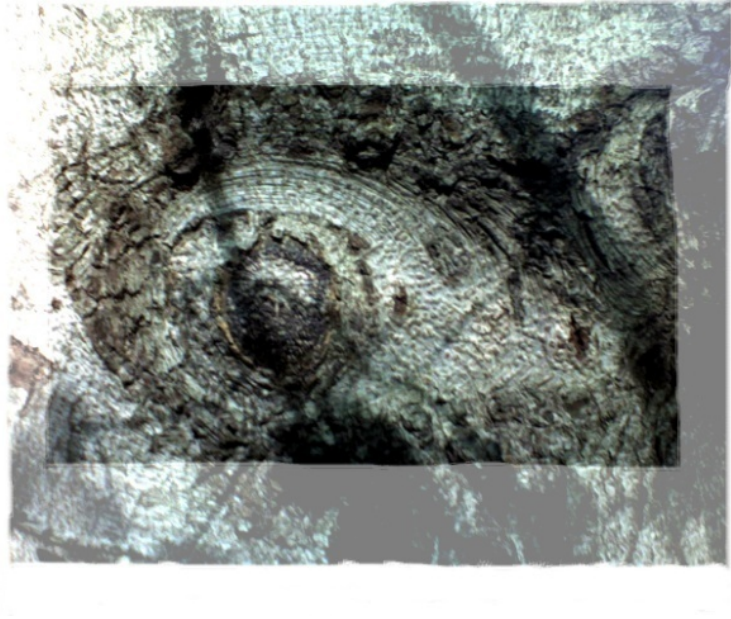
Referent: Prof. Dr. W. Schrader

Co-Referent: Prof. Dr. P. Kranke

Dekan: Prof. Dr. M. Frosch

Tag der mündlichen Prüfung: 26. Januar 2012

Die Promovendin in Ärztin.



Meiner Familie

INHALTSVERZEICHNIS

1.	EINLEITUNG	
1.1.	Die altersbedingte Makuladegeneration	1
1.2.	Demographie und sozioökonomische Faktoren	2
1.3.	Anatomie und Histologie der Makulastrukturen	4
1.3.1.	Retinales Pigmentepithel und Bruch-Membran	6
1.4.	Physiologie der Makula	7
1.5.	Morphologie und Klassifikation der AMD	8
1.6.	Ätiologie	9
1.7.	Pathophysiologie	11
1.8.	Drusen	13
1.9.	Genetik	14
1.10.	Lipofuszin	17
1.11.	Autofluoreszenz am Fundus mittels Scanning-Laser-Ophthalmoskop	19
1.12.	Klinik und Diagnose der AMD	22
1.13.	Therapieoptionen	24
2.	AUFGABENSTELLUNG	25
3.	MATERIAL UND METHODEN	26
3.1.	Untersuchungsapparatur	27
3.2.	Physikalischer Hintergrund	27
3.3.	Durchführung der Untersuchung mit dem HRA	28
4.	ERGEBNISSE	29
4.1.	Einteilung der Autofluoreszenzbilder	29
4.2.	Charakterisierung der AF-Muster	32
4.3.	Patientengut	37
4.4.	Verteilung der AF-Muster	38
5.	DISKUSSION	42
6.	ZUSAMMENFASSUNG	47
7.	LITERATURVERZEICHNIS	49
8.	DANKSAGUNG	57
9.	LEBENS LAUF	58

1. EINLEITUNG

1.1. DIE ALTERSBEDINGTE MAKULADEGENERATION

Die altersbedingte Makuladegeneration (AMD) ist eine degenerative Netzhauterkrankung und in den westlichen Industrienationen die häufigste Ursache für Erblindung bei Patienten jenseits des 50. Lebensjahres. Je nach Ausprägung kommt es bei den Patienten aufgrund progredienter Veränderungen des Komplexes von Netzhaut, Pigmentepithel und Aderhaut im Bereich der Makula zum Verlust der Lesefähigkeit bis hin zum vollständigen Verlust des zentralen Sehvermögens. Europaweit sind mehrere Millionen Menschen von der Erkrankung betroffen.

Die Ursache für die Entstehung von Netzhautveränderungen bei AMD-Patienten ist bis heute noch nicht vollständig geklärt. Wurde noch bis zum Ende des vergangenen Jahrhunderts die hauptsächliche Bedeutung in der Rolle von Umweltfaktoren gesehen, so vermutet man heute eine multifaktorielle Ursache mit mehreren prädisponierenden Risikokonstellationen und erkrankungspromovierenden Umweltfaktoren. Diese Richtungsänderung in der Erforschung der Ätiologie komplexer Erkrankungen wie der AMD beruht nicht zuletzt auf der raschen Entwicklung neuer Methoden zur Entschlüsselung genetischer Loci, welche individuelle Risikoprofile aufzeigen können.

In dieser Arbeit wird versucht, die multifaktorielle Erkrankung der AMD anhand möglicher funktioneller Kriterien zu klassifizieren. Eine Subklassifizierung nach spezifischen Phänotypen könnte in Zukunft die Suche nach unterschiedlichen, zugrundeliegenden Genotypen vereinfachen.

1.2. DEMOGRAPHIE UND SOZIOÖKONOMISCHE FAKTOREN

Noch Ende des 19. Jahrhunderts war die damals so genannte „scheibchenförmige Entartung der Netzhautmitte“ extrem selten. Mit dem Wandel der Bevölkerungsstruktur und dem Anstieg der Lebenserwartung in der westlichen Welt ist auch eine erhebliche Zunahme an Erkrankungen des höheren Lebensalters wie der AMD zu verzeichnen. Die Zunahme der AMD oberhalb des 50. Lebensjahres ist in Mitteleuropa, Australien und Nordamerika nahezu deckungsgleich. Dies belegt die Vermutung, dass jeder Mensch degenerative Veränderungen der Makula zeigen wird, wenn er nur alt genug wird.

Heute rechnet man in Deutschland mit mehreren Millionen von altersbedingter Makuladegeneration betroffenen Menschen. Bei den 65jährigen in Mitteleuropa sind etwa 5% von der Makuladegeneration betroffen. Bei den 75jährigen sind es bereits 25%. Entsprechend den Veränderungen der Bevölkerungsstruktur (Abb. 2) kommen dabei

jährlich Tausende hinzu (Abb. 1). Die Zahl der heute Betroffenen wird sich in den westlichen Bevölkerungsgruppen wie z.B. in den USA bis zum Jahr 2030 vermutlich verdoppeln (Schaumberg *et al.*, 2007). Es gibt jedoch auch Anzeichen dafür, dass sich das Manifestations- und Erkrankungsalter immer mehr zum jüngeren Patienten hin verschiebt. Dieses wiederum lässt vermuten, dass exogene Faktoren, wie Umwelteinflüsse, Lebensweise und Ernährung neben den genetischen Gegebenheiten von Bedeutung sind (Holz, 2004). Es ist erstrebenswert, durch Vorsorgemaßnahmen den Manifestationszeitpunkt um fünf bis zehn Jahre hinauszuschieben zu können.

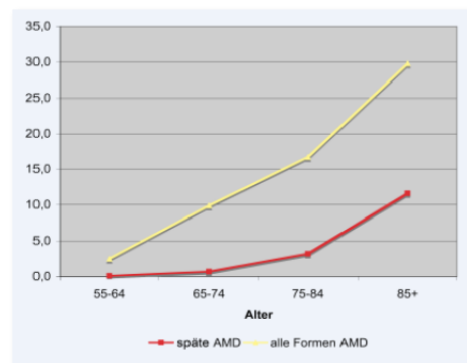


Abb. 1: Prävalenz der AMD nach der Rotterdam-Studie (Vingerling *et al.*, 1995)

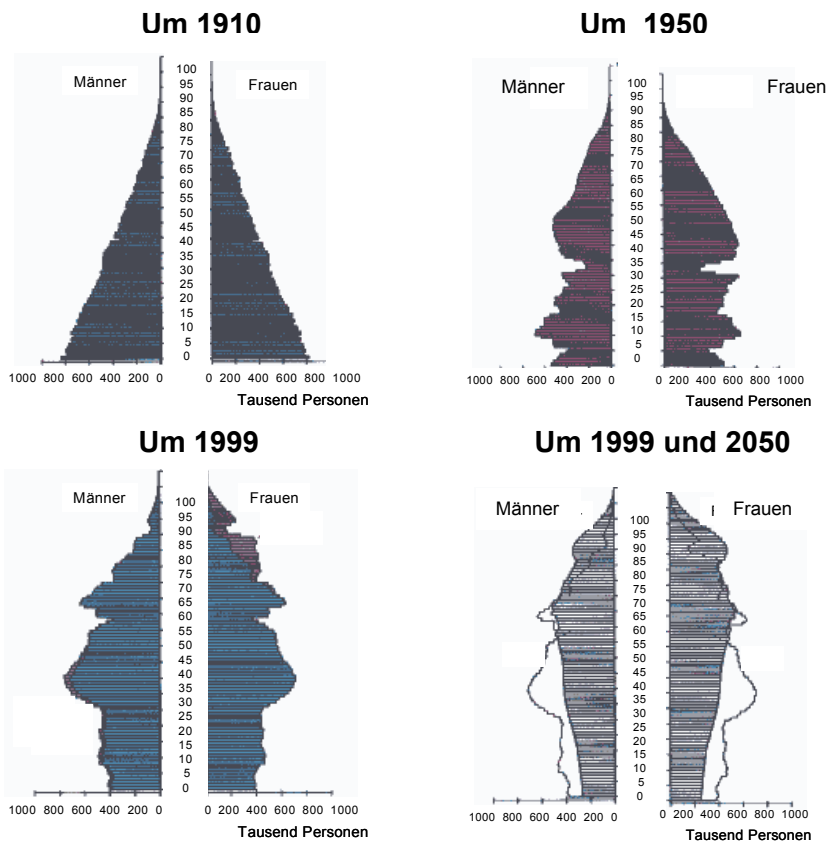


Abb. 2: Altersaufbau der Bevölkerung in Deutschland in Anlehnung an das Statistische Bundesamt (destatis, 2007)

Mit der Zunahme der Erkrankung in Zusammenhang stehen sozioökonomische Probleme. Neue Therapieformen und ihre Weiterentwicklung sind sehr kostenaufwendig, so wie es die Betreuung der Betroffenen ist. Dessen muss sich unsere alternde Gesellschaft zunehmend bewusst werden.

1.3. ANATOMIE UND HISTOLOGIE DER MAKULASTRUKTUREN

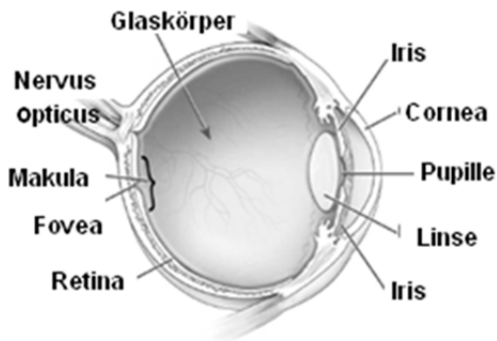


Abb. 3:
Anatomischer Aufbau des Auges
(Modifikation, Quelle: National Eye Institute;
www.gene.com/.../tgr/eye.health-glossary.html)

Als Makula (aus dem Lateinischen Macula lutea bzw. deutsch „gelber Fleck“) wird der erstmals von Samuel Thomas Sömmering beschriebene „Fleck des schärfsten Sehens“ im menschlichen Auge bezeichnet (Abb. 3). In der Netzhautmitte gelegen, findet sich hier die größte Dichte an Sehzellen mit einem Verhältnis von 5:2 zwischen den für die Farbwahrnehmung verantwortlichen Stäbchen und den für Nacht- und Dämmerungssehen verantwortlichen Zapfen.

Die stark pigmentierte Fovea centralis enthält ausschließlich Zapfen. Im Bereich der Perifovea ist der Anteil der Stäbchen am höchsten und nimmt nach parafoveal hin ab. Die Netzhautdicke sinkt vom Rand der Fovea zum Zentrum hin aufgrund der abnehmenden Dichte an Ganglienzellkernen kontinuierlich auf ca. 142µm (Abb. 4a/b). Die funktionelle Bedeutung dieses Netzhautareals liegt im zentralen Anteil des Gesichtsfeldes (ca. 15-20 Grad) (Pernkopf, 1960).

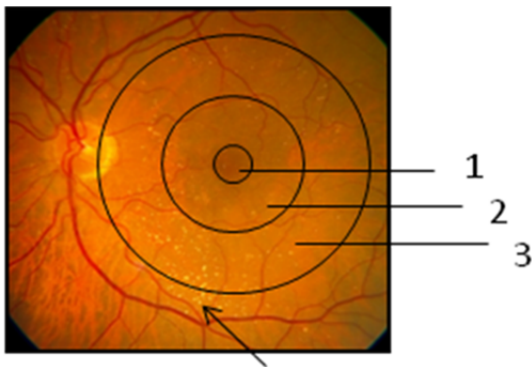


Abb. 4a: funduskopisches Bild

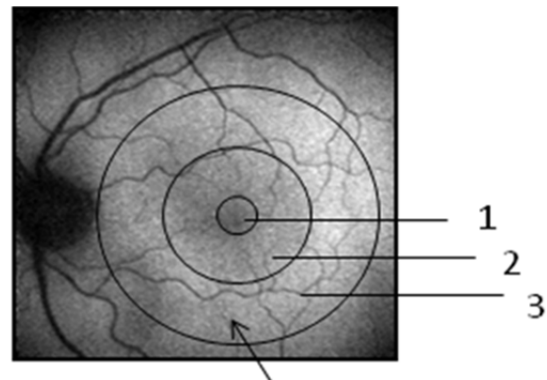


Abb. 4b: Autofluoreszenz-Bild

Abb. 4a/b: Augenbintergrundaufnahmen im Frühstadium der altersabhängigen Makuladegeneration.

Markierung: 1 – Foveola, 2 – Fovea, 3 – Makula mit Peri-/Parafovea, Pfeil - Drusen

Der Netzhaut nach außen anliegend ist die gefäß- und pigmentreiche Aderhaut, deren physiologische Bedeutung im Wesentlichen in der Nährstoffversorgung der Netzhaut und des Bulbus im Gesamten, sowie in der Aufrechterhaltung des Intraokular-drucks und in der Zerstreung von Strahlung und ihrer Energie liegt (Friedman & Oak, 1965). Die äußerste der drei Schichten ist die Lamina supra- chorioidea bzw. Hallersche Schicht. Die mittlere, den Hauptanteil bildende Schicht, ist die pigmentreiche Lamina vasculosa bzw. Sattler-Schicht. Die der Netzhaut anliegende Kapillarschicht, die Choriocapillaris ist im Bereich der Makula am besten entwickelt. Den Kontakt zwischen Netzhaut und Aderhaut stellt die Bruch-Membran dar. (Abb. 5)

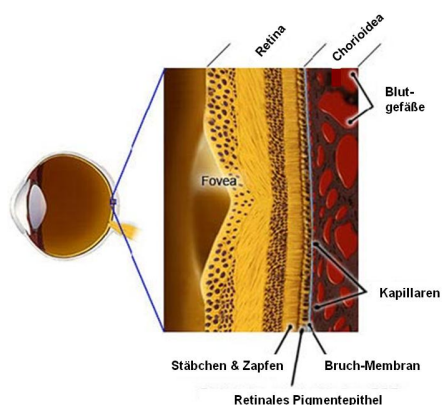


Abb.5 : Aufbau der Bulbuswand mit Netzhaut und Aderhaut im Bereich der Makula, Modifikation (Quelle: www.gene.com/.../tgr/eye.health-glossary.html)

1.3.1. RETINALES PIGMENTEPITHEL UND BRUCH-MEMBRAN

Das Pigmentepithel sendet als äußerste Schicht der Netzhaut nach innen hin Fortsätze zwischen Stäbchen und Zapfen aus. Diese Fortsätze phagozytieren permanent verbrauchte Außensegmente (Membranscheibchen bzw. Membraneinfaltungen) der Photorezeptoren, mit denen sie in engem Kontakt stehen und damit deren Metabolismus und den des Vitamin-A-Kreislaufs regenerativ aufrechterhalten. Dabei werden laufend Lipofuszin enthaltende zytoplasmatische Zellbestandteile in die innere Schicht der Bruch-

Membran abgegeben, um die Zellen vor Überladung zu schützen. Aufgebaut aus einer Lage hexagonaler Zellen ist das RPE nur sehr schwer zu durchbrechen und bildet zum Teil auch die Blut-Retina-Schranke. Die Zellen des RPE enthalten die durch Melanin schwarz gefärbte, als Lichtfilter funktionierenden Melanosomen. (Abb. 6) Veränderungen des RPE können sich durch Depigmentation, Hypertrophie, Hyperplasie und Atrophie äußern. Schädigungen wirken sich direkt auf die angrenzenden Photorezeptoren aus. Abhängig von ihrer Lokalisation umgibt eine Pigmentepithelzelle etwa 200 – 300 Photorezeptoren. Auf Reize durch Entzündung, Neovaskularisationen, Verletzungen oder Ablösung der Netzhaut reagieren die Pigmentepithelzellen mit Proliferation. (Miller *et al.*, 1986).

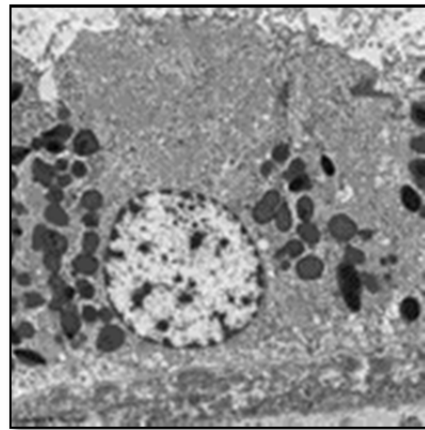


Abb. 6: Elektronenrastermikroskopische Aufnahme einer Pigmentepithelzelle; Quelle: www.uni-mainz.de/.../workshop/EM/EMHRetina.html

Die Bruch-Membran ist eine dünne, elastische, häutchenähnliche Schicht mesodermaler Abstammung zwischen Pigmentepithel und Chorioidea, bestehend aus fünf netzartigen Schichten, welche eine Siebfunktion beinhalten. Moleküle wie Integrin, Laminin, Kollagen IV und Fibronectin in der Zytoplasma- und Basalmembran sowie die innere Kollagenschicht der Bruch-Membran vermitteln die intakte Adhäsion der Bruch-Membran mit der Pigmentepithelzellschicht. (Gass, 1967).

1.4. **PHYSIOLOGIE DER MAKULA**

Der wesentliche Stoffwechselprozess der Netzhaut ist der Prozess der Erregung durch Licht und das Auslösen elektrischer Impulse. Die hierbei entstehenden Stoffwechselprodukte werden von Pigmentepithelzellen weiterverarbeitet. Die Regeneration und Wiederbereitstellung verbrauchter Stoffe in den Photorezeptoren wird ständig reguliert, wobei es durch permanenten Umbau physiologisch altersabhängig zu Ablagerungen von Zellschutt im Pigmentepithel kommt. Dabei entsteht eine Ansammlung des protein- und cholesterinhaltigen Pigmentes Lipofuszin. Die dichte Anlage der Pigmentepithelzellen und der Photorezeptoren ist Voraussetzung für eine normale Photorezeptorfunktion. Da die Photorezeptoren im Bereich der Makula besonders dicht stehen, muss hier im Rahmen der Stoffwechselprozesse eine Pigmentepithelzelle das Material von mehr Photorezeptoren abbauen als in der Peripherie. Dies erklärt den Zusammenhang mit der zumeist perifoveolär beginnenden AMD (Feeney-Burns *et al.*, 1984). Physiologischer Weise nimmt die Zahl der Photorezeptoren im Bereich der Makula nach dem 40. Lebensjahr ab (Marshall, 1987; Dorey *et al.*, 1989).

Das in den Pigmentzellen vorkommende Melanin nimmt eine Schutzfunktion ein, indem es Licht absorbiert, um eine übermäßige Streustrahlung und photooxidativen Stress zu verhindern (Sarna, 1992). Jedwede Art der Separation von Photorezeptoren und Pigmentepithel führt zu einer Dysfunktion wie es z.B. bei chorioidalen Neovaskularisationen oder bei Atrophie des Retinalen Pigmentepithels (RPE) der Fall sein kann (Marmor, 1990).

1.5. MORPHOLOGIE UND KLASSIFIKATION DER AMD

Es werden eine atrophe und eine exsudative Form der AMD unterschieden. Beide gehen mit erheblichem Verlust der zentralen Sehschärfe einher. Das resultierende morphologische Bild ist vielgestaltig.

Die atrophe, trockene Form ohne Exsudationen ist die weitaus häufigere Form und zeigt einen langsam progredienten Verlauf. Typische Läsionen sind Drusen, die sich als weißlich-gelblich fleckförmige Aufhellungen der Netzhaut darstellen. Im Bereich des RPE können sich zudem Areale mit vermehrter Pigmentierung oder Atrophiezonen zeigen. Diese Zeichen gelten als Frühmerkmale der AMD. Von pathologischen Veränderungen zu unterscheiden, sind isoliert auftretende harte Drusen, die als altersgerechte Degenerationserscheinungen zu werten sind.

Flächige atrophe Areale machen das Bild der Geographischen Atrophie aus, das irreversible Endstadium der trockenen Form.

Die exsudative bzw. feuchte, neovaskuläre Form der AMD ist die seltenere, jedoch foudroyante Form, da sie rasch destruktiv voranschreitet. Hierbei entstehen subretinale chorioidale Neovaskularisationen, welche die Bruch-Membran durchbrechen und zu serösen und hämorrhagischen Abhebungen der Netzhaut führen. Nach einer Phase der Aktivität sind hier subretinale Vernarbungen, Junius-Kuhnt genannt, vorzufinden.

Gemäß der Bird-Klassifikation (Studiengruppe um den Londoner Retinaspezialisten Alan Bird, The International Age-related Maculopathy Epidemiological Study Group) wird eine frühe Form, die altersbedingte Makulopathie (*age-related maculopathy, ARM*), von der späten Form, der altersbedingten Makuladegeneration (*age-related macular degeneration, AMD*), unterschieden (Bird *et al.*, 1995).

1.6. ÄTIOLOGIE DER AMD

Der AMD liegt ein multifaktorielles Geschehen zugrunde. Dazu gehören im Wesentlichen die Alterung des RPE mit der Entstehung von Drusen, die Lipofuszingenese und dessen Speicherung im RPE, oxidativer Stress (durch Licht, Rauchen), hydrodynamische Veränderungen v.a. im Bereich der Bruch-Membran, hämodynamische Veränderungen im chorioidalen Blutfluss, eine mögliche Verursachung durch Mutationen und/oder Polymorphismen im Genom sowie subklinische chronische Entzündungen.

Bereits Anderson und Hageman hatten die Mitbeteiligung von zum angeborenen Immunsystem gehörenden Proteinen aus der Komplementkaskade an der Drusenentstehung postuliert. Das Vorhandensein von Zellschutt des RPE und dendritischer Zellen, Immunglobuline, Klasse-II-Antigene sowie Aktivatoren, Regulatoren wie der Komplementfaktor H und eine Vielzahl weiterer Komponenten des Komplementsystems konnten in Drusen nachgewiesen werden (Mullins *et al.*, 2000; Crabb *et al.*, 2002).

Zudem wird vermutet, dass auch das C-reaktive Protein (CRP) eine pathophysiologische Rolle bei der Entstehung der AMD spielt. Erhöhte CRP-Spiegel konnten in verschiedenen Studien positiv mit dem Vorhandensein und der Progression von AMD korreliert werden (Seddon *et al.*, 2004; Seddon *et al.*, 2005; Johnson *et al.*, 2006). Vermehrtes Vorkommen von CRP in der Chorioidea kann das Anzeichen einer chronischen Entzündungsreaktion durch eine mutationsbedingte eingeschränkte Hemmung durch Faktor-H sein (Johnson *et al.*, 2006).

Als offenkundig gilt der Risikofaktor Alter, da eine altersbedingte makuläre Degeneration in jungen Jahren nicht auftritt. In der Jugend sind es vielmehr dominant vererbte Makulaerkrankungen, die sich bereits sehr früh manifestieren (z.B. Doyne-Chorioidose, North-Carolina-macular-Dystrophie, Zermatt-macular-Dystrophie, Malattia leventinese, Sorsby-Fundusdystrophie).

Nahezu gesichert und einzig modifizierbarer Risikofaktor ist der Nikotinkonsum. Epidemiologische Studien von Chan und Delcourt *et al.* zeigten eine positive Korrelation zwischen Nikotinabusus und einem erhöhten Risiko für die Entwicklung einer AMD (Chan, 1998; Delcourt *et al.*, 1998). Es wird angenommen, dass Rauchen eine Reduktion der die Makula vor Sauerstoff-Radikalen schützenden Serum-Antioxidantien bewirkt.

Zudem wird der Komplementfaktor H durch Nikotin gehemmt (Mullins *et al.*, 2000; Crabb *et al.*, 2002).

Die Arbeitsgruppen um Hammond und Sastry vermuten, dass die Konzentration von makulärem Pigment durch Rauchen um ca. 50% reduziert wird. Nikotin und Cotinin induzieren die retinale Phospholipase A2, welche die Bildung von Entzündungsmediatoren wie Prostaglandin und Leukotrien und somit dauerhaften Entzündungsreiz bewirkt (Hammond *et al.*, 1996; Sastry & Hemontolor, 1998).

Licht-induzierte Schädigung des RPE ist abhängig von der Expositionsdauer, der Wellenlänge des Lichts, dem Alter, dem retinalen Sauerstoffgehalt, genetischen Faktoren und endogenen Chromophoren. Exogene Chromophore wie Amiodaron, Chloroquin, Phenothiazin, Lithium verstärken lichtinduzierte toxische Schädigungen (Terman *et al.*, 1990). Aus phototoxischen Reaktionen entstehender Zellschutt wiederum provoziert eine Immunantwort und chronische Entzündungsreaktion (Savill *et al.*, 2002; Kim *et al.*, 2004; McGeer & McGeer, 2004).

Weitere Studien zeigen einen negativen Effekt eines erhöhten Body Mass Index (AREDS, 2001; van Leeuwen *et al.*, 2005; Scholl *et al.*, 2007) und nutritiver Faktoren (Smith *et al.*, 2001; Tomany *et al.*, 2004; Scholl *et al.*, 2007). Zudem werden Zusammenhänge mit Herz-Kreislaufkrankungen als Risikofaktor diskutiert (Holz, 2003).

1.7. PATHOPHYSIOLOGIE DER AMD

Das Schema zeigt eine Übersicht über die pathophysiologischen Vorgänge bei der Entstehung der AMD.

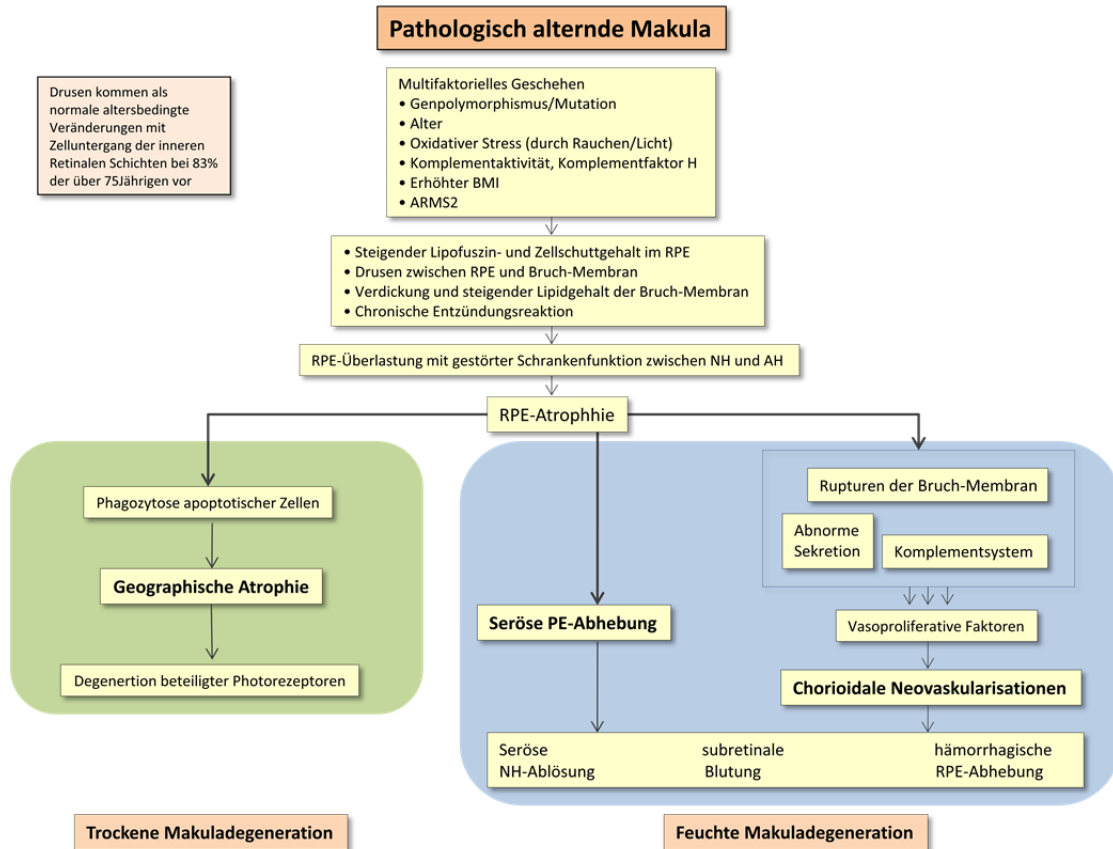


Abb. 7: Pathophysiologie der AMD (in Anlehnung an (Ziegler, 2004)).

Die Bruch-Membran kalzifiziert im Alter zunehmend und weist bei 90Jährigen die doppelte Dicke wie bei 10Jährigen auf. Bis zum 30. Lebensjahr enthält sie keine Lipide. Im hohen Alter zeigt sich jedoch eine recht hohe Lipidkonzentration. Dies und die Zunahme von Zellschutt- und Kollagenablagerungen haben eine verminderte Permeabilität für Flüssigkeiten zur Folge (Lyda *et al.*, 1957; Bird & Marshall, 1986; Pauleikhoff *et al.*, 1990; Holz *et al.*, 1994a; Starita *et al.*, 1996; de Jong, 2006). Zudem bleiben größere Partikel wie z.B. Lipofuszingranula in der netzartigen Membran hängen, was ebenfalls zur Minderung der Filterfunktion führt. Aufgrund einer Dickenzunahme mit unzureichendem Stofftransport von Pigmentepithelzellen durch die Bruch-Membran zur Aderhaut hin wird

die Akkumulation von Abfallstoffen bedingt und die Entstehung von Drusen begünstigt (Feeney, 1973; Pauleikhoff *et al.*, 1990).

Eine endotheliale Dysfunktion in chorioidalen Gefäßen, die aus einer folgenden, anhaltenden Entzündungsreaktion resultieren, kann die Pathogenese der AMD zusätzlich verstärken. Die Gruppe um Hageman veröffentlichte 2001 eine Arbeit, in dem die Theorie aufgestellt wurde, dass aufgrund einer lokalen, chronischen Entzündung über Jahre hinweg kein „Normalzustand“ im Milieu mehr erreicht wird, sondern ständig erhöhte Immunaktivität vorliegt. Sie vermuteten eine genetische Prädisposition (Hageman *et al.*, 2001).

Aufgrund lokaler retinaler Ischämien werden vasoproliferative Substanzen freigesetzt. Chorioidale Kapillaren können durch die Spalten der Bruch-Membran hindurch in die Netzhaut einsprossen und Neovaskularisationen und subretinale Blutungen bedingen (feuchte AMD). Derartige Neovaskularisationen sind nur histologisch nachweisbar und imponieren funduskopisch als Areale mit fokalen Pigmentepithelproliferationen (Miller *et al.*, 1986). Bleibt die Entstehung von Neovaskularisationen trotz Minderversorgung durch eine verdickte Bruch-Membran aus, kann es zur Netzhaut-Atrophie kommen (trockene AMD). Die Entstehung dieser geographischen Atrophie ist langsam. Sie beginnt zumeist perifoveal und bezieht die Fovea dann mit ein, wenn mehrere dieser Areale konfluieren, wodurch das zentrale Sehvermögen verloren geht.

1.8. DRUSEN

Drusen sind extrazelluläre Ablagerungen zwischen der Basalmembran des RPE und der Bruch-Membran. Sie sind im hohen Alter physiologisch und werden auch in Zusammenhang mit chorioretinalen Pathologien wie der AMD gebracht. Sie kommen jedoch bei ca. über 80% der über 75jährigen als normale, altersbedingte Veränderung vor. Man unterscheidet harte von weichen Drusen. Harte Drusen zeigen einen Durchmesser von $<63\mu\text{m}$ mit zumeist scharfer Abgrenzung; weiche Drusen sind hingegen größer und unscharf begrenzt. Die zumeist aus Phospholipiden bestehenden harten Drusen stehen in keinem Zusammenhang mit altersbedingten Makulaveränderungen. Das Vorhandensein weicher Drusen korreliert mit dem Risiko der Entstehung einer AMD bzw. begünstigt sie sogar: Sie bestehen zumeist aus neutralen Lipiden. Weiche Drusen wirken als Diffusionsbarriere für Sauerstoff, Glukose und andere nutritive oder regulatorische, serumassoziierte Moleküle im Stoffwechsel der RPE-Zellen (Pauleikhoff *et al.*, 1994). Diskutiert wird auch die entzündungsmulatorische Entstehung von Drusen (Mullins *et al.*, 2000; Crabb *et al.*, 2002). Da es von der Chorioidea abgeschnitten ist, atrophiert das Pigmentepithel oberhalb von Drusen und reagiert mit Proliferation (Green *et al.*, 1985; Miller *et al.*, 1986). Die Drusen werden durch umliegendes Epithel resorbiert, wobei depigmentierte Areale entstehen (Sarks *et al.*, 1988). Durch Degeneration der darüber liegenden Photorezeptoren wird das Sehvermögen deutlich beeinträchtigt.

1.9. GENETIK DER AMD

Die AMD zählt zu den „multifaktoriellen“ bzw. „quantitativen“ Erkrankungen, deren Phänotyp nicht monogen ist und daher als „komplexe Krankheit“ zu verstehen ist. Genotyp und Phänotyp sind hierbei jedoch nicht deckungsgleich. Der Genotyp kann zufällig bzw. durch Umweltfaktoren oder Wechselwirkungen mit anderen Genen beeinflusst sein und zu verschiedenartig ausgeprägten Phänotypen führen. Möglicherweise bestimmen auch verschiedene Genotypen einen einzelnen Phänotyp. Diesbezügliche Beziehungen gilt es noch darzustellen (Scholl *et al.*, 2007).

Erste Hinweise auf genetische Komponenten in der Ätiologie der AMD ergaben sich aus Zwillings- und familiären Aggregationsstudien (Heiba *et al.* 1994; Ferris, 1983; Klaver *et al.*, 1998). Dabei konnte auf bekannte Gene hereditärer Retinadystrophien (z.B. Morbus Best, Morbus Stargardt, Sorsby Fundusdystrophie und Doyme Honeycombsche Retinadystrophie) Bezug genommen werden, da eine phänotypische Ähnlichkeit mit dem klinischen Bild der AMD besteht.

So gelang es Fisher *et al.*, im Rahmen einer Metaanalyse von insgesamt 6 Studien die Gen-Orte mit der größten Signifikanz für AMD aufzeigen. Diese liegen im Bereich 1q31 und 10q26 (Fisher *et al.*, 2005).

Seit dem Jahr 2005 konnten durch eine systematische Untersuchung der chromosomalen Region 1q31 vier voneinander unabhängige Gruppen zeigen, dass eine genetische Variante des Komplementfaktors H (CFH) für die Prädisposition für AMD mitverantwortlich ist (Edwards *et al.*, 2005; Hageman *et al.*, 2005; Haines *et al.*, 2005; Klein *et al.*, 2005; (Edwards, 2008). Damit kann die Beteiligung des Immunsystems an der Pathogenese der AMD als gesichert gelten. Das komplexe Komplementsystem bietet dem menschlichen Organismus umfangreichen Schutz vor pathogenen Einflüssen. Die Funktion des CFH ist es, Teilkomplemente zu inaktivieren und initiierende Faktoren wie das C-reaktive Protein zu hemmen.

Im CFH-Gen konnte ein Austausch von Thymin (T) durch Cytosin (C) an Nukleotidposition 1277 aufgedeckt werden, welcher einen Austausch von Tyrosin durch Histidin an Aminosäureposition 402 bewirkt (Y402H-Polymorphismus). Individuen mit nur einer Kopie des Histidin-Allels haben ein 2- bis 4-fach erhöhtes Risiko, an einer AMD zu erkranken. Homozygote besitzen sogar ein 5- bis 7-faches Risiko. Sie zeigen zudem ein erhöhtes Risiko für ein bilaterales Auftreten von Spätstadien der AMD (Vingerling *et al.*,

1995). Raucher, die homozygot für CFH-Polymorphismen sind, haben im Vergleich zu nicht rauchenden Nicht-Trägern (Risiko von 7,6) ein deutlich erhöhtes Risiko von 34,0, eine Spätform der AMD zu entwickeln (Hammond *et al.*, 1996; Sastry & Hemontolor, 1998).

Weiterhin konnte gezeigt werden, dass das CFH-Gen noch weitere sogenannte single nucleotide polymorphisms (SNPs) besitzt, die von ähnlicher Bedeutung wie der Y402H-Polymorphismus sein könnten. Das Risiko für die AMD wird also durch verschiedene genetische Varianten im Bereich des CFH-Genortes moduliert (Klein *et al.*, ; Li *et al.*, 2006).

Bei der AMD-assoziierten Faktor-H-Mutation kommt es zu keinem vollständigen Funktionsversagen des Faktors. Die Mutationen liegen im Bereich der Heparin-Bindungsstellen. Es wird vermutet, dass hier die Faktor-H-Funktion nur in dem Maße eingeschränkt ist, dass es zu einem leicht erhöhten Alternativumsatz kommt. Über Jahre hinweg kommt es in anfälligen Geweben (z.B. der Makula) zu einer Anhäufung von Komplementtrümmern. CFH wird dabei nicht nur im RPE-Chorioidea-Komplex abgelagert, sondern auch exprimiert (Oppermann *et al.*, 2006).

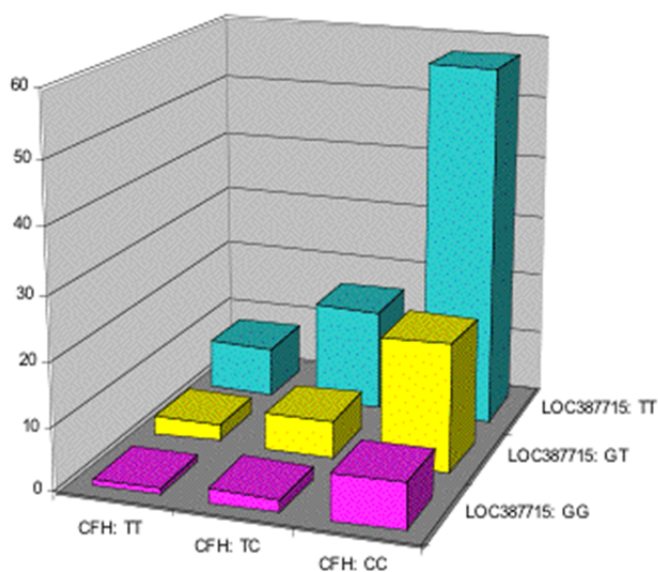


Abb. 8: Zwei-Lokus-Genotyp-spezifisches Erkrankungsrisiko für die Varianten LOC387715 (A69S) und CFH (Y402H) nach Rivera *et al.* Die Ordinate zeigt den Faktor, um den das Risiko für AMD erhöht ist, wenn die betreffenden Genotypen vorliegen.

Weitere unabhängige Studien konnten innerhalb von 10q26 den PLEKHA1/LOC387715-Lokus als zweiten wesentlichen, zur AMD-Pathogenese beitragenden Gen-Ort aufzeigen.

Dabei weisen Homozygote für die kodierende SNP-Variante A69S ein 8-fach erhöhtes AMD-Risiko gegenüber Kontrollen auf. Die Ergebnisse weisen damit auf einen unabhängigen Anteil der Effekte durch die Risikoallele LOC387715 (Ala69Ser) und CFH (Tyr402His) zum AMD-Gesamtrisiko hin (Rivera *et al.*, 2005; Fritsche *et al.*, 2008).

Gold *et al.* ist es gelungen, das AMD-Risiko erhöhende sowie erniedrigende Genvariationen im Bereich zweier Gene des Komplementsystems nachzuweisen. Durch eine Kandidatenanalyse zeigten sie Faktor B (BF) und Komplementkomponente 2 (C2) auf (Gold *et al.*, 2006). Die Mitarbeiter um Seddon konnten in einer großen Replikationsstudie für die Risikogene CFH, LOC397715 und BF zeigen, dass 10% der Bevölkerung ein circa 40-fach erhöhtes AMD-Risiko aufweisen und etwa 1% der Bevölkerung, der jeweils für alle drei Genorte homozygot ist, ein 285-fach erhöhtes Risiko (Maller *et al.*, 2006). Ferner konnte ein weiteres, das Komplement C3-Protein kodierendes Risikogen aufgedeckt werden (Maller *et al.*, 2007; Yates *et al.*, 2007). Damit ist zu erwarten, dass die Erkenntnisse um die Rolle der genetischen Faktoren und deren zelluläre Funktion in der Netzhaut weiterhin an Bedeutung für die klinische Betreuung von AMD-Patienten gewinnen wird.

APOLIPOPROTEIN E UND ASSOZIATION MIT M. ALZHEIMER

Das den Transport von Cholesterin und Lipiden regulierende Apolipoprotein E ist das dominierende Apolipoprotein im zentralen Nervensystem und mit einigen degenerativen Erkrankungen des ZNS, z.B. dem Morbus Alzheimer, assoziiert. Es scheint damit eine bedeutende Rolle bei neurodegenerativen Prozessen zu spielen. Der Nachweis von ApolipoproteinE in Drusen konnte den Verdacht der Beteiligung an der AMD-Pathogenese verhärteten. Dabei ist der genaue Mechanismus bislang unklar. Es existieren drei Isoformen des ApolipoproteinE, die auf 19q13.2 kodiert werden und durch Aminosäureaustausch in Position 112 und 158 definiert sind: Die Allele E2, E3 und E4 zeigen die Kombinationen Cystein/Cystein, Cystein/Arginin und Arginin/Arginin. Dabei ist E3 mit 77% die vorherrschende Variante in der kaukasischen Bevölkerung. E2 und E4 machen circa 8 bzw. 15% aus. Eine Metaanalyse konnte zeigen, dass das AMD-Risiko für E4-Träger um etwa 1,5 niedriger ist als für E3-Träger, während es für E2-Träger um circa 30% erhöht ist. Erstaunlich ist, dass bei anderen Alterserkrankungen wie z.B. Morbus Alzheimer E4 keine protektive, sondern Risiko-erhöhende Wirkung zeigt (Klaver *et al.*, 1998; Malek *et al.*, 2005).

1.10. LIPOFUSZIN

Lipofuszin (LF) ist ein endogenes Pigment, welches aus oxidierten Proteinen und Lipidclustern besteht. Es akkumuliert physiologisch oder auch krankheitsbedingt in Herzmuskel-, Leber- und Nervenzellen. Erstmals erkannt wurden LF-Granula 1842 in seziierten menschlichen Neuronen (Koneff, 1886).

LF-Granula imponieren lichtmikroskopisch als unregelmäßig begrenzte, gelblich-bräunliche, von einer Membran umgebene Einschlüsse mit einem Durchmesser von ca. 10-20nm. Von mindestens zehn bekannten Fluorophoren hat die im Alter häufigste Fluorophore ihr Emissionsmaximum bei Exzitation mit 450 – 500nm im orange-roten Bereich (Docchio *et al.*, 1991). Beim Gesunden macht LF im Alter von 30 Jahren ca. 8-10%, im höheren Alter ca. 20% des Zellvolumens aus. Im perifoveolären Bereich der Makula findet sich mit zunehmendem Alter die höchste Konzentration an LF. Foveolär ist die Konzentration eher gering, da hier die RPE-Zelle durch das luteale Pigment vor oxidativem Schaden geschützt wird. (Weiter *et al.*, 1988) Wird ein kritischer Wert überstiegen, kann die intrazelluläre LF-Konzentration zum Zelltod führen. (Feeney, 1973; Katz *et al.*, 1978).

Im Rahmen der AMD und hereditären Makulopathien kommt es zu einer übermäßigen Ansammlung von LF-Granula. Die genaue Ursache der Lipofuszinogenese ist unklar.

Bei der LF-Entstehung spielt oxidativer Stress eine bedeutende Rolle. In allen stoffwechselaktiven Geweben wie dem RPE fallen in großer Menge freie Radikale an, welche zu oxidativen Schäden an Zellorganellen und Enzymen führen (Fliesler & Anderson, 1983). Ebenso werden für die DNA-Synthese verantwortliche Proteine durch oxidativen Stress geschädigt, sodass es zur Entstehung defekter Enzyme kommt, die somit zu fehlerhaften chemischen Reaktionen und Anhäufung unvollständig verdauter Stoffwechselprodukte führen. Zum Schutz gegen freie Radikale besitzen Zellen Enzyme wie z.B. die Superoxiddismutase, die Katalase oder die Glutathionperoxidase. Eine Abnahme der Aktivität derselben mit zunehmendem Alter ist physiologisch (Newsome *et al.*, 1994).

LF entsteht als Nebenprodukt im Sehzyklus. Die Hauptkomponente des LF ist das Retinoid A2E. Im Jahr 2000 konnten Suter *et al.* zeigen, dass bei Erreichen einer bestimmten Konzentration im RPE, A2E durch Inhibition der lysosomalen

Protonenpumpe und Zerstörung von DNA und mitochondrialen Membranen zum Zelluntergang führt (Suter *et al.*, 2000).

Das bisher vor allem in der Chemoprävention von Krebserkrankungen eingesetzte Fenretinide (4-hydroxy(phenyl)retinamide) soll eine verringerte Akkumulation von Lipofuszin durch Reduktion von Retinol und dessen toxischer Abbauprodukte bewirken (Abb. 8). Damit wird die Bildung von Drusen unterhalb des Retinalen Pigmentepithels reduziert. Infolgedessen wird der Degenerationsprozess der Makula verlangsamt (Vogel R., 2009).

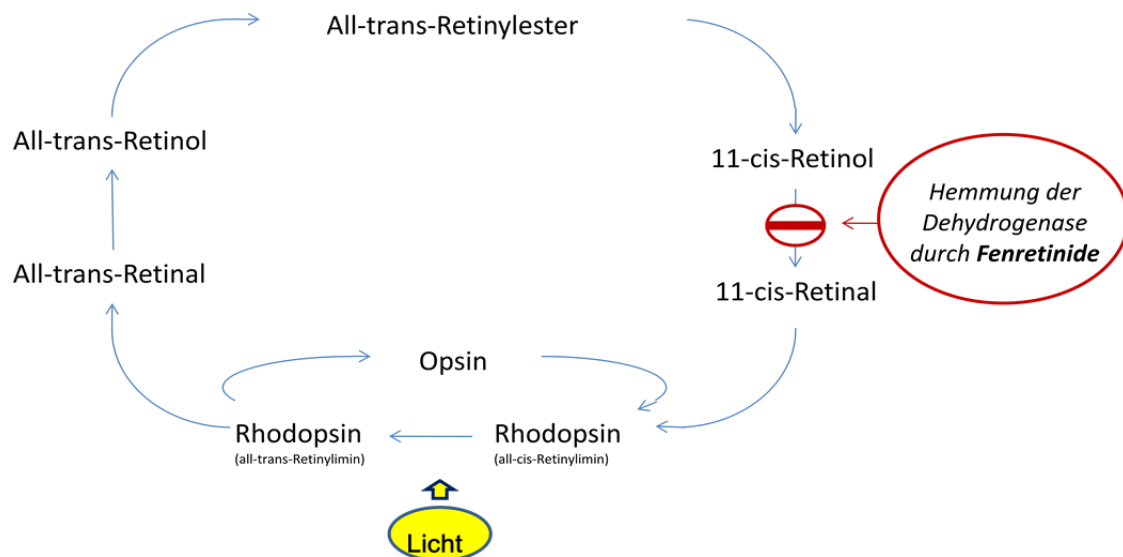


Abb. 9: Vereinfachte Darstellung der Wirkung von Fenretinide im Rhodopsin-Retinal-Zyklus

1.11. AUTOFLUORESCENZ AM FUNDUS MITTELS SCANNING-LASER-OPHTHALMOSKOP

Die Autofluoreszenz (AF) am Augenhintergrund wird durch die LF-Granula enthaltenen Fluophoren bedingt. Diese konnten 1995 erstmalig durch Delori und von Rückmann mit Hilfe des Scanning Laser Ophthalmoskops in vivo dargestellt werden (Delori *et al.*, 1995a; von Ruckmann *et al.*, 1998; Bindewald *et al.*, 2005). Wird LF mit Licht aus dem kurzwelligen, blauen Spektrum angeregt, emittieren LF-Granula charakteristische goldgelbe Fluoreszenzen (Feeney, 1978). Für dieses AF-Phänomen sind mindestens zehn verschiedene Fluorophore verantwortlich (Eldred, 1993). Dass für die in vivo-Autofluoreszenzen hauptsächlich das LF im RPE verantwortlich ist, konnte Delori mittels Fundusspektrophotometrie zeigen (Delori *et al.*, 1995a; Delori *et al.*, 1995b).

Normale AF

Bei normalem Augenhintergrund zeigt die AF im Bereich der Makula, des Sehnervenkopfes und der retinalen Gefäße eine verminderte Intensität (*Abb. 10*). Die höchste AF-Intensität stellt sich in der parafovealen Region dar, mit einer Reduktion im Bereich der Fovea und einer Abnahme zur Peripherie hin. Die relative AF-Intensitätsabnahme im Makulabereich ist durch partielle Absorption durch intraretinales gelbes Pigment (u.a. Lutein und Zeaxanthin) sowie durch eine relativ geringere Dichte an LF-Granula und eine Absorption durch die hohe Konzentration an makulärem RPE-Melanin bedingt (Wing *et al.*, 1978; Weiter *et al.*, 1986; Delori *et al.*, 1995a).

Schon in dieser physiologischen AF-Intensitätsverteilung zeigen sich deutliche interindividuelle Unterschiede auf.

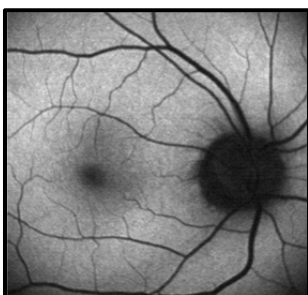


Abb. 10



Abb. 10

Abb. 10a/b AF-Bild und Fundusfoto bei normalem AF-Muster

AF bei Makulaerkrankungen

AMD

Augen mit AMD zeigen vielfältige AF-Veränderungen, deren funduskopisches Erscheinungsbild häufig gleichförmig imponiert. Die Veränderungen stehen in Zusammenhang mit verschiedenen Phänotypen (Allikmets *et al.*, 1997; Solbach *et al.*, 1997; von Rückmann A, 1997; Holz *et al.*, 1999a). Umschriebene Areale mit vermehrter AF sind bei der Hälfte der Patienten mit Drusen als den Frühmanifestationen der Erkrankung zu erkennen (Holz *et al.*, 1994b; Holz *et al.*, 1997). Bei chorioidalen Neovaskularisationen zeigen sogar über die Hälfte der Patienten derartige Areale mit vermehrter AF. Am häufigsten sind sie bei geographischer Atrophie und disziformen Narben darstellbar. Einige Patienten zeigen ein schmales Band mit erhöhter AF, welche die gesamte Atrophie umgibt. Andere zeigen nur eine oder mehrere fokal vermehrte AF unmittelbar am Rand dieser Atrophien. Wiederum andere Augen weisen eine diffus erhöhte, jedoch nach peripher abgrenzbare AF außerhalb der Atrophiezone auf. Verlaufsbeobachtungen durch Holz konnten zeigen, dass neue atrophische Areale und weitere Ausdehnungen von bestehenden Atrophien und damit der Zelltod dort auftreten, wo zuvor eine vermehrte AF darstellbar war (Holz, 2001). Es wird angenommen, dass es sich bei der AMD nicht um eine, sondern um ätiologisch zahlreiche unterschiedliche Erkrankungen mit ähnlichem klinischen Erscheinungsbild handelt. Verhärtet wird diese Annahme dadurch, dass verschiedene AF-Verteilungen im Randbereich der Atrophiezonen für eine Heterogenität auf zellulärer und molekularer Ebene sprechen. Untersuchungen mit begleitender funduskontrollierter Perimetrie konnten zeigen, dass Areale mit vermehrter AF im Randbereich von Atrophien mit Einschränkungen der retinalen Sensitivität einhergehen. Die retinale Sensitivität erlischt vollständig, bevor das betreffende Areal nach einer zunächst vermehrten AF in eine Atrophie übergeht, die sich dann als „schwarzes“ Areal darstellt. Areale mit geographischer Atrophie, in der das RPE und damit autofluoreszentes Material fehlt, sind durch eine erheblich verminderte AF gekennzeichnet.

Durch AMD bedingte fokale Hyperpigmentationen gehen mit einer stark vermehrten, durch den hohen Gehalt an Melanolinopufuszin bedingten korrespondierenden AF-Intensität einher (Solbach *et al.*, 1997).

Im Bereich von Drusen zeigen sich hingegen variable Befunde: Bei einigen Patienten sind Drusen im AF-Bild nicht darstellbar, bei anderen zeigen sie sich als Areale mit

verminderter oder auch vermehrter AF. Insbesondere bei weichen Drusen stellt sich der Randbereich anders dar als das Zentrum derselben (Holz, 2001). Delori et al. konnte bereits 2000 AF-Muster darstellen, die harten und weichen Drusen der Größe zwischen 60 und 175µm entsprachen. Diese Muster zeigten sich charakterisiert durch eine zentral verminderte AF, welche zumeist von einem Ring vermehrter AF umgeben ist (Delori *et al.*, 2000).

Genetisch determinierte Makulaerkrankungen

Der Prozess der exzessiven Akkumulation von LF im RPE stellt eine gemeinsame pathogenetische Endstrecke bei unterschiedlichen genetischen Defekten dar.

Im Rahmen des Morbus Stargardt zeigt sich im Bereich funduskopisch normal erscheinender Netzhaut eine diffus vermehrte AF. Dies spiegelt die histologisch nachgewiesene generelle Überladung des RPE mit LF schon in frühen Lebensjahren wider. Morbus Best und andere Musterdystrophien imponieren durch eine diffus erhöhte AF sowie eine zusätzlich vermehrte Intensität im Bereich funduskopisch gelblich erscheinender Ablagerungen (vitelliforme Läsionen). Hereditäre, bereits in früherem Lebensalter auftretende Drusen weisen im Gegensatz zu Drusen bei AMD ein erhöhtes AF-Signal auf. Dies lässt auf eine andere molekulare Zusammensetzung der weichen Drusen oder eine andere Dichte an LF-Granula im darüber liegenden RPE schließen (von Rückmann A, 1995).

Bei Retinitis pigmentosa und anderen diffusen Photorezeptordystrophien stellen AF-Befunde die sekundären Veränderungen in Höhe des RPE dar. Auch hier ist bei einigen Formen eine Überladung der RPE-Zellen durch LF erkennbar.

Der Vorteil der AF-Darstellung liegt in der Möglichkeit einer sehr präzisen Erfassung alterierter Fundusareale und ist damit insbesondere für Verlaufsuntersuchungen besser geeignet als die konventionellen photographischen Fundusaufnahmen oder Angiographien.

1.12. KLINIK UND DIAGNOSE DER AMD

Frühe Stadien der AMD bleiben vom Patienten häufig unbemerkt, sie fallen bei routinemäßigen augenärztlichen Untersuchungen im funduskopischen Bild auf und bieten Anlass zu weiteren regelmäßigen Kontrollen.

Im Verlauf bemerken AMD-Patienten eine zunehmende Minderung der zentralen Sehschärfe. Bilder im zentralen Gesichtsfeld, z.B. das Gesicht des Gesprächspartners, Buchstaben beim Lesen, zeigen sich unscharf und wie durch einen grauen Schleier (Abb. 11). Die Sehschärfe kann zu diesem Zeitpunkt schon stark reduziert sein (Visus $<0,5$).



Abb 11.: Subjektiver Seheindruck bei trockener AMD mit zentraler Aussparung

Zumeist sind beide Augen betroffen, typisch ist dabei ein asymmetrischer Befall.

Das Auftreten von Metamorphopsien (Abb. 12) spricht für die Progression der trockenen in die feuchte Form der AMD mit Auftreten von Neovaskularisationen. Dies kann plötzlich auftreten und wie auch bei Zelluntergang im Rahmen der „trockenen“, geographischen Atrophie mit einem deutlichen Visusverlust unter Visus 0,1 bzw. einem Verlust der zentralen Sehschärfe einhergehen, was sich in einem Zentralskotom äußert.



Abb.12: Subjektiver Seheindruck bei feuchter AMD mit Metamorphopsien

Patienten können sich selbständig regelmäßig anhand des nach dem Erfinder benannten Amsler-Tests beobachten. Aufgrund von Metamorphopsien stellen sich gerade Linien gekrümmt dar. Die Abbildung 13 zeigt die Eigentestkarten beim Erkrankten.

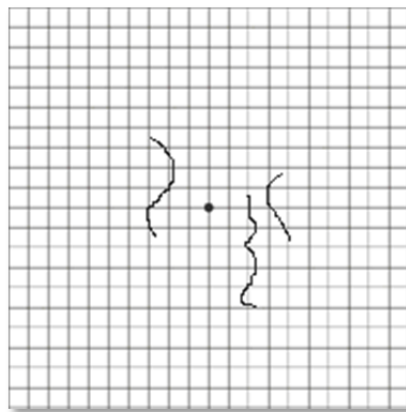


Abb. 13: Amsler Gitter mit Metamorphopsien

Als ergänzende klinische Untersuchungsmethoden bieten sich zur Diagnostik und Beobachtung die Fundusphotographie, die Fluoreszenzangiographie, die optische Kohärenztomographie und die Autofluoreszenzdarstellung an.

1.13. THERAPIEOPTIONEN

Eine kausale Therapie der AMD gibt es bis dato nicht. Gemäß der in der ARED-Studie (Age-related Eye Disease Study) aufgestellten Richtlinien gilt die Nahrungsergänzung als einzige Empfehlung zur Verwendung bei trockener AMD. Demnach wird Patienten mit mittlerem bis hohem Risiko zur Entwicklung einer AMD, die zudem Nichtraucher sind, empfohlen, eine Nahrungsergänzung mit hochdosierten antioxidativ wirkenden Vitaminen und Mineralstoffen (Vitamin C und E, Betakarotinoide) einzunehmen, um einer oxidativen Netzhautschädigung entgegen zu wirken. Ebenso wird dem Spurenelement Zink eine protektive Wirkung zugeschrieben (AREDS, 2001). In einer von Parekh et al. veröffentlichten Studie wurde gezeigt, dass auch Vitamin D eine schützende Wirkung gegen AMD übernimmt (Parekh *et al.*, 2007). Der therapeutische Einfluss von Antioxidantien und in Meeresfischen vorkommenden ω -3-Fettsäuren wurde in verschiedenen Studien kontrovers bewertet, die unterstützende Gabe von Lutein und ω -3-Fettsäuren gilt jedoch als nicht toxisch (Rehak *et al.*, 2008).

Weitere, teils umstrittene Therapieansätze bestehen in der Rheopherese und der Akupunktur. Es gibt in Erprobung befindliche Therapieansätze zur RPE-Translokation und -Transplantation und zur Transplantation von Stammzellen und Netzhautspezifischen Vorläuferzellen und adultem RPE. (ProRetina)

Um es Patienten zu ermöglichen, den Anforderungen des täglichen Lebens so gut wie möglich gerecht werden zu können, stehen eine Vielzahl vergrößernder Sehhilfen zur Verfügung (Fernrohrsysteme, überkorrigierte Lesebrillen, ggf. mit Konvergenzprismen, handgehaltene Lupen, Lesestäbe, „Lesesteine“ und Standlupen, Lupen). Bei sehr hohem Vergrößerungsbedarf können elektronische Sehhilfen in Form von Fernsehlesegeräten vermittelt werden.

Ansatzpunkte für die Behandlung der feuchten Form der AMD liegen in der entzündungshemmenden, antiangiogenetischen oder angiostatischen Therapie.

2. AUFGABENSTELLUNG

Ziel der vorliegenden Arbeit ist die Erstellung einer Klassifikation von AF-Bildern bei Frühstadien der trockenen AMD. Hierzu werden Patienten aus dem AMD-Kollektiv der Augenklinik und Poliklinik des Universitätsklinikums Würzburg rekrutiert und die allgemein üblichen ophthalmologischen Untersuchungen ergänzt durch eine AF-Aufnahme mit einem konfokalen Scanning Laser Ophthalmoskop.

Die aus den Untersuchungen hervorgehenden Aufnahmen sollen standardisiert bearbeitet, vergleichend beurteilt und dann definierten Mustergruppen zugeordnet werden. Weiterhin wird die Verteilung und Häufung dieser unterschiedlichen Muster statistisch analysiert.

Die Beschreibung und Klassifikation von AF Mustern von Augen mit Frühstadien der AMD dient der Vereinheitlichung und Standardisierung der Nomenklatur bei AMD. Anhand standardisierter Muster sollen Phänotypen AMD-Frühstadien und zukünftig auch Genotypen zugeordnet werden.

3. MATERIAL UND METHODEN

Im Rahmen dieser Arbeit wurden Aufnahmen retinaler Autofluoreszenzen mit dem konfokalen Scanning Laser Ophthalmoscope, dem Heidelberg Retina Angiograph (HRA classic, Heidelberg Engineering, Heidelberg, Deutschland; Abb. 14), bei Patienten mit AMD erstellt. Hierzu rekrutierten wir im Zeitraum 2002-03 insgesamt 88 in Franken geborene und aufgewachsene Patienten im Alter von über 55 Jahren aus unserer Netzhautsprechstunde der Universitäts-Augenklinik Würzburg. Dieser Untersuchung entsprechend der Richtlinien von Helsinki war die Genehmigung durch die Ethikkommission der Universität Würzburg vorausgegangen. Anders als in anderen, mittels Fundusphotographie und Angiographie erstellten Klassifikationen, basiert die hier erarbeitete Einteilung auf Fundusfluoreszenzaufnahmen. Dieses Verfahren zur Darstellung alters- und krankheitsbedingter Veränderungen auf Niveau des RPE wurde von Delori et al. eingeführt (Delori *et al.*, 1995a). Es ist schonend, nicht-invasiv und von nur geringem Zeitaufwand.

Die erfassten Bilder wurden von zwei Untersuchern unabhängig zugeordnet und diskutiert.

Vorausgesetzt wurden klare optische Medien, die einen guten Funduseinblick und eine ausreichende Bildqualität ermöglichten. Die Patienten mussten ein Frühstadium einer AMD auf mindestens einem Auge aufweisen. Ausschlusskriterien waren Patienten mit einer Myopie $> 3\text{dpt}$, ein früheres Bulbustraua oder Entzündung, vorausgegangene chirurgische, medikamentöse, Laser- oder Photodynamische Therapie sowie beeinträchtigende Erkrankungen des Augenhintergrundes (z.B. Retinopathia diabetica).

Die Probanden wurden über den Inhalt und mögliche Konsequenzen unserer Arbeit aufgeklärt und die Einstimmung zur Untersuchung von den Patienten gegeben. Es wurde der Visus für beide Augen ermittelt und EDTA-Blutproben für weitere Studien zu molekulargenetischen Untersuchungen entnommen. Nach Weitstellung der Pupille wurde der Untersuchungsverlauf erklärt und der Proband angehalten, eine möglichst genaue Fixation für eine optimale Bildqualität einzuhalten.

Die AF-Darstellung wird durch verschiedene Faktoren limitiert. Medientrübung (v.a. Linsentrübung), unterschiedliche Pupillenweiten, variable Laserlichtintensität sowie die

Lichtabsorption durch das makuläre Pigment verhindern eine absolute Quantifikation von AF-Signalen, sodass wir diese Kriterien in unserer Klassifikation vernachlässigen.

Bei der Interpretation der AF-Aufnahmen gilt es weiterhin zu berücksichtigen, dass auch andere Strukturen am Augenhintergrund autofluoreszente Eigenschaften besitzen können, wenn auch von geringerer Intensität (Staudt, 2000).

3.1. UNTERSUCHUNGSAPPARATUR



Abb. 14: Untersuchungsapparatur Heidelberg Retina Angiograph (HRA classic, Heidelberg Engineerin), Heidelberg, Deutschland)

3.2. PHYSIKALISCHER HINTERGRUND

Das folgende Prinzip beruht auf den ursprünglichen Entwicklungen von Webb (Webb & Hughes, 1981): Durch eine konfokale Optik wird monochromatisches Licht auf den Augenhintergrund projiziert und reflektiertes Licht aus der jeweiligen Fokusebene durch einen Detektor registriert. Um Autofluoreszenz anzuregen, wird Licht mit einer Wellenlänge von 488nm entsandt und die Emission in einem Wellenlängenbereich über 500nm erfasst, nachdem kurzwelligeres Licht durch einen Sperrfilter ausgeblendet wird (Bellmann *et al.*, 1997). Dieser Sperrfilter unterdrückt das blaue Licht des Argonlasers bei 488nm um den Faktor 10^{-7} , wodurch auch Reflexionen aus der Linsenebene

(Reflexionskoeffizient ca. 1%) unterdrückt werden. Somit tragen Reflexionen aus dem vorderen Augenabschnitt nicht zum entstehenden AF-Bild bei.

Die konfokale Optik minimiert Streufluoreszenz außerhalb des Fokus und erhöht damit den Bildkontrast. Die reflektierte Lichtmenge lässt ein Analogsignal als Bild auf einem Monitor entstehen, welches abgespeichert und bearbeitet werden kann.

3.3. DURCHFÜHRUNG DER UNTERSUCHUNG MIT DEM HEIDELBERG RETINA ANGIOGRAPH

Die Untersuchung wird in medikamentöser Mydriasis (Applikation von Mydriatikum Stulln®, 3 x 1 Tropfen) durchgeführt. Vor Aufnahme eines AF-Bildes wird zunächst die Ausrichtung der Kamera auf die Makula im Infrarot-Modus durchgeführt. Das Bild wird scharf gestellt. Dabei wird eine Bildaufnahme in diesem Modus erstellt. Ist das Bild von Makula mit Papille und den temporalen Gefäßbögen fokussiert, wird auf den Fluoreszenz-Angiographie-Modus umgeschaltet und die Kamerasensitivität manuell kalibriert. Es wird eine Bilderserie erstellt und die gefertigten Bilder im Folgenden direkt auf dem Bildschirm des verarbeitenden Computers dargestellt und als digitale Information gespeichert, um für weitere Analysen und Verarbeitung auf Hardware verfügbar zu sein. Entsprechend einer standardisierten Vorgehensweise angelehnt an die FAM-Studie wurden mindestens 15 retinal fokussierte Aufnahmen in Reflexion und in rotfreiem Licht mit Sensitivitätsanpassung in einer Größe von 30° x 30° - Bildern (die gesamte Makula umfassend) dargestellt. Die neun besten Einzelaufnahmen wurden am HRA addiert und mit einer analysierenden Software (Heidelberg Eye Explorer, HEE, Heidelberg Engineering, Dossenheim, Deutschland) über die „compute-mean“-Funktion automatisch zu einer verstärkten Aufnahme gemittelt. Dies ist notwendig, da die intrinsische AF-Intensität wesentlich schwächer ist als z.B. die Fluoreszenz des exogen zugeführten Farbstoffes Fluoreszein-Natrium.

Die Aufnahmen werden miteinander verglichen und den unten genannten Gruppen entsprechend ihres phänotypischen AF-Musters zugeordnet.

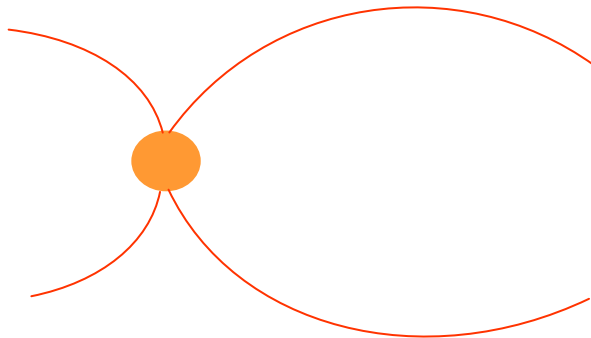
4. ERGEBNISSE

4.1. EINTEILUNG DER AUTOFLUORESZENZBILDER

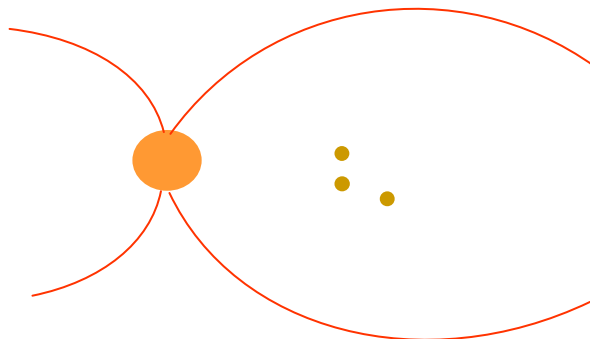
Für die Einteilung der AF-Bilder nutzten wir die Definitionen der „International ARM Epidemiological Study Group“ (Bird *et al.*, 1995). In Anlehnung wurde die Makula mit der Foveola als Zentrum der Retina mit einem Durchmesser von ca. 5500 μm definiert. Als die innere Makula soll das Areal innerhalb eines Kreises von ca. 3000 μm , als äußere Makula das Areal innerhalb von 6000 μm mit der Foveola als Zentrum.

Der Gruppierung der erstellten AF-Bilder wurden sieben verschiedene Muster zugrunde gelegt, welche sich bei verschiedenen Patienten darstellen ließen. Im Folgenden eine schematisierte Darstellung eines normalen Fundusbildes (Abbildung 14) sowie der AF-Muster bei Frühstadien der trockenen AMD (Abbildungen 15-21).

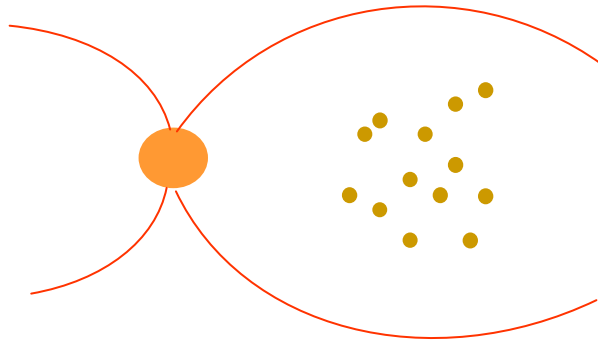
Dargestellt sind linke Augen mit dem Sehnervenkopf und den nasalen sowie temporalen Gefäßbögen.



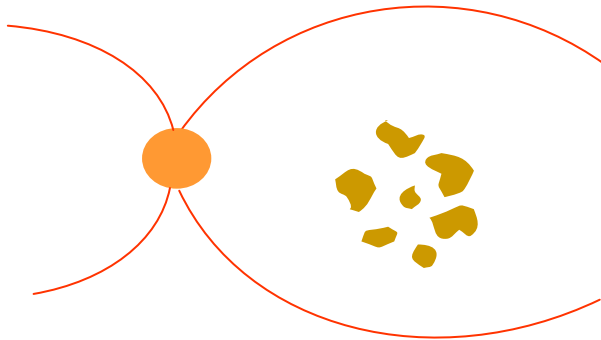
Normales AF-Muster („normal pattern“; *Abb. 15a*)



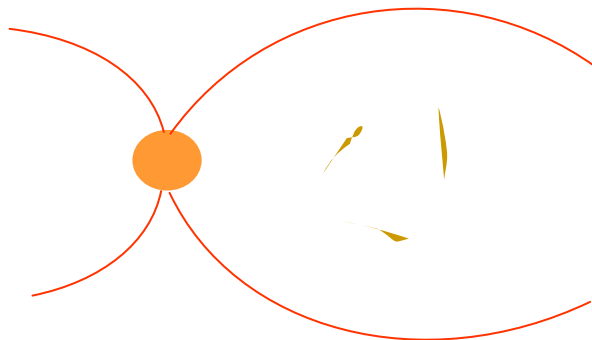
Gruppe 1: Geringgradig verändertes AF-Muster („minimal change pattern“; *Abb. 15b*)



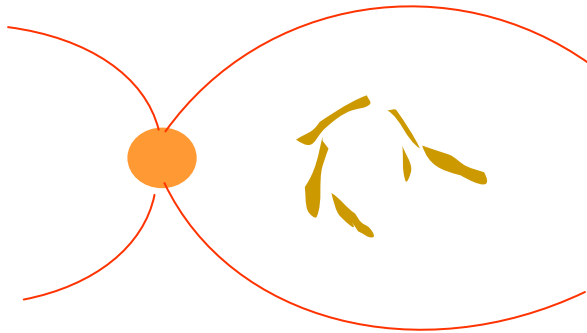
Gruppe 2: Fokal vermehrtes AF-Muster („focal increased pattern“; *Abb. 15c*)



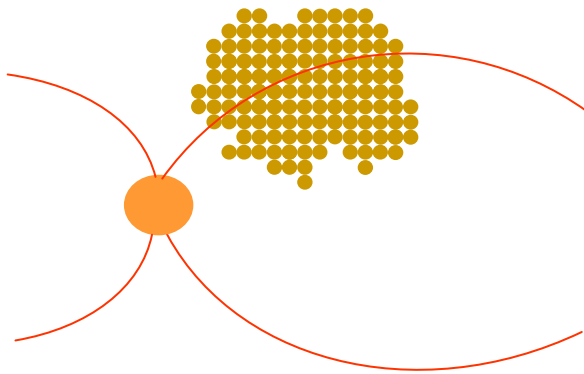
Gruppe 3: Fleckiges AF-Muster („patchy pattern“; *Abb. 15d*)



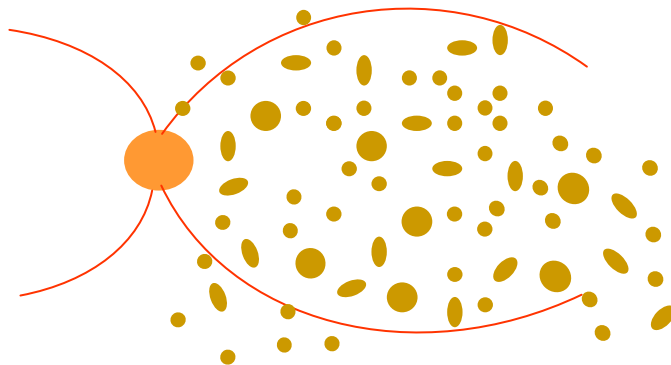
Gruppe 4: Lineares AF-Muster („linear pattern“; *Abb. 15e*)



Gruppe 5: Spitzenähnliches AF-Muster („lace-like pattern“; *Abb. 15f*)



Gruppe 6: Retikuläres AF-Muster („reticular pattern“; *Abb. 15g*)



Gruppe 7: Gesprenkeltes AF-Muster („speckled pattern“; *Abb. 15h*)

4.2. CHARAKTERISIERUNG DER AF-MUSTER

GERINGGRADIG VERÄNDERTES AF-MUSTER.

Augen mit nur geringgradigen Veränderungen zeigen eine nur minimale Zunahme oder Abnahme der Hintergrundautofluoreszenz ohne eindeutiges topographisches Muster.

(Abb 16a)

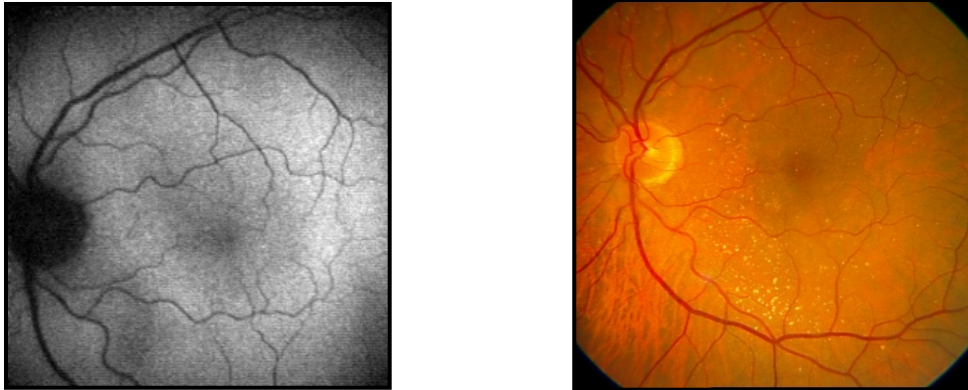


Abb. 16a: AF-Bild und Fundusfoto bei geringgradig verändertem AF-Muster

FOKAL VERMEHRTES AF-MUSTER.

Bei diesem AF-Muster zeigt sich mindestens ein Areal von $<200\mu\text{m}$ Durchmesser mit sichtlicher Zunahme der Autofluoreszenz am Fundus, welche sich deutlich heller als die umgebende Hintergrundautofluoreszenz darstellt. Die Ränder dieses Areals sind klar abgrenzbar ohne allmähliche Abnahme der Fluoreszenz zwischen Augenhintergrund und dem Areal mit erhöhter Autofluoreszenz. Einige Areale mit erhöhter Fluoreszenz können von einem dunkler scheinenden Halo umgeben sein. Diese Areale können mit sichtbaren funduskopischen Veränderungen (z.B. Drusen, fokale Hyperpigmentierungen) korrelieren.

(Abb. 16b)

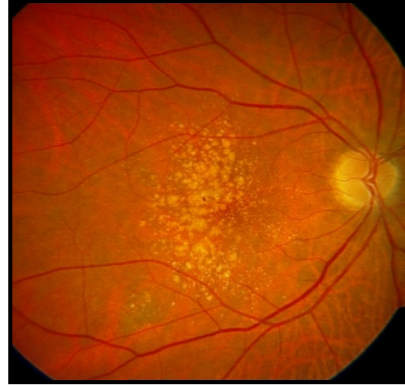
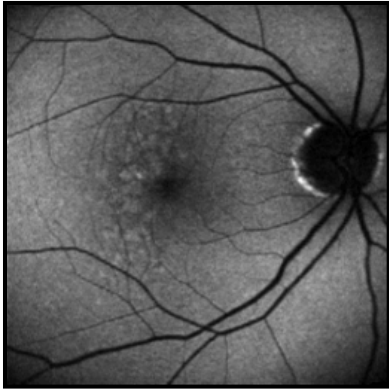


Abb. 16b: AF-Bild und Fundusfoto bei fokalem vermehrtem AF-Muster

FLECKIGES AF-MUSTER.

Dieses AF-Muster definiert sich durch mindestens ein Areal von $>200\mu\text{m}$ Durchmesser mit sichtlicher Autofluoreszenzzunahme, diese sind deutlich heller als der umgebende Hintergrund. Die Ränder dieses Areals sind weniger klar abgrenzbar als bei dem vorausgegangenen AF-Muster. Es zeigt sich ein allmählicher Übergang von der Umgebungsfluoreszenz hin zum fleckigen AF-Muster. Auch dieses AF-Muster kann mit sichtbaren funduskopischen Veränderungen am Augenhintergrund (z.B. Drusen, fokale Hyperpigmentierungen) korrelieren. (**Abb. 16c**)

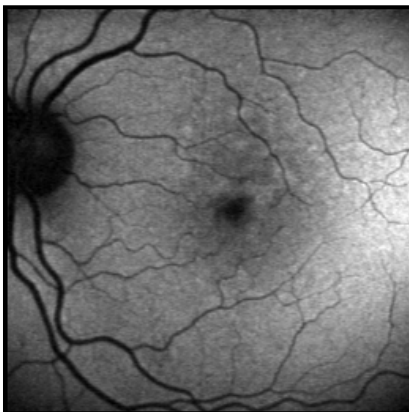


Abb. 16c: AF-Bild und Fundusfoto bei fleckigem AF-Muster

LINEARES AF-MUSTER.

Das lineare AF-Muster definiert sich durch mindestens ein lineares Areal mit deutlich erhöhter Autofluoreszenz. Die Arealränder sind typischerweise gut abgrenzbar ohne dass ein allmählicher Übergang der Fluoreszenz zwischen Augenhintergrund und linearem AF-Muster zu verzeichnen wäre. Funduskopisch korrespondieren diese linearen Muster im Allgemeinen mit hyperpigmentierten linearen Veränderungen. (**Abb. 16d**)

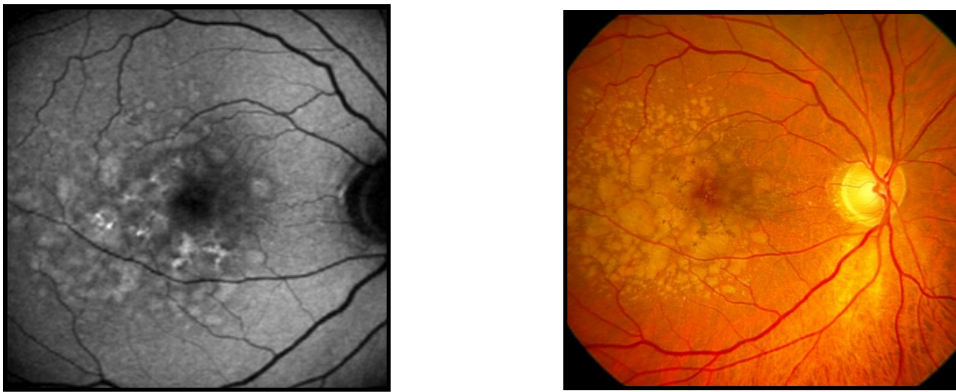


Abb. 16d: AF-Bild und Fundusfoto bei linearem AF-Muster

SPITZENÄHNLICHES AF-MUSTER.

Dieses AF-Muster zeigt multiple sich verzweigende lineare Strukturen erhöhter Autofluoreszenz, die sich in Spitzenformation anordnen. Die Musterränder sind aufgrund der allmählichen Abnahme der Autofluoreszenz vom Zentrum der linearen Strukturen zum umgebenden Augenhintergrund hin zumeist nur schlecht abgrenzbar. Diese spitzenähnliche Konfiguration von erhöhter Fluoreszenz kann mit erkennbaren oder verdeckten funduskopischen Veränderungen korrelieren. (**Abb. 16e**)

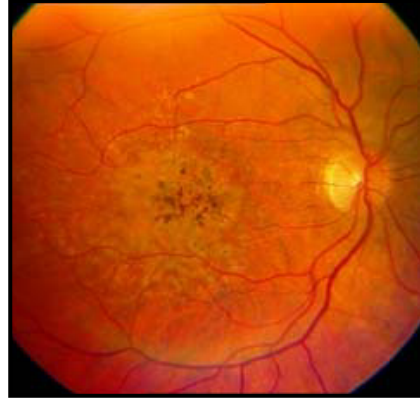
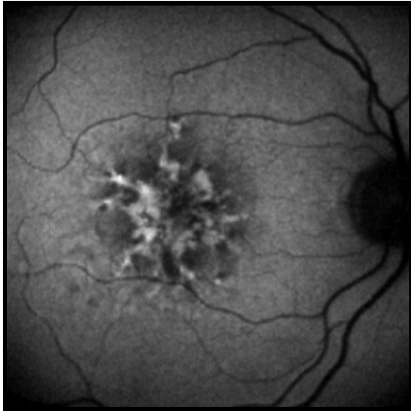


Abb. 16e: AF-Bild und Fundusfoto bei spitzenähnlichem AF-Muster

RETIKULÄRES AF-MUSTER.

Multiple kleine Areale (<200µm Durchmesser) von verminderter Autofluoreszenz charakterisieren das retikuläre AF-Muster. Typischerweise sind die Arealränder aufgrund der Fluoreszenzabnahme vom Zentrum der Läsionen zur Umgebungsfluoreszenz hin nur schwer abgrenzbar. Dieses AF-Muster zeigt sich nicht nur im Bereich der Makula, sondern vornehmlich supero-temporal. Funduskopisch können diese Veränderungen mit zahlreich vorhandenen weichen oder harten Drusen, Pigmentverschiebungen oder nicht erkennbaren anderen Alterationen assoziiert sein. (**Abb. 16f**)



Abb. 16f: AF-Bild und Fundusfoto bei retikulärem AF-Muster

GESPRENKELTES AF-MUSTER.

Das gesprenkelte AF-Muster ist definiert durch das simultane Vorhandensein verschiedenartiger AF-Veränderungen in einem großen Fundusareal. Die Veränderungen reichen über die Makula hinaus und können den gesamten posterioren Fundus einschließen. Typischerweise beinhalten diese Areale multiple kleine Zonen irregulär erhöhter oder verminderter Autofluoreszenz. Die kleinen Zonen konzentrierter erhöhter Autofluoreszenz können sich unterbrochen oder linear darstellen. Hyper- und Hypopigmentationen, konfluierende und nahezu konfluierende Drusen gehören zu den korrespondierenden funduskopischen Veränderungen. (**Abb. 16g**)

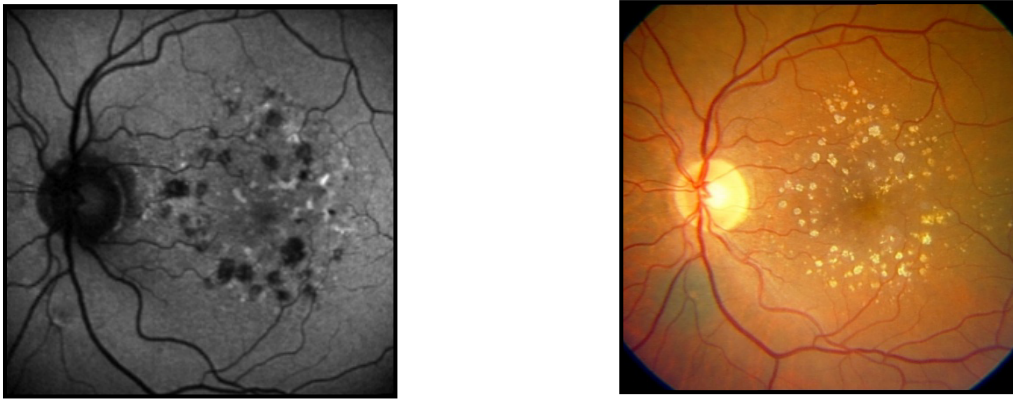


Abb. 16g: AF-Bild und Fundusfoto bei gesprenkeltem AF-Muster

4.3. PATIENTENGUT

Von den zur Erstellung und Klassifizierung von AF-Bildern insgesamt 88 rekrutierten Patienten waren 60 weiblichen sowie 28 Patienten männlichen Geschlechts.

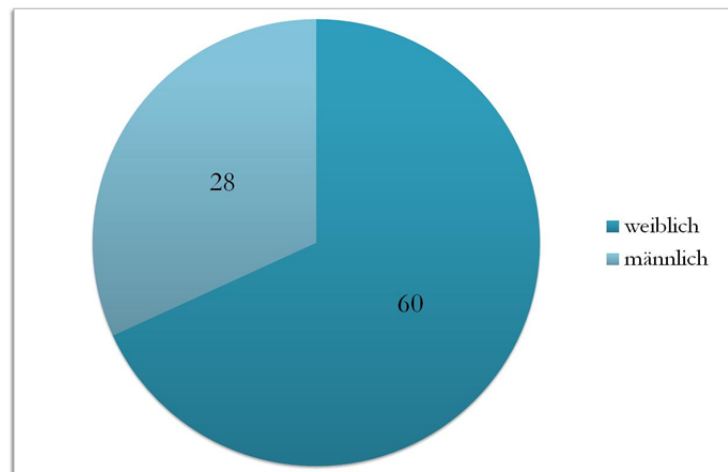


Abb. 17: Geschlechterverteilung der 88 Patienten

Das Durchschnittsalter ebenso wie der Median des gesamten Patientenguts lag bei 75 Jahren. Die jüngste Patientin wies ein Alter von 53, der älteste Patient ein Alter von 90 Jahren auf.

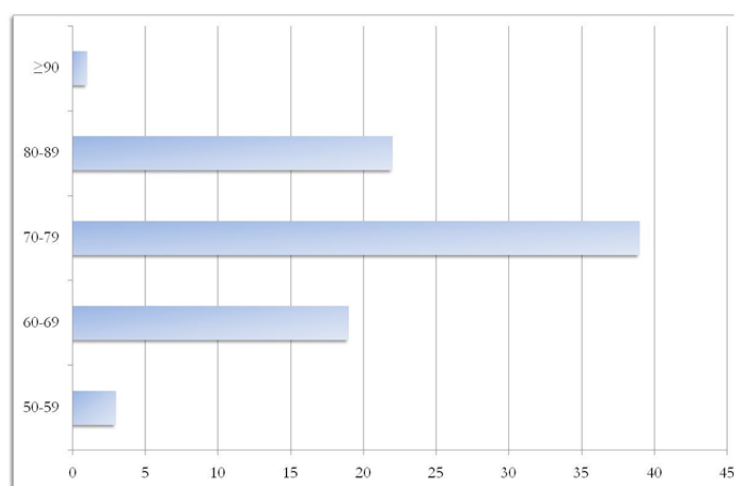


Abb. 18: Altersverteilung der 88 Patienten

4.1. VERTEILUNG DER AF-MUSTER

Es wurden insgesamt 159 Augen von 88 Patienten untersucht. Die folgende Graphik zeigt die Verteilung der ein- bzw. beidseitigen Veränderungen aufgrund einer AMD bei diesen 88 Patienten:

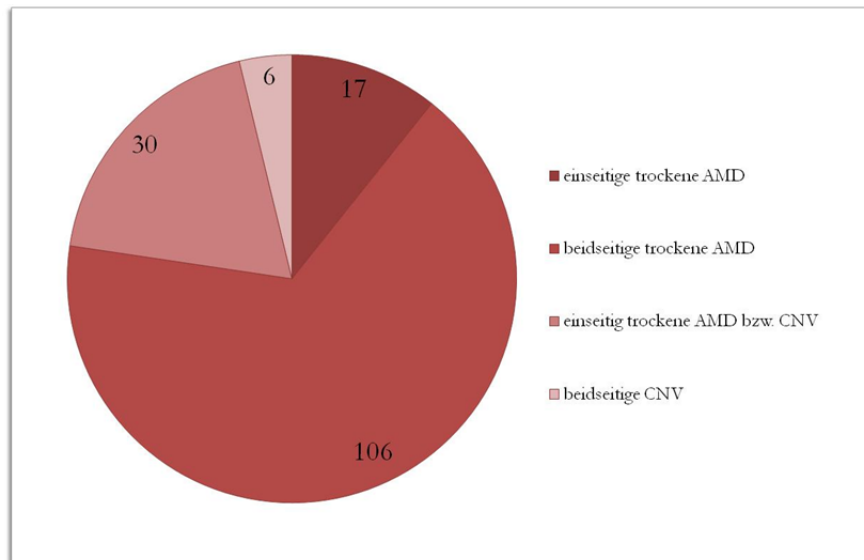


Abb. 19: Häufigkeit ein- bzw. beidseitige Veränderungen bei untersuchten Patienten mit AMD

Alle der insgesamt 159 Augen zeigten Zeichen einer AMD, wobei 136 Augen ein Frühstadium der trockenen AMD auf wiesen. Von den verbleibenden Augen zeigten 21 Augen Veränderungen mit Zeichen der feuchten Makuladegeneration auf – mit chorioidalen Neovaskularisationen bzw. in einzelnen Fällen ein daraus resultierendes Narbenstadium (Abb. 20). Bei drei Patienten zeigten sich im Rahmen der Untersuchung gar beidseitig derartige Veränderungen, sodass die Augen dieser Patienten aus der weiteren Beurteilung ausschieden. Bei einer Patientin zeigte sich beidseits eine geographische Atrophie als Spätstadium einer trockenen AMD, so dass auch diese Patientin aus der weiteren Betrachtung herausgezogen wurde.

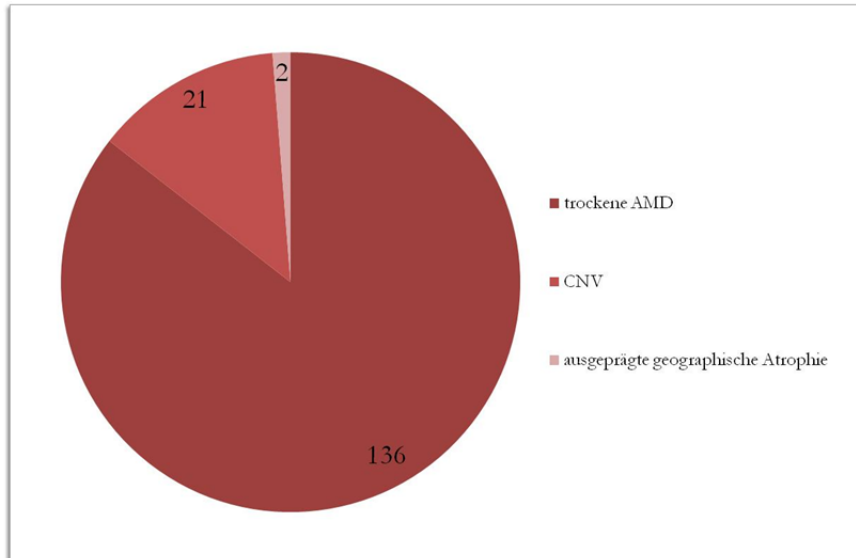


Abb. 20: Verteilung der trockenen Form im Früh-/Spätstadium bzw. der feuchten Form der AMD

Entsprechend unserer Gruppierung von Mustern zeigten die 136 Augen mit Frühstadien der trockenen AMD folgende Verteilung:

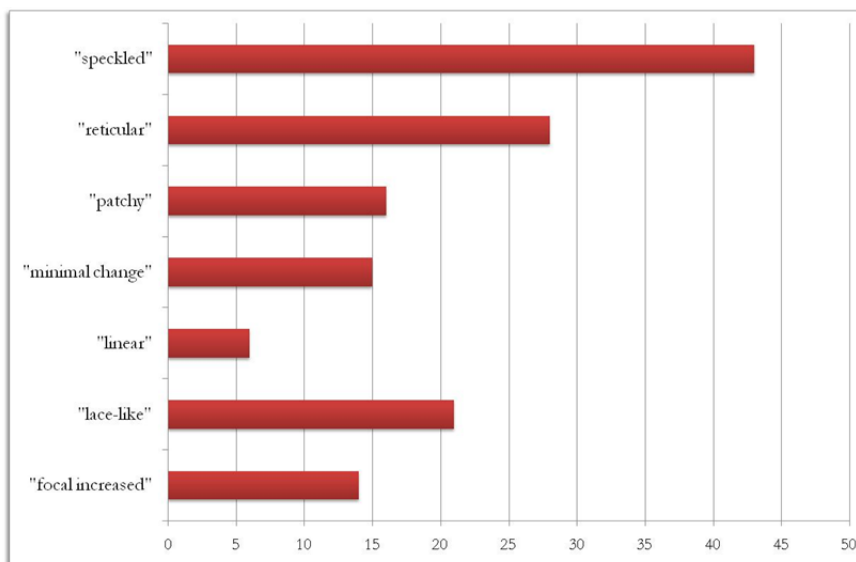


Abb. 21: Musterverteilung von 136 Augen mit Frühstadien der trockenen AMD

Die größte Anzahl der AF-Muster wurde der Gruppe „speckled“ zugeordnet (43 Augen, 30%), die geringste Anzahl der Gruppe „linear“ (6 Augen, 4%). Die übrigen Muster

verteilt sich wie folgt: „reticular“ 28 Augen (20%), „patchy“ 16 Augen (11%), „minimal change“ 15 Augen (10%), „lace-like“ 21 Augen (15%) sowie „focal increased“ 14 Augen (10%). Alle Augen zeigten Pathologien im Sinne einer AMD, sodass sich keine „normalen“ AF-Muster darstellten.

Von 28 Augen mit retikulärem AF-Muster zeigten 7 Anteile anderer AF-Muster (Abb. 22). Es wurde keine Überschneidung der retikulären AF-Muster mit der Gruppe „speckled“, jedoch in unterschiedlicher Häufigkeit mit allen anderen Gruppen gesehen. Die folgende Abbildung zeigt die Verteilung der rein retikulären AF-Muster und die derer mit Anteilen anderer Gruppen (bei 28 Augen der Gruppe „reticular patterns“).

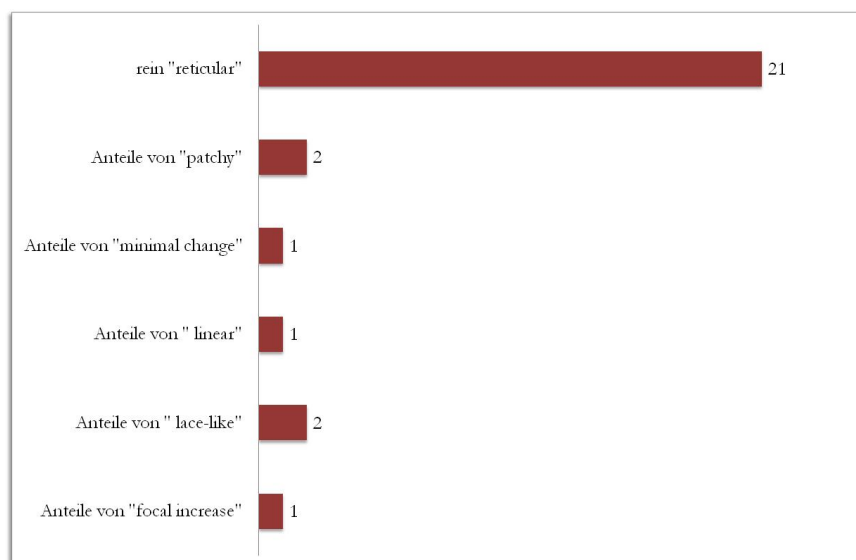


Abb. 22: Darstellung rein retikulärer AF-Muster und Überschneidung mit anderen Gruppen

In einzelnen Fällen zeigten Patienten beidseits gleichartige Veränderungen auf. Die Verteilung beidseits gleicher AF-Muster an einem Patienten zeigt Tabelle 1:

Musterung	Anzahl der Patienten
"speckled"	13
"reticular"	7
"patchy"	3
"minimal change"	4
"linear"	2
"lace-like"	6
"focal increased"	2

Tabelle 1: Verteilung beidseits gleicher AF-Muster an einem Patienten

Bei Betrachtung der Augen mit Veränderungen im Sinne einer feuchten Makuladegeneration (Vorhandensein chorioidaler Neovaskularisationen) zeigten einige Augen die Läsionen umgebende AF-Muster, welche der o.g. Gruppierung zugeordnet werden können. (Tabelle 2)

Musterung	Anzahl der Augen (mit CNV)
"speckled"	6
"reticular"	2
"patchy"	3
"minimal change"	1
"linear"	2
"lace-like"	2
"focal increased"	2

Tabelle 2: Verteilung der eine CNV umgebenden AF-Muster

5. DISKUSSION

In der vorliegenden Arbeit wurden verschiedene Muster des Augenhintergrundes klassifiziert, die bei Patienten mit einem Frühstadium der AMD mithilfe von AF-Aufnahmen erhoben wurden. Diese Methode bedient sich der Darstellung von altersbedingtem Zellschutt *in vivo* in Form von autofluoreszents Lipofuszin.

Diese Darstellung retinaler AF ermöglicht eine klare Einteilung der trockenen AMD in vermutlich funktionale Untergruppen dieses Krankheitsbildes. Eine genaue Phänotypisierung der multifaktoriellen Erkrankung AMD ist von großer Bedeutung, da vermutlich zahlreiche unterschiedliche Gene mit mehr oder weniger entscheidendem Einfluss auf das Krankheitsgeschehen involviert sind. Durch die Bildung von Untergruppen unter funktionalen Aspekten lassen sich vermutlich seltene Gene mit geringerem Beitrag zum Krankheitsgeschehen identifizieren. In der Vergangenheit wurden eine Subgruppierung der AMD mit Fundusfotographie versucht (Bird 1995). Diese Methode stützt sich allerdings nur auf das Erscheinungsbild oberflächlicher Netzhautstrukturen, spiegelt also keine potenziell funktionalen Komponenten wider. Eine AF-gestützte Phänotypisierung der trockenen AMD kann somit auch für prognostische Aussagen von Bedeutung sein. Hierfür ist eine Langzeitbeobachtung der Patienten aus unterschiedlichen Autofluoreszenzgruppen in Abhängigkeit ihrer klinischen Verläufe erforderlich.

Einschränkend bei der Klassifizierung der AF-Bilder ist die Darstellung verschiedener Fluophore in unterschiedlichen anatomischen Schichten der Retina. So können bei längerfristigen subretinalen Hämorrhagien und bei Abhebung des Pigmentepithels Flüssigkeiten, Fluophore gesehen werden, die das gleiche Signal mit der in dieser Arbeit verwendeten Wellenlänge erzeugen. Da die genannten Veränderungen in den untersuchten Augen nicht vorhanden waren, ist anzunehmen, dass die für die vermehrte Autofluoreszenz verantwortliche Fluorophore tatsächlich in den LF des RPE ihren Ursprung findet, wenn man die spektrophotometrischen Untersuchungen von Delori *et al.* berücksichtigt (Delori *et al.*, 1995a). Allerdings kann mit dieser Methode nicht unterschieden werden, ob es sich um Melanolipofuszin bzw. in die Neuroretina migrierte RPE-Zellen oder um LF im normalen RPE handelt.

Bei der Darstellung retinaler AF müssen zudem Einschränkungen in der Bildgebung berücksichtigt werden. Medientrübung und vor allem Linsentrübung können die Beurteilbarkeit der Bilder ebenso wie die Pupillenweite sowie die Variabilität der Laserlichtintensität beeinträchtigen. Gelbliche Verfärbung in Katarakt-Form ist mit einer Absorption von Wellenlängen um 488nm assoziiert. Wie in bereits veröffentlichten Studien mit AF-Bildgebung bei Geographischer Atrophie gezeigt wurde, konnten 90,9% der Augen nicht adäquat abgebildet und klassifiziert werden (Bindewald *et al.*, 2005). Zudem ist eine absolute Quantifikation des AF-Signals schwierig. Betrachtet man jedoch die Vielfalt der topographischen Verteilung der AF-Veränderungen, wie in der vorliegenden Arbeit dargestellt, so ist dies für eine Klassifikation von Mustern früher AMD-Stadien von geringer Bedeutung. Zudem sind pathologische Veränderungen im Vergleich zum normalen Augenhintergrund leicht zu detektieren (von Rückmann A, 1997).

AF-Veränderungen korrelieren topographisch nicht zwingend mit sichtbaren Fundusveränderungen bei früher AMD. Areale mit vermehrter AF können, müssen aber nicht mit Arealen mit vermehrter Hyperpigmentation oder weichen bzw. harten Drusen übereinstimmen. Das könnte sowohl die vielfältige Verteilung von Drusen-Anhäufungen und anderen Fluorophoren als auch verschiedene reaktive Veränderungen im darüber liegenden RPE widerspiegeln. Im Gesamten konnten größere Drusen häufiger als kleine Drusen mit deutlich hervortretenden AF-Veränderungen assoziiert werden. Areale mit retikulären bzw. Pseudodrusen zeigen üblicherweise ein eindeutiges, retikuläres AF-Muster mit multiplen kleinen, uniformen, von normaler AF umgebenden Arealen (Klein *et al.*, 1991; Maguire & Fine, 1996). Steinberg *et al.* konnten in in-vivo-Darstellungen im Bereich retikulärer Drusen Veränderungen als morphologisches Korrelat in den äußeren Netzhautschichten darstellen. Von Bedeutung ist dies vor allem deshalb, da retikuläre Drusen als Hochrisikomerkmak für die Progression der trockenen AMD gelten (Schmitz-Valckenberg *et al.*, 2010).

Auf Fundusphotographien dargestellte Areale verminderter Pigmentierung können mit einem korrespondierenden verminderten AF-Signal assoziiert werden, was das Fehlen von RPE-Zellen bzw. den Verfall derselben mit vermindertem LF-Gehalt impliziert. Im Gegensatz dazu stellen Areale vermehrter Pigmentierung häufig ein vermehrtes AF-Signal dar, was durch einen höheren Gehalt an autofluoreszente Melanolipofuszin begründet sein kann (von Rückmann A, 1997). AF-Veränderungen mit Abstand zu den

funduskopisch sichtbaren Alterationen weisen auf überwiegend verstreute erkrankte Areale hin. Es kann darüber spekuliert werden, ob durch AF darstellbare Veränderungen auf RPE-Niveau im Krankheitsverlauf den sichtbaren Veränderungen vorausgehen.

Die von uns mit dem Heidelberg Retina Angiographen erstellten AF-Bilder wurden von zwei Untersuchern unabhängig den Mustergruppen zugeordnet und anschließend diskutiert. Die Zuteilung ist zwar untersucherabhängig, aufgrund klar definierter Muster wird die Subjektivität jedoch minimiert. Die Diskussion einzelner Fälle - gerade bei Überschneidungen von Mustergruppen - auch trotz der klar definierten Muster erwies sich als unerlässlich.

Das Patientengut (88 Patienten) der vorliegenden Untersuchungen bildet mit einem Anteil von 60 Frauen (68%) und 28 Männern (32%) und einem Altersmeridian von 75 Jahren einen repräsentativen Querschnitt der von einer trockenen AMD betroffenen Bevölkerung: Frauen sind häufiger betroffen als Männer. Das weibliche Geschlecht als möglicher Risikofaktor, eine AMD zu entwickeln, war lange Zeit diskutiert worden. Die Häufung der Diagnosestellung bei Frauen wird jedoch auch durch die fortwährend höhere Lebenserwartung bei Frauen und durch eine höhere Arzt-Compliance mit bedingt. Der Altersmeridian von 75 Jahren bestätigt die Bezeichnung der „altersbedingten“ Makulopathie.

Die Verteilung der AF-Bilder des Patientengutes (136 Augen von insgesamt 159 Augen mit AMD bei 88 Patienten) wurde anhand der IARS-Kategorie durchgeführt (Abbildung 21). Der größte Anteil der untersuchten Augen wurde der Gruppe der gesprenkelten AF-Muster zugeordnet (43 Augen), der kleinste Anteil der Gruppe der linearen AF-Muster (6 Augen). Die verbleibenden AF-Bilder wurden mit einer Anzahl von 14-28 Augen den anderen fünf Mustergruppen zugeordnet.

Das häufige Vorkommen des AF-Musters „speckled“ („gesprenkelt“) kann an der Art des AF-Musters liegen. Denn dieses ist mit seinen fleckigen (ob groß- oder kleinfleckig), rundlichen und länglichen Veränderungen durch das Vereinen verschiedener Formen am wenigsten spezifisch.

Einzelne Fundusveränderungen konnten nicht einer Gruppe allein zugeordnet werden, da sich zentral zumeist andersartige Veränderungen zeigten als im äußeren Makulabereich. Interessanterweise zeigen alle Augen mit Veränderungen, die zu zwei Mustergruppen passten, Anteile retikulärer Zeichnung. Zu erklären ist dies dadurch, dass die retikuläre Zeichnung meistens die gesamte Makula (teils sogar die großen Gefäßbögen einbeziehend,

v.a. am superotemporalen Gefäßbogen) umfasst und wie eine Hintergrundzeichnung imponiert. Somit könnte die nicht-retikuläre Musterform als die dominierende und das retikuläre AF-Muster als begleitende Struktur gewertet werden.

Gerade in Frühstadien der AMD zeigen Betroffene eine hochgradige Symmetrie, was den genetischen Hintergrund der Erkrankung unterstreicht.

Dass die Klassifizierung der Fundus-AF auch eine prognostische Bedeutung besitzt, zeigen aktuelle Untersuchungen über die Ausdehnungsgeschwindigkeiten fortgeschrittener Fälle trockener AMD (Holz 2007, Schmitz-Valckenberg 2009).

Augen mit vermehrter Anhäufung von Arealen mit erhöhter Autofluoreszenz zeigten eine signifikant höhere Ausdehnungsgeschwindigkeit als Augen mit geringer Anhäufung von Arealen mit erhöhter Autofluoreszenz. Innerhalb der Gruppe mit diffusen Autofluoreszenz-Mustern konnten Holz et al. eine Untergruppe der Geographischen Atrophie identifizieren, die eine ausgesprochen rasche Progressionsrate aufwies („trickling“). Somit konnten Muster der AF einen gewissen prognostischen Hinweis auf Ausbreitungsgeschwindigkeit der Geographischen Atrophie geben. Ob solche spezifischen Untergruppen auch eine genetische Untergruppe bedeuten, muss durch weitere Studien mit einer größeren Menge Patienten geklärt werden.

Holz et al. konnten eine deutliche Korrelation zwischen den Partneraugen aufzeigen. Ebenso wesentlich ist die Erkenntnis, dass die Progressionsraten zwischen den Patienten sehr unterschiedlich sein können, was auf die Heterogenität der Genotypen zurückzuführen ist.

Bislang aufgedeckte genetische Varianten zeigen keine Korrelation mit der Ausdehnungsgeschwindigkeit vorbestehender atropher Areale.

In zukünftigen Phänotyp-Genotyp-Studien muss geklärt werden, ob die Subklassifizierung durch AF-Darstellung spezifische Erbgänge widerspiegelt. Bei der trockenen Makuladegeneration kann man von einem multifaktoriellen, multigenetisch determinierten Geschehen ausgehen. In den vergangenen Jahren konnten Polymorphismen in am Komplement- und Entzündungsgeschehen beteiligten Genen aufgedeckt werden. Dabei zeigten sich insbesondere im Bereich des CFH-Genortes verschiedene genetische Varianten als modulierende Faktoren für das Risiko einer AMD. Die Darstellung des CFH-Y402H-Polymorphismus konnte zeigen, dass dieser einhergeht mit der Progression von Frühformen der AMD zu deren Spättypen. Das CFH-Gen weist noch weitere sogenannte single nucleotide polymorphisms (SNPs) auf, die von ähnlicher Bedeutung wie der Y402H-

Polymorphismus sein könnten (Klein *et al.*). Ebenso konnten Störungen im Lipidstoffwechsel in Zusammenhang mit Apolipoprotein E dargestellt werden (Malek *et al.*, 2005). Innerhalb von 10q26 konnten weitere unabhängige Studien den PLEKHA1/LOC387715-Lokus als einen ebenso wesentlichen, zur AMD-Pathogenese beitragenden Genort aufzeigen (Edwards, 2008). Aufgrund zu geringer Fallzahlen in spezifischen Untergruppen, können bislang keine sicheren Aussagen über Phänotypen in der AF und die dazugehörigen Genotypen gemacht werden. Diesbezügliche Ergebnisse sind jedoch innerhalb der nächsten Jahre zu erwarten.

Zusammenfassend wird eine Beschreibung und Klassifikation der verschiedenen AF Muster bei Augen mit einem Frühstadium der AMD vorgestellt. Definierte Phänotypen ermöglichen eine Identifizierung spezifischer Risikoeigenschaften, sodass betroffene Patienten individuell betreut und Therapien geplant werden können. Diese Arbeit hat sich bereits als nützlich erwiesen, da anhand der hier vorgeschlagenen Klassifikation erfolgreiche Studien zur Progression der Geographischen Atrophie vorgestellt werden konnten. Sie dient als Grundlage für weitere klinisch-genetische AMD-Studien mit AF-Bildgebung zur Erhebung einer standardisierten Nomenklatur.

6. ZUSAMMENFASSUNG

Bei der altersbedingten Makuladegeneration (AMD) kommt es durch die Anhäufung von Stoffwechselprodukten auf dem Niveau des retinalen Pigmentepithels (RPE) zum Zelluntergang im Zentrum der Netzhaut mit daraus resultierender Sehinderung bis hin zur Erblindung. Hiervon sind in Deutschland mehr als 4 Millionen Menschen betroffen. Die AMD stellt damit hierzulande die häufigste Ursache für eine Erblindung dar. Entsprechend dem Wandel der Bevölkerungsstruktur und dem Anstieg der Lebenserwartung ist eine erhebliche Zunahme an AMD zu verzeichnen. Zudem gibt es Anzeichen dafür, dass sich das Manifestations- und Erkrankungsalter immer mehr zum jüngeren Patienten hin verschiebt. Deshalb ist die Dringlichkeit der frühzeitigen Diagnosesicherung für die Optimierung von Prävention, Verlaufsbeurteilung und Therapie der AMD von besonderer Bedeutung. Die abnorme Ansammlung von Lipofuszin im RPE erlaubt die Interpretation der metabolischen Situation am Augenhintergrund bereits im Frühstadium der AMD. Diese Alterationen im RPE können durch deren Darstellung in AF-Bildern des Fundus auch vor ihrem konventionell funduskopisch sichtbaren Auftreten erkannt werden.

Ziel dieser Arbeit war es deshalb, mit einem konfokalen Scanning Laser Ophthalmoskop Lipofuszin-abhängige Autofluoreszenzen (AF) in Augen mit einem Frühstadium der AMD aufzuzeichnen. Hierzu wurden Patienten aus dem AMD-Kollektiv der Augenklinik und Poliklinik des Universitätsklinikums Würzburg rekrutiert und die allgemein üblichen Untersuchungen durch eine AF-Aufnahme des Fundus ergänzt. Der Augenhintergrund wurde in einem standardisierten Vorgehen mit Makula, Papille und dem temporalen Gefäßbögen aufgenommen, eine serielle Bildaufnahme angefertigt und die neun besten Einzelaufnahmen zu einer verstärkten Aufnahme gemittelt.

Hierfür wurden 159 Augen bei 88 in Franken geborenen und aufgewachsenen Patienten ab einem Alter von 55 Jahren untersucht. Von diesen waren 60 weiblich sowie 28 männlich mit einem Durchschnittsalter von 75 Jahren. Insgesamt 136 der 159 Augen zeigten ein Frühstadium der AMD. Die verbleibenden Augen zeigten ein Spätstadium und wurden aus der Beurteilung ausgeschlossen. Die erstellten Aufnahmen konnten sieben Mustern zugeordnet werden: geprenkeltes (30%), retikuläres (20%), fleckiges (11%), geringgradig verändertes (10%), lineares (4%), spitzenähnliches (15%), fokal vermehrtes

(10%) AF-Muster. Das gesprenkelte AF-Muster stellte die häufigste und das lineare das seltenste AF-Muster dar.

Es ist anzunehmen, dass die aufgrund der pathologischen Veränderungen des RPE entstehenden AF-Muster gleichzeitig Phänotypen verschiedener Genotypen widerspiegeln. Zur Darstellung des Zusammenhangs zwischen Bildmorphologie und genetischer Determination ist die vorliegende Klassifikation der Muster von grundlegender Bedeutung. Mit der Erkennung eines Phänotyps können langfristig Einschätzungen über das individuelle Risiko sowie prognostische Aussagen getätigt und eine spezifische Therapie geplant werden. Genetisch ausgerichtete Studien mit großen Fallzahlen sind hierfür noch ausstehend. Die Darstellbarkeit der AMD bereits vor Symptombausbruch ist eine herausragende Eigenschaft der AF-Bildgebung im Vergleich zur bisher gebräuchlichen Fundusphotographie und Farbstoffangiographie.

Zusammenfassend wird eine Beschreibung und Klassifikation verschiedener AF Muster von Augen mit Frühstadien der AMD vorgestellt. Ziel ist es, dass auch andere AMD-Untersucher die AF-Bildgebung und das vorgestellte System nutzen, um die Nomenklatur bei AMD zu vereinheitlichen und standardisieren. Dies erleichtert den Vergleich von Krankheitsbildern bei AMD sowohl in Studien als auch in der praktischen Tätigkeit.

7. LITERATURVERZEICHNIS

- Allikmets R, Shroyer NF, Singh N, Seddon JM, Lewis RA, Bernstein PS, Peiffer A, Zabriskie NA, Li Y, Hutchinson A, Dean M, Lupski JR & Leppert M. (1997). Mutation of the Stargardt disease gene (ABCR) in age-related macular degeneration. *Science* **277**, 1805-1807.
- Ambati J, Anand A, Fernandez S, Sakurai E, Lynn BC, Kuziel WA, Rollins BJ & Ambati BK. (2003). An animal model of age-related macular degeneration in senescent Ccl-2- or Ccr-2-deficient mice. *Nature medicine* **9**, 1390-1397.
- AREDS. (2001). A randomized, placebo-controlled, clinical trial of high-dose supplementation with vitamins C and E and beta carotene for age-related cataract and vision loss: AREDS report no. 9. *Archives of ophthalmology* **119**, 1439-1452.
- Arend O, Weiter JJ, Goger DG & Delori FC. (1995). [In vivo fundus fluorescence measurements in patients with age related macular degeneration]. *Ophthalmologie* **92**, 647-653.
- Bellmann C, Holz FG, Schapp O, Volcker HE & Otto TP. (1997). [Topography of fundus autofluorescence with a new confocal scanning laser ophthalmoscope]. *Ophthalmologie* **94**, 385-391.
- Bergmann M, Schutt F, Holz FG & Kopitz J. (2004). Inhibition of the ATP-driven proton pump in RPE lysosomes by the major lipofuscin fluorophore A2-E may contribute to the pathogenesis of age-related macular degeneration. *FASEB J* **18**, 562-564.
- Bindewald A, Schmitz-Valckenberg S, Jorzik JJ, Dolar-Szczasny J, Sieber H, Keilhauer C, Weinberger AW, Dithmar S, Pauleikhoff D, Mansmann U, Wolf S & Holz FG. (2005). Classification of abnormal fundus autofluorescence patterns in the junctional zone of geographic atrophy in patients with age related macular degeneration. *Br J Ophthalmol* **89**, 874-878.
- Bird AC, Bressler NM, Bressler SB, Chisholm IH, Coscas G, Davis MD, de Jong PT, Klaver CC, Klein BE, Klein R & et al. (1995). An international classification and grading system for age-related maculopathy and age-related macular degeneration. The International ARM Epidemiological Study Group. *Surv Ophthalmol* **39**, 367-374.
- Bird AC & Marshall J. (1986). Retinal pigment epithelial detachments in the elderly. *Trans Ophthalmol Soc U K* **105 (Pt 6)**, 674-682.
- Chan D. (1998). Cigarette smoking and age-related macular degeneration. *Optom Vis Sci* **75**, 476-484.
- Crabb JW, Miyagi M, Gu X, Shadrach K, West KA, Sakaguchi H, Kamei M, Hasan A, Yan L, Rayborn ME, Salomon RG & Hollyfield JG. (2002). Drusen proteome analysis: an approach to the etiology of age-related macular degeneration. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **99**, 14682-14687.
- de Jong PT. (2006). Age-related macular degeneration. *The New England journal of medicine* **355**, 1474-1485.

- Delcourt C, Diaz JL, Ponton-Sanchez A & Papoz L. (1998). Smoking and age-related macular degeneration. The POLA Study. Pathologies Oculaires Liees a l'Age. *Archives of ophthalmology* **116**, 1031-1035.
- Delori FC, Dorey CK, Staurengi G, Arend O, Goger DG & Weiter JJ. (1995a). In vivo fluorescence of the ocular fundus exhibits retinal pigment epithelium lipofuscin characteristics. *Invest Ophthalmol Vis Sci* **36**, 718-729.
- Delori FC, Fleckner MR, Goger DG, Weiter JJ & Dorey CK. (2000). Autofluorescence distribution associated with drusen in age-related macular degeneration. *Invest Ophthalmol Vis Sci* **41**, 496-504.
- 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**, 1855-1866.
- Delori FC, Staurengi G, Arend O, Dorey CK, Goger DG & Weiter JJ. (1995b). In vivo measurement of lipofuscin in Stargardt's disease--Fundus flavimaculatus. *Invest Ophthalmol Vis Sci* **36**, 2327-2331.
- destatis. (2007). Bevölkerung. Statistisches Bundesamt Deutschland.
- Docchio F, Boulton M, Cubeddu R, Ramponi R & Barker PD. (1991). Age-related changes in the fluorescence of melanin and lipofuscin granules of the retinal pigment epithelium: a time-resolved fluorescence spectroscopy study. *Photochem Photobiol* **54**, 247-253.
- Dorey CK, Wu G, Ebenstein D, Garsd A & Weiter JJ. (1989). Cell loss in the aging retina. Relationship to lipofuscin accumulation and macular degeneration. *Invest Ophthalmol Vis Sci* **30**, 1691-1699.
- Edwards AO. (2008). Genetics of age-related macular degeneration. *Advances in experimental medicine and biology* **613**, 211-219.
- Eldred GE. (1993). Age pigment structure. *Nature* **364**, 396.
- Elkin PL. (2003). Primer on medical genomics part V: bioinformatics. *Mayo Clinic proceedings* **78**, 57-64.
- Feeney-Burns L, Hilderbrand ES & Eldridge S. (1984). Aging human RPE: morphometric analysis of macular, equatorial, and peripheral cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci* **25**, 195-200.
- Feeney L. (1973). The phagolysosomal system of the pigment epithelium. A key to retinal disease. *Invest Ophthalmol* **12**, 635-638.
- Feeney L. (1978). Lipofuscin and melanin of human retinal pigment epithelium. Fluorescence, enzyme cytochemical, and ultrastructural studies. *Invest Ophthalmol Vis Sci* **17**, 583-600.
- Fisher SA, Abecasis GR, Yashar BM, Zarepari S, Swaroop A, Iyengar SK, Klein BE, Klein R, Lee KE, Majewski J, Schultz DW, Klein ML, Seddon JM, Santangelo SL, Weeks DE, Conley YP, Mah TS, Schmidt S, Haines JL, Pericak-Vance MA, Gorin MB, Schulz HL, Pardi F, Lewis CM & Weber BH. (2005). Meta-analysis of genome scans of age-related macular degeneration. *Human molecular genetics* **14**, 2257-2264.
- Fliesler SJ & Anderson RE. (1983). Chemistry and metabolism of lipids in the vertebrate retina. *Prog Lipid Res* **22**, 79-131.

- Friedman E & Oak SM. (1965). Choroidal microcirculation in vivo. *Bibl Anat* **7**, 129-132.
- Fritsche LG, Loenhardt T, Janssen A, Fisher SA, Rivera A, Keilhauer CN & Weber BH. (2008). Age-related macular degeneration is associated with an unstable ARMS2 (LOC387715) mRNA. *Nature genetics* **40**, 892-896.
- Gass JDM. (1967). Pathogenesis of disciform detachment of the neuroepithelium. *Am J Ophthalmol* **63**, 573-585.
- Gerlai R. (2002). Phenomics: fiction or the future? *Trends in neurosciences* **25**, 506-509.
- Gold B, Merriam JE, Zernant J, Hancox LS, Taiber AJ, Gehrs K, Cramer K, Neel J, Bergeron J, Barile GR, Smith RT, Hageman GS, Dean M & Allikmets R. (2006). Variation in factor B (BF) and complement component 2 (C2) genes is associated with age-related macular degeneration. *Nature genetics* **38**, 458-462.
- Green WR, McDonnell PJ & Yeo JH. (1985). Pathologic features of senile macular degeneration. *Ophthalmology* **92**, 615-627.
- Hageman GS, Luthert PJ, Victor Chong NH, Johnson LV, Anderson DH & Mullins RF. (2001). An integrated hypothesis that considers drusen as biomarkers of immune-mediated processes at the RPE-Bruch's membrane interface in aging and age-related macular degeneration. *Prog Retin Eye Res* **20**, 705-732.
- Hammond BR, Jr., Wooten BR & Snodderly DM. (1996). Cigarette smoking and retinal carotenoids: implications for age-related macular degeneration. *Vision Res* **36**, 3003-3009.
- Holz F, Pauleikhoff D, Spaide RF, Bird AC. (2004). *Age-related macular degeneration*. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York.
- Holz FG. (2001). Autofluoreszenz-Imaging der Makula. *Ophthalmologie* **98**, 10-18.
- Holz FG. (2003). [New therapeutic approaches to age dependent macular degeneration]. *Ophthalmologie* **100**, 90-91.
- Holz FG, Bellmann C, Margaritidis M, Schutt F, Otto TP & Volcker HE. (1999a). Patterns of increased in vivo fundus autofluorescence in the junctional zone of geographic atrophy of the retinal pigment epithelium associated with age-related macular degeneration. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* **237**, 145-152.
- Holz FG, Owens SL, Marks J, Haimovici R & Bird AC. (1997). Ultrastructural findings in autosomal dominant drusen. *Archives of ophthalmology* **115**, 788-792.
- Holz FG, Schutt F, Kopitz J, Eldred GE, Kruse FE, Volcker HE & Cantz M. (1999b). Inhibition of lysosomal degradative functions in RPE cells by a retinoid component of lipofuscin. *Invest Ophthalmol Vis Sci* **40**, 737-743.
- Holz FG, Sheraidah G, Pauleikhoff D & Bird AC. (1994a). Analysis of lipid deposits extracted from human macular and peripheral Bruch's membrane. *Archives of ophthalmology* **112**, 402-406.
- Holz FG, Wolfensberger TJ, Piguet B, Gross-Jendroska M, Wells JA, Minassian DC, Chisholm IH & Bird AC. (1994b). Bilateral macular drusen in age-related macular degeneration. Prognosis and risk factors. *Ophthalmology* **101**, 1522-1528.

- Johnson PT, Betts KE, Radeke MJ, Hageman GS, Anderson DH & Johnson LV. (2006). Individuals homozygous for the age-related macular degeneration risk-conferring variant of complement factor H have elevated levels of CRP in the choroid. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **103**, 17456-17461.
- Katz ML, Stone WL & Dratz EA. (1978). Fluorescent pigment accumulation in retinal pigment epithelium of antioxidant-deficient rats. *Invest Ophthalmol Vis Sci* **17**, 1049-1058.
- Kim SR, Fishkin N, Kong J, Nakanishi K, Allikmets R & Sparrow JR. (2004). Rpe65 Leu450Met variant is associated with reduced levels of the retinal pigment epithelium lipofuscin fluorophores A2E and iso-A2E. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **101**, 11668-11672.
- Klaver CC, Wolfs RC, Vingerling JR, Hofman A & de Jong PT. (1998). Age-specific prevalence and causes of blindness and visual impairment in an older population: the Rotterdam Study. *Archives of ophthalmology* **116**, 653-658.
- Klein ML, Ferris FL, 3rd, Francis PJ, Lindblad AS, Chew EY, Hamon SC & Ott J. Progression of geographic atrophy and genotype in age-related macular degeneration. *Ophthalmology* **117**, 1554-1559, 1559 e1551.
- Klein R, Davis MD, Magli YL, Segal P, Klein BE & Hubbard L. (1991). The Wisconsin age-related maculopathy grading system. *Ophthalmology* **98**, 1128-1134.
- Koneff H. (1886). Beiträge zur Kenntnis der Nervenzellen in den peripheren Ganglien. *Mitth d Naturf Gesellsch Bern*, 13-44.
- Li M, Atmaca-Sonmez P, Othman M, Branham KE, Khanna R, Wade MS, Li Y, Liang L, Zarepari S, Swaroop A & Abecasis GR. (2006). CFH haplotypes without the Y402H coding variant show strong association with susceptibility to age-related macular degeneration. *Nature genetics* **38**, 1049-1054.
- Lyda W, Eriksen N & Krishna N. (1957). Studies of Bruch's membrane; flow and permeability studies in a Bruch's membrane-choroid preparation. *Am J Ophthalmol* **44**, 362-369; discussion 369-370.
- Maguire MG & Fine SL. (1996). Reticular pseudodrusen. *Retina (Philadelphia, Pa)* **16**, 167-168.
- Malek G, Johnson LV, Mace BE, Saloupis P, Schmechel DE, Rickman DW, Toth CA, Sullivan PM & Bowes Rickman C. (2005). Apolipoprotein E allele-dependent pathogenesis: a model for age-related retinal degeneration. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **102**, 11900-11905.
- Maller J, George S, Purcell S, Fagerness J, Altshuler D, Daly MJ & Seddon JM. (2006). Common variation in three genes, including a noncoding variant in CFH, strongly influences risk of age-related macular degeneration. *Nature genetics* **38**, 1055-1059.
- Maller JB, Fagerness JA, Reynolds RC, Neale BM, Daly MJ & Seddon JM. (2007). Variation in complement factor 3 is associated with risk of age-related macular degeneration. *Nature genetics* **39**, 1200-1201.
- Marmor MF. (1990). Control of subretinal fluid: experimental and clinical studies. *Eye* **4 (Pt 2)**, 340-344.

- Marshall J. (1987). The ageing retina: physiology or pathology. *Eye* **1 (Pt 2)**, 282-295.
- Mata NL, Tzekov RT, Liu X, Weng J, Birch DG & Travis GH. (2001). Delayed dark-adaptation and lipofuscin accumulation in *abcr*^{+/-} mice: implications for involvement of ABCR in age-related macular degeneration. *Invest Ophthalmol Vis Sci* **42**, 1685-1690.
- McGeer PL & McGeer EG. (2004). Inflammation and the degenerative diseases of aging. *Ann N Y Acad Sci* **1035**, 104-116.
- Miller H, Miller B & Ryan SJ. (1986). The role of retinal pigment epithelium in the involution of subretinal neovascularization. *Invest Ophthalmol Vis Sci* **27**, 1644-1652.
- Mullins RF, Russell SR, Anderson DH & Hageman GS. (2000). Drusen associated with aging and age-related macular degeneration contain proteins common to extracellular deposits associated with atherosclerosis, elastosis, amyloidosis, and dense deposit disease. *Faseb J* **14**, 835-846.
- Newsome DA, Misceli MV, Liles MR, Tate DA & Oliver PD. (1994). Antioxidants in the retinal pigment epithelium. *Progress in Retinal and Eye Research* **13**, 101-123.
- Oppermann M, Manuelian T, Jozsi M, Brandt E, Jokiranta TS, Heinen S, Meri S, Skerka C, Gotze O & Zipfel PF. (2006). The C-terminus of complement regulator Factor H mediates target recognition: evidence for a compact conformation of the native protein. *Clinical and experimental immunology* **144**, 342-352.
- Parekh N, Chappell RJ, Millen AE, Albert DM & Mares JA. (2007). Association between vitamin D and age-related macular degeneration in the Third National Health and Nutrition Examination Survey, 1988 through 1994. *Archives of ophthalmology* **125**, 661-669.
- Pauleikhoff D, Harper CA, Marshall J & Bird AC. (1990). Aging changes in Bruch's membrane. A histochemical and morphologic study. *Ophthalmology* **97**, 171-178.
- Pauleikhoff D, Sheraidah G, Marshall J, Bird AC & Wessing A. (1994). [Biochemical and histochemical analysis of age related lipid deposits in Bruch's membrane]. *Ophthalmologie* **91**, 730-734.
- Pernkopf E, ed. (1960). *Topographische Anatomie*, vol. IV. Band, 2. Hälfte. Urban & Schwarzenberg.
- ProRetina.
www.pro_retina.de/den/forschung/netzhauterkrankungen/altersabhaengige_makuladegen-eration/behandlung.html.
- Rehak M, Fric E & Wiedemann P. (2008). [Lutein and antioxidants in the prevention of age-related macular degeneration]. *Ophthalmologie* **105**, 37-38, 40-35.
- Rivera A, Fisher SA, Fritsche LG, Keilhauer CN, Lichtner P, Meitinger T & Weber BH. (2005). Hypothetical LOC387715 is a second major susceptibility gene for age-related macular degeneration, contributing independently of complement factor H to disease risk. *Human molecular genetics* **14**, 3227-3236.
- Sarks JP, Sarks SH & Killingsworth MC. (1988). Evolution of geographic atrophy of the retinal pigment epithelium. *Eye* **2 (Pt 5)**, 552-577.

- Sarna T. (1992). Properties and function of the ocular melanin--a photobiophysical view. *J Photochem Photobiol B* **12**, 215-258.
- Sastry BV & Hemontolor ME. (1998). Influence of nicotine and cotinine on retinal phospholipase A2 and its significance to macular function. *J Ocul Pharmacol Ther* **14**, 447-458.
- Savill J, Dransfield I, Gregory C & Haslett C. (2002). A blast from the past: clearance of apoptotic cells regulates immune responses. *Nat Rev Immunol* **2**, 965-975.
- Schaumberg DA, Hankinson SE, Guo Q, Rimm E & Hunter DJ. (2007). A prospective study of 2 major age-related macular degeneration susceptibility alleles and interactions with modifiable risk factors. *Archives of ophthalmology* **125**, 55-62.
- Schmitz-Valckenberg S, Bultmann S, Dreyhaupt J, Bindewald A, Holz FG & Rohrschneider K. (2004). Fundus autofluorescence and fundus perimetry in the junctional zone of geographic atrophy in patients with age-related macular degeneration. *Invest Ophthalmol Vis Sci* **45**, 4470-4476.
- Schmitz-Valckenberg S, Steinberg JS, Fleckenstein M, Visvalingam S, Brinkmann CK & Holz FG. (2010). Combined Confocal Scanning Laser Ophthalmoscopy and Spectral-Domain Optical Coherence Tomography Imaging of Reticular Drusen Associated with Age-Related Macular Degeneration. *Ophthalmology*.
- Scholl HP, Bellmann C, Dandekar SS, Bird AC & Fitzke FW. (2004). Photopic and scotopic fine matrix mapping of retinal areas of increased fundus autofluorescence in patients with age-related maculopathy. *Invest Ophthalmol Vis Sci* **45**, 574-583.
- Scholl HP, Fleckenstein M, Charbel Issa P, Keilhauer C, Holz FG & Weber BH. (2007). An update on the genetics of age-related macular degeneration. *Mol Vis* **13**, 196-205.
- Schutt F, Bergmann M, Holz FG & Kopitz J. (2003). Proteins modified by malondialdehyde, 4-hydroxynonenal, or advanced glycation end products in lipofuscin of human retinal pigment epithelium. *Invest Ophthalmol Vis Sci* **44**, 3663-3668.
- Schutt F, Davies S, Kopitz J, Holz FG & Boulton ME. (2000). Photodamage to human RPE cells by A2-E, a retinoid component of lipofuscin. *Investigative ophthalmology & visual science* **41**, 2303-2308.
- Schutt F, Ueberle B, Schnolzer M, Holz FG & Kopitz J. (2002). Proteome analysis of lipofuscin in human retinal pigment epithelial cells. *FEBS letters* **528**, 217-221.
- Seddon JM, Gensler G, Milton RC, Klein ML & Rifai N. (2004). Association between C-reactive protein and age-related macular degeneration. *Jama* **291**, 704-710.
- Seddon JM, George S, Rosner B & Rifai N. (2005). Progression of age-related macular degeneration: prospective assessment of C-reactive protein, interleukin 6, and other cardiovascular biomarkers. *Archives of ophthalmology* **123**, 774-782.
- Smith W, Assink J, Klein R, Mitchell P, Klaver CC, Klein BE, Hofman A, Jensen S, Wang JJ & de Jong PT. (2001). Risk factors for age-related macular degeneration: Pooled findings from three continents. *Ophthalmology* **108**, 697-704.
- Solbach U, Keilhauer C, Knabben H & Wolf S. (1997). Imaging of retinal autofluorescence in patients with age-related macular degeneration. *Retina (Philadelphia, Pa)* **17**, 385-389.

- Sparrow JR, Nakanishi K & Parish CA. (2000). The lipofuscin fluorophore A2E mediates blue light-induced damage to retinal pigmented epithelial cells. *Investigative ophthalmology & visual science* **41**, 1981-1989.
- Starita C, Hussain AA, Pagliarini S & Marshall J. (1996). Hydrodynamics of ageing Bruch's membrane: implications for macular disease. *Exp Eye Res* **62**, 565-572.
- Staudt S. (2000). ARVO Abstract 873. *IOVS* **41**.
- Suter M, Reme C, Grimm C, Wenzel A, Jaattela M, Esser P, Kociok N, Leist M & Richter C. (2000). Age-related macular degeneration. The lipofuscin component N-retinyl-N-retinylidene ethanolamine detaches proapoptotic proteins from mitochondria and induces apoptosis in mammalian retinal pigment epithelial cells. *J Biol Chem* **275**, 39625-39630.
- Terman M, Reme CE, Rafferty B, Gallin PF & Terman JS. (1990). Bright light therapy for winter depression: potential ocular effects and theoretical implications. *Photochem Photobiol* **51**, 781-792.
- Tomany SC, Wang JJ, Van Leeuwen R, Klein R, Mitchell P, Vingerling JR, Klein BE, Smith W & De Jong PT. (2004). Risk factors for incident age-related macular degeneration: pooled findings from 3 continents. *Ophthalmology* **111**, 1280-1287.
- van Leeuwen R, Boekhoorn S, Vingerling JR, Wittteman JC, Klaver CC, Hofman A & de Jong PT. (2005). Dietary intake of antioxidants and risk of age-related macular degeneration. *Jama* **294**, 3101-3107.
- Vingerling JR, Dielemans I, Hofman A, Grobbee DE, Hijmering M, Kramer CF & de Jong PT. (1995). The prevalence of age-related maculopathy in the Rotterdam Study. *Ophthalmology* **102**, 205-210.
- Vogel R. SJ, McLeod K. (2009). A phase II, double-masked, placebo-controlled, dose-comparison study of the safety and efficacy of fenretinide in the treatment of geographic atrophy in subjects with age-related macular degeneration: baseline lesion size, characteristics, and preliminary progression data. *Invest Ophthalmol Vis. Sci* **50**.
- von Ruckmann A, Schmidt KG, Fitzke FW, Bird AC & Jacobi KW. (1998). [Studies of the distribution of lipofuscin in the retinal pigment epithelium using high-resolution TV laser scanning ophthalmoscopy]. *Ophthalmologie* **95**, 699-705.
- von Rückmann A FF, Bird AC. (1995). Distribution of fundus autofluorescence with a scanning laser ophthalmoscope. *Br J Ophthalmol* **79**, 407-412.
- von Rückmann A FF, Bird AC. (1997). Fundus autofluorescence in age-related macular disease imaged with a laser scanning ophthalmoscope. *Invest Ophthalmol Vis Sci* **38**, 1691-1699.
- Webb RH & Hughes GW. (1981). Scanning laser ophthalmoscope. *IEEE Trans Biomed Eng* **28**, 488-492.
- Weiter JJ, Delori F & Dorey CK. (1988). Central sparing in annular macular degeneration. *Am J Ophthalmol* **106**, 286-292.
- Weiter JJ, Delori FC, Wing GL & Fitch KA. (1986). Retinal pigment epithelial lipofuscin and melanin and choroidal melanin in human eyes. *Invest Ophthalmol Vis Sci* **27**, 145-152.

- Wing GL, Blanchard GC & Weiter JJ. (1978). The topography and age relationship of lipofuscin concentration in the retinal pigment epithelium. *Invest Ophthalmol Vis Sci* **17**, 601-607.
- Yates JR, Sepp T, Matharu BK, Khan JC, Thurlby DA, Shahid H, Clayton DG, Hayward C, Morgan J, Wright AF, Ambrecht AM, Dhillon B, Deary IJ, Redmond E, Bird AC & Moore AT. (2007). Complement C3 variant and the risk of age-related macular degeneration. *The New England journal of medicine* **357**, 553-561.
- Ziegler S. (2004). Die altersabhängige Makuladegeneration : Untersuchung zur genetischen Assoziation des Apolipoproteins E und des Alpha-2-Makroglobulins.

8. DANKSAGUNG

Mein besonderer Dank gilt Herrn Professor Schrader für die Überlassung des Themas zur Dissertation und die Mühe und Geduld, meine Arbeit über die lange Promotionsphase zu begleiten.

Tief verbunden bin ich Claudia von Strachwitz, die meine Promotionsarbeit von der ersten Stunde an mit unsagbarer Milde und Ausdauer begleitet hat. Jede Korrektur bearbeitete sie unermüdlich und schaffte es, mich mit Anregungen und immer wieder neu zu motivieren.

Allen Mitarbeitern in der Funktionsabteilung der Universitäts-Augenklinik Würzburg, vor allem aber Frau Angelika Stangl, danke ich für die sehr nette Zusammenarbeit, Hilfe bei der Patientenrekrutierung sowie die geduldigen Einweisungen und Erklärungen.

Meinem Robert gilt mein herzlichster Dank für seine heitere Zuversicht, sein Motivationsvermögen und Hilfe in niedergeschlagenen Momenten.

Nicht zuletzt danke ich meinen lieben Eltern, die mir selbstlos und mit immerwährender liebevoller Unterstützung meine Gegenwart gewordene Zukunft möglich gemacht haben.